

UNIVERSIDAD ESTATAL DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
ESCUELA DE INGENIERIA QUIMICA



**“ESTUDIO REOLÓGICO,
MICROBIOLÓGICO Y CINÉTICO EN LA
ELABORACIÓN DE CREMOGENADO DE
TOMATE DE ÁRBOL”**

**TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCION
DEL TITULO DE INGENIERO QUIMICO.**

**AUTORES: CARLOS NAPOLEON AVILA BRAVO
GALO JOSE CARRILLO ROJAS**

DIRECTORA: MSc. SILVANA DONOSO MOSCOSO

**CUENCA – ECUADOR
2003**

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento va dirigido a las instituciones que apoyaron esta investigación en los ámbitos del análisis químico y microbiológico como fueron los Laboratorios del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Izquieta Pérez” Regional Austro, a la Facultad de CC.QQ. con su Planta Piloto de Conservas Vegetales y demás laboratorios en el Tecnológico de Ingeniería Química, al Centro de Reconversión Económica del Azuay, Cañar y Morona Santiago con sus Laboratorios de Análisis Bromatológico y Microbiológico; y finalmente a la empresa Desarrollo Agropecuario Cía. Anónima DACA.

Nuestro agradecimiento especial al Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) Estación Experimental de Chuquipata y la Granja de Bulcay, por facilitarnos la materia prima y valiosa información para nuestro estudio, así como el interés por dar continuidad a esta investigación con una proyección de nuestro producto al mercado.

A la Dra. Silvana Donoso M., Directora de este trabajo, quien con sus conocimientos y amplia experiencia en las tecnologías de los alimentos, supo encaminar esta investigación, con metodologías modernas y de gran valor en la actualidad, hacia un resultado satisfactorio.

A la Ing. Ruth Cecilia Álvarez, por su aporte en la investigación cinética de nuestro estudio del Cremogenado de Tomate de árbol y gran parte de los aspectos del Proceso de elaboración.

Al Dr. Rolando Valdivieso, por su asesoramiento en el análisis bromatológico de este producto y otros aspectos importantes de este trabajo.

Y a todos quienes conforman el personal Docente de nuestra Escuela y Facultad, por haber sido quienes formaron nuestro carácter profesional y técnico y brindarnos el supremo derecho del ser humano, que es el conocimiento.

Carlos y Galo.

DEDICATORIA

Al Creador de todas las cosas, que nos ha guiado en base a nuestra fe durante nuestras vidas, y que ahora nos ha obsequiado el privilegio de la sabiduría como tributo al esfuerzo del corazón, la mente y el espíritu.

A los pilares de mi existencia: Mi abuela Leonorcita y mi Tía Charito, por ser las fuentes de mi energía interior, la que me motiva a seguir alcanzando siempre las más altas cumbres.

A mi madre Monserrath, por otorgarme la vida y el poder que conlleva la creencia en los valores de la libertad y la realización de los sueños.

A mi hermano Pedro, quien cree también como yo, en la búsqueda extrema de los ideales por encima de la simplicidad de lo que constituye la existencia del ser humano.

A mi tía Beatriz Andrade por ser gentil impulsora de mis estudios y apoyo durante los momentos difíciles.

A Guillermo Sanmartín y Guillermo Quezada, fieles guardianes de mi educación.

Y a toda mi familia y amigos que creyeron y creen aún en las capacidades de este loco forjador de sueños.

Galo José.

Mi agradecimiento va dirigido a Dios, a mi familia, amigos y demás personas que me apoyaron incondicionalmente, hasta hacer posible la culminación exitosa del presente trabajo.

Carlos.

A los amigos de: Rammstein, Mago de Oz y Zhumir por el apoyo durante las noches de arduo trabajo.

TESIS DEL ESTUDIO REOLÓGICO,
MICROBIOLÓGICO Y CINÉTICO EN
LA ELABORACIÓN DE
CREMOGENADO DE TOMATE DE
ÁRBOL



INDICE GENERAL

PAG.

INTRODUCCIÓN **1**

CAPÍTULO I: "EL PROCESO DE CREMOGENADO DE TOMATE DE ÁRBOL"

1.1.	<u>El Cremogenado y su elaboración</u>	2
1.1.1.	Aspectos legales	2
1.1.2.	Usos de los cremogenados	3
1.1.3.	Proceso de elaboración	4
1.1.4.	Aspectos fundamentales del cremogenado de tomate de árbol.	11
1.1.5.	Características del cremogenado de tomate de árbol.	11
1.1.5.1.	Especificaciones de la Materia Prima	12
1.1.5.2.	Especificaciones Analíticas en la Fabricación de Cremogenados	20
1.2.	<u>Principales parámetros y componentes de los derivados de fruta.</u>	20
1.2.1.	pH	20
1.2.2.	Actividad de agua	21
1.2.3.	Nutrientes	24
1.2.3.1.	Hidratos de carbono	24
1.2.3.2.	Compuestos nitrogenados	24
1.2.3.3.	Ácidos y vitaminas	24
1.2.3.4.	Pigmentos	25
1.2.3.5.	Pectinas y sólidos en suspensión	26

CAPÍTULO II: "REOLOGÍA EN ALIMENTOS"

2.1.	<u>Concepto y aplicaciones</u>	28
2.2.	<u>Reología en fluidos alimentarios</u>	29
2.3.	<u>Clasificación de los alimentos fluidos según su comportamiento reológico</u>	31
2.3.1.	Fluidos newtonianos	32
2.3.2.	Fluidos no newtonianos	33
2.3.2.1.	Fluidos independientes del tiempo	34
2.3.2.2.	Fluidos no newtonianos dependientes del tiempo	36
2.3.2.3.	Fluidos no newtonianos viscoelásticos	39
2.4.	<u>Factores que influyen en el comportamiento reológico</u>	40
2.5.	<u>Efecto de la temperatura</u>	40
2.6.	<u>Efecto de la concentración</u>	42
2.7.	<u>Medidas en Reología</u>	42
2.8.	<u>Métodos Fundamentales</u>	43
2.9.	<u>Métodos Empíricos</u>	45

CAPÍTULO III: "PRINCIPALES MECANISMOS DE DETERIORO EN CREMOGENADOS"

3.1.	<u>Principales Mecanismos de Deterioro en Cremogenados</u>	51
3.2.	<u>Microflora en derivados de fruta</u>	53
3.3.	<u>Microflora alterante de los derivados de fruta</u>	55
3.3.1.	Alteraciones bacterianas	55
3.3.2.	Alteraciones causadas por mohos	59
3.3.3.	Alteraciones por levaduras	63
3.4.	<u>Métodos de control de los microorganismos</u>	66
3.4.1.	Conservación química	67
3.4.2.	Pasteurización	68
3.5.	<u>Factores que afectan a la termorresistencia</u>	71
3.5.1.	Temperatura y medio de cultivo	72
3.5.2.	pH del medio de tratamiento	73
3.5.3.	Actividad del agua	73

CAPÍTULO IV: "ESTUDIO CINÉTICO ENZIMÁTICO EN CREMOGENADOS"

4.1.	<u>El pardeamiento no enzimático</u>	75
4.2.	<u>Mecanismos de Reacción de Maillard</u>	79
4.3.	<u>Factores que afectan al pardeamiento no enzimático</u>	81
4.3.1.	Temperatura y duración del tratamiento	81
4.3.2.	Actividad del agua	82
4.3.3.	Acidez del medio	82
4.3.4.	Composición del medio	83
4.3.4.1.	Naturaleza del azúcar	83
4.3.4.2.	Aminoácidos y proteínas del medio	83
4.4.	<u>Medida de la intensidad del pardeamiento no enzimático</u>	84
4.4.1.	Evolución del color	85

CAPÍTULO V: "CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA, REOLÓGICA, MICROBIOLÓGICA Y CINÉTICO DEL CREMOGENADO DEL TOMATE DE ÁRBOL"

5.1.	<u>Caracterización Físico-Química</u>	90
5.1.1.	Preparación de las muestras de cremogenado	90
5.1.1.1.	Procedimiento de Elaboración de Muestras de Cremogenado de Tomate de Árbol	91
5.1.2.	Grados Brix	102
5.1.3.	pH	105
5.1.4.	Acidez total	106
5.1.5.	Actividad de agua (aw)	108

5.1.6.	Fibra	109
5.1.7.	Pectinas	111
5.1.8.	Pulpa	112
5.2.	<u>Caracterización Reológica</u>	113
5.2.1.	Obtención de las muestras	113
5.2.2.	Medidas reológicas	113
5.2.2.1.	Evaluación sensorial	114
5.2.2.2.	Estructura del alimento	120
5.2.2.3.	Control de calidad	120
5.2.2.4.	Clasificación de los alimentos fluidos según su comportamiento reológico	121
5.2.2.5.	Efecto de la Temperatura	121
5.2.2.6.	Efecto de la concentración	121
5.2.2.7.	Métodos Empíricos	122
5.2.3.	Cálculo de los parámetros reológicos	127
5.3.	<u>Caracterización Microbiológica</u>	129
5.3.1.	Toma de muestras	129
5.3.2.	Identificación de microorganismos	130
5.3.3.	Determinación del carácter potencialmente alterante de los microorganismos encontrados	137
5.3.4.	Seguimiento del comportamiento de las levaduras durante el almacenamiento del cremogenado de tomate de árbol	137
5.4.	<u>Caracterización Cinética en el Deterioro</u>	142
5.4.1.	Preparación de las muestras	142
5.4.2.	Tratamiento térmico	143
5.4.3.	Medida del Color por reflectometría	143

CAPÍTULO VI: “RESULTADOS OBTENIDOS Y ESTUDIO DE FACTIBILIDAD DE ELABORACIÓN DEL PRODUCTO A NIVEL INDUSTRIAL”

6.1.	<u>Resultados de la Caracterización Físico-química, del Comportamiento Reológico, Estudio Microbiológico y Cinético del Deterioro en el Cremogenado de Tomate de Árbol</u>	150
6.1.1.	Resultados de la Caracterización Físico-Química en el Cremogenado de Tomate de Árbol.	150
6.1.2.	Resultados del Estudio de Evaluación Sensorial del Cremogenado de Tomate de Árbol.	156
6.1.3.	Resultados del Análisis del Comportamiento Reológico en el Cremogenado de Tomate de Árbol.	165
6.1.4.	Resultados del Estudio Microbiológico del Cremogenado de Tomate de Árbol.	168
6.1.5.	Resultados Obtenidos en el Seguimiento del Comportamiento de las Levaduras durante el Almacenamiento del Cremogenado de Tomate de Árbol.	180

6.1.6.	Resultados Obtenidos en la Caracterización Cinética del Deterioro del Cremogenado de Tomate de Árbol.	184
6.2.	<u>Resultados en Conjunto y Discusión</u>	190
6.3.	<u>Conclusiones y Recomendaciones</u>	197

ANEXOS

Informes de los Estudios Bromatológico y Microbiológico del Producto, realizados en el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Izquieta Pérez” Regional Austro.	199
---	-----

<u>BIBLIOGRAFIA</u>	201
----------------------------	-----

INTRODUCCIÓN

Las características de investigación del proceso de elaboración de un Cremogenado de Tomate de árbol que más se destacan son: la Reología, el Aspecto Microbiológico y el Análisis de los fenómenos de pardeamiento no enzimático.

Desde el punto de vista del proceso, resulta imprescindible una adecuada caracterización reológica del cremogenado de tomate de árbol. A lo largo de su elaboración este producto debe ser sometido a toda una serie de manipulaciones y tratamientos como circulación a través de tuberías y equipo de proceso, tratamientos de calentamiento, enfriamiento y pasteurización, en las que tiene lugar una transferencia de calor; y otras operaciones como fluidificación, tamizado y homogeneización. En todas estas operaciones, las características reológicas del cremogenado de tomate de árbol van a desempeñar un papel fundamental. Pero quizás la evaluación sensorial y el control de calidad sean los parámetros determinantes para aceptabilidad del producto por parte del consumidor.

El conocimiento de ciertos aspectos microbiológicos, en la medida de lo posible, de la caracterización de la microflora presente en el cremogenado de tomate de árbol, la determinación e identificación de los microorganismos más perjudiciales y su comportamiento durante la pasteurización y el almacenamiento, van a resultar esenciales desde el punto de vista higiénico y de conservación del producto. Así también, la investigación del deterioro de este cremogenado sometiéndolo a una inoculación con cepas de levaduras, nos puede dar muy buenas referencias en lo que respecta a estabilidad de nuestro producto comparado con modelos de crecimiento normales de estos microorganismos

Por último, otro aspecto de especial importancia es el pardeamiento no enzimático. Los tratamientos térmicos a que se ve sometido el cremogenado durante su elaboración, generalmente inactivan las enzimas evitando así todas las consecuencias no deseadas que éstas pudieran ocasionar. Sin embargo, estos mismos tratamientos no sólo no evitan las reacciones de pardeamiento no enzimático, sino que pueden llegar a ocasionar un posible deterioro de las propiedades organolépticas, y con ello de la calidad del cremogenado y se suma la acción natural de deterioro del color por reacciones de oxidación. También para esta investigación se cubrirán los métodos de investigación del deterioro del color del producto, investigando modelos cinéticos de este fenómeno.

Consideramos también que una industria nueva, que procese un fruto cultivado en nuestra zona austral, es una opción industrial que puede dar buenos resultados en la localidad, a nivel nacional e internacional, considerando que la actual producción para la exportación de tomate de árbol es muy elevada, aunque restringida por los controles de los productos químicos utilizados en el cultivo de los frutos para exportación.

Los cremogenados de frutas como elaborados casi integrales (salvo huesos, semillas y otras partes duras o defectuosas) con consistencia cremosa, han alcanzado una gran importancia económica en la industria alimentaria actual, mostrando un gran futuro comercial ya que son la base a partir de la cual se elaboran una amplia gama de productos finales como son, los zumos de fruta con pulpa y los néctares de fruta, las mermeladas, alimentos infantiles (baby foods), etc.

El uso de los cremogenados como base para la elaboración de los productos mencionados anteriormente presenta una serie de ventajas bien definidas frente al método tradicional de utilizar la fruta como materia prima, ya que permiten reducir costos de almacenamiento (por reducción de volumen), reducir costos de transporte, y ampliar el tiempo de conservación, ya que se reducen las posibles alteraciones por microorganismos.

Esta investigación se la llevo a cabo en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Químicas y en la planta piloto de Conservas y Vegetales, de la Universidad de Cuenca, así como con el apoyo de Instituciones de nuestro medio, tales como el INIAP, CREA, y el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Inquieta Pérez" Regional Austro.

Cabe destacar que el objetivo de este estudio, ha sido el de evaluar si el producto posee las características de manufactura necesarias para ser producido a nivel industrial, investigando tanto con métodos tradicionales del análisis, así como con otros no utilizados en nuestro medio de industrias alimentarias, los mismos que servirán para analizar parámetros investigativos novedosos, entre ellos principalmente los del estudio reológico. Todos estos estudios planteados aquí, serán la base previa, para que en una segunda fase investigativa, se pueda planificar un estudio de rentabilidad industrial como un proyecto de otra tesis.

Capítulo I

“El Proceso de Cremogenado de Tomate de árbol”

“El Proceso de Cremogenado de Tomate de árbol”

1.1 El Cremogenado y su Elaboración

1.1.1. Aspectos legales

En nuestro país la elaboración de conservas de frutas se rige principalmente por las normas INEN 377 y 405 (Instituto Ecuatoriano de Normalización). En la norma INEN 405 Literal 2.1 especifica y define como *conserva vegetal al producto elaborado a base de las partes comestibles de hortalizas, legumbres o frutas, conservados por medios físicos, exclusivamente*. Así mismo dentro de la misma norma en sus literales 3 y 4 indican los requisitos indispensables para su elaboración aséptica y apta para el consumo humano.

Puré, pulpa o cremogenado de fruta.-

Según las definiciones de las Normas CODEX ALIMENTARIUS para frutas y hortalizas elaboradas y hongos comestibles, así como de las Normas Sanitarias de Alimentos (Tomo II) de la Oficina Sanitaria Panamericana de la Organización Mundial de la Salud (OFSANPAN) No. 053-03-03M y según la Norma INEN 377, literal 2.3.4, se entiende por:

“Puré, Pulpa o Cremogenado de una fruta, como el producto susceptible de fermentación pero no fermentado obtenido mediante molturación/trituración o tamizado de la parte comestible de frutas sanas y maduras, enteras o peladas sin eliminar el zumo, y conservado exclusivamente por medios físicos”.

También se define el puré o pulpa o cremogenado concentrado de fruta como:

“El producto obtenido a partir del puré, la pulpa o el cremogenado de fruta eliminando mediante procedimientos físicos una parte del agua que lo constituye”.

Y según la Norma No. 053-03-03M de la OFSANPAN, tenemos los siguientes conceptos:

Objeto.- Esta norma tiene por objeto definir las características y establecer las normas sanitarias a que deben obedecer las pulpas de frutas.

Definición.- Pulpa de Fruta es el producto obtenido por desmenuzamiento de las partes comestibles de frutas carnosas, por procesos tecnológicos adecuados.

Designación.- El producto será designado “Pulpa de ...” (Nombre de la Fruta).

Los conceptos de calidad y características de esta norma serán tratados en el literal 5.2.2.3 del Capítulo 5 de esta tesis.

Los cremogenados de cualquier índole que sean envasados y puestos a la venta para consumo directo deberán, como toda conserva, cumplir con requisitos de la elaboración de conservas vegetales, aplicados según la Norma INEN 405 en sus literales 3, 4 y 5.

En lo referente a las materias primas y otros ingredientes, la Norma INEN 377 en sus literales 2.2 y 2.4.1 señalan las características que debe reunir la fruta a partir de la cual pueden elaborarse los zumos de frutas y otros productos similares de la manera siguiente:

- 2.2.1 Fruta.- *Es el producto comestible procedente de la fructificación de una planta.*
- 2.2.2 Fruta fresca.- *Es el producto comestible, de reciente cosecha y madurez adecuada que se consume al estado natural y que conserva sus propiedades organolépticas propias.*
- 2.2.3 Fruta Sana.- *Es la fruta que no posee señales evidentes de haber sido atacada por hongos, bacterias, virus, insectos, ácaros, roedores, aves o sufrir cualquier otra lesión de origen físico o mecánico que afecte su integridad. Tampoco presenta señales de descomposición, aunque sea de forma parcial.*
- 2.4.1 Madurez comercial.- *Es el estado que precede a la maduración fisiológica de la fruta y que permite que los frutos puedan soportar el transporte y manipulación, y almacenarse en buenas condiciones hasta el momento de su consumo.*

1.1.2. Usos de los cremogenados

Los cremogenados de frutas como elaborados casi integrales (salvo huesos, semillas y otras partes duras o defectuosas) con consistencia cremosa han alcanzado una gran importancia económica en la industria alimentaria actual, mostrando un gran futuro comercial, ya que son la base a partir de la cual se elaboran una amplia gama de productos finales como son:

- Los zumos de fruta con pulpa y los néctares de fruta.
- Alimentos infantiles (baby foods).
- Mermeladas.

El uso de los cremogenados como base para la elaboración de los productos mencionados anteriormente presenta una serie de ventajas bien definidas frente al método tradicional de utilizar la fruta como materia prima, ya que permite:

- Aumentar el tiempo de conservación, ya que se reducen las posibles alteraciones por microorganismos.
- Reducir costos de almacenamiento, por reducción de volumen.
- Reducir costos de transporte.

1.1.3. Proceso de elaboración

En general, el proceso completo de elaboración de un cremogenado de frutas según los procedimientos seguidos en otros países para su fabricación, comprende las siguientes etapas, que van de acuerdo con el Método universal de Appert:

1. Requisitos de la Materia Prima

La materia prima debe ser seleccionada de acuerdo a las normas vigentes de cada Estado para el procesamiento de vegetales que han de ser transformados en conservas, en nuestro caso se lo hará tomando en cuenta la reglamentación que esta vigente en la Norma INEN 377 en su literal 2.2.

2. Transporte, Recepción y Almacenamiento de la Materia Prima

El centro de procesamiento de la fruta debe estar localizado lo más cercano posible al suministro de la materia prima, para aminorar los costos económicos. La fruta fresca llega a la industria normalmente envasada en cajas de madera (para el caso del tomate de árbol, en cajas de madera de no más de 26kg) o palets según el tipo de fruta, su dureza o fragilidad, que son vaciados en una tolva llena de agua. Esto permite amortiguar los golpes en la fruta durante el vaciado y a la vez sirve para realizar un primer prelavado de la fruta, en algunos casos. Si se ha de realizar un almacenamiento previo, ya sea para maduración se han de ubicar las frutas en galpones climatizados y asépticos.

3. Primera selección

Se realiza por simple apreciación visual y/o por medida del contenido en azúcares simples de la fruta recién llegada, así como por métodos de decantación y tamizado en el caso de ciertos vegetales; se separan las partidas verdes, que serán retenidas hasta que se maduren y su contenido en azúcares sea el adecuado para garantizar la obtención de un cremogenado con características idóneas.

4. Lavado de la materia prima calificada

Se lo puede realizar hasta en tres pasos, según el nivel de eficiencia de lavado que se desee obtener:

- **Primero.-** Tiene lugar en un cilindro rotatorio o máquina lavadora provista de duchas de agua a presión y a temperatura ambiente. Se hace circular la fruta por su interior lo que provoca el desprendimiento de una parte de la suciedad que la fruta puede llevar.
- **Segundo.-** Se realiza en un baño de agua fría a la que se le ha adicionado un producto desinfectante. Suelen utilizarse concentraciones de hipoclorito sódico del orden de 0,3 a 1,6ppm. Este producto tiene el inconveniente de ser corrosivo de buen número de metales, lo que puede provocar daños en el material de la línea de proceso. En este segundo lavado, además de eliminar parte de la suciedad, se persigue reducir significativamente la contaminación microbiana superficial de la fruta.
- **Tercero.-** En este caso el lavado se efectúa en un baño de agua caliente con borbotado intenso de aire insuflado por toberas situadas en la parte inferior de la cuba de lavado. El borbotado de aire produce una agitación del agua, que facilita el rozamiento entre las frutas eliminando gran parte de la suciedad que todavía puedan contener.

5. Segunda Selección

Se hacen pasar las frutas mediante una mesa con superficie deslizante, por delante de unos operarios que eliminan las frutas podridas y las partes defectuosas o ligeramente podridas, de las frutas mayoritariamente sanas. También se separan elementos extraños, como trozos de madera procedentes de los envases, latas u otros objetos que podrían provocar desperfectos en la maquinaria y que hayan pasado los procesos anteriores.

6. Escaldado de la Fruta

El proceso de escaldado consiste en sumergir por pocos minutos (dependiendo del tipo) a los vegetales y frutas en un baño de agua hirviendo o tratados con vapor vivo (temperatura nominal de 96 - 100°C), antes de ser sometidos a otras operaciones. También se considera incluido en este procedimiento otro denominado blanqueamiento que consiste en la inactivación de enzimas por calentamiento a nivel superficial para evitar pardeamientos.

Este procedimiento se aplica en ciertos frutos que requieren un posterior pelado manual o mecánico facilitado por el ablandamiento que sufren las sustancias pécticas en la cáscara de estos frutos debido a un brusco calentamiento a nivel superficial. Tal es el caso del tomate de árbol, que requiere este procedimiento para facilitar su pelado. Además favorece un previo procedimiento de inactivación de las enzimas pécticas que provocan el pardeamiento del cremogenado. Se lo realiza utilizando directamente vapor de

agua o sumergiendo la fruta en agua hirviendo durante un breve lapso de tiempo hasta que se pueda observar que se rompe la piel.

7. Pelado y Segmentación de la Fruta

El segmentado es la separación de partes no procesables en la transformación de la fruta en cremogenado o puré, para el caso del tomate de árbol se refiere al pedúnculo, brácteas y receptáculo. El pelado puede ser realizado manualmente cuando las cantidades de frutos no son muy grandes (Batch pequeño y mediano), pero deberá ser hecho mecánicamente en caso de manejarse grandes volúmenes de fruta.

8. Trituración

La trituración o fluidificado se realiza en trituradores especiales que forman una pasta base del cremogenado están constituidos por paletas que giran paralelas y en sentidos opuestos dentro de uno o varios cilindros concéntricos que pueden ser tamices también. Después de la trituración se suele añadir un antioxidante, generalmente ácido ascórbico, en proporciones de 10mg/litro.

9. Despepitado de la Fruta

En el caso del tomate de árbol se requiere una separación por tamices concéntricos rotatorios, de la pasta y las semillas que contiene provenientes de la trituración de las frutas peladas. Es ideal que los procesos de Trituración y Despepitado de la fruta se los hagan en una misma máquina que pueda triturar y separar las semillas al mismo tiempo (triturador de cilíndrico de paletas con tambor tamiz).

10. Inactivación enzimática

Se realiza por tratamiento térmico de las pastas vegetales a unos 90-95°C durante 3 minutos. Este tratamiento puede realizarse en intercambiadores de calor de carcasa y tubos, alimentados por vapor de agua sobrecalentado. El calentamiento de la pasta, además de inactivar las enzimas de la fruta, consigue una reducción muy importante de la microflora propia de la fruta. Es muy importante que esta etapa se realice inmediatamente después de la trituración y el despepitado para prevenir pardeamientos enzimáticos, que tienen lugar en intervalos cortos de tiempo.

11. Tamizado final de la pasta

Es un proceso de verificación del grado de granulación de la pasta, favorece la estabilidad reológica del producto final.

Esta operación se realiza en dos etapas. En la primera, el producto caliente se hace pasar por unos tamices con un diámetro de orificio aproximado

de 1mm. Las partículas que no pasan a través del tamiz, son eliminadas como subproducto. Para el acabado del producto se realiza un segundo tamizado a través de tamices cuya luz de malla puede variar de 0,4 a 0,9mm, en función de la consistencia deseada para el producto final. Las partículas que quedan retenidas en esta fase son en su mayor parte trozos de la epidermis de los frutos.

Tras esta etapa, se realiza, en aquellos casos en los que es necesario, una corrección del contenido de azúcares simples de la pasta, mediante la adición de zumo concentrado, despectinizado y clarificado o de cremogenado concentrado de la misma fruta.

12. Estabilización térmica

Es un paso previo opcional que se requiere para rebajar la temperatura de una manera rápida a fin de evitar cambios organolépticos en el producto.

Generalmente se realiza en un intercambiador de placas, alimentado con agua glicolada fría, rebajando la temperatura de la pasta a unos 60-65°C con la finalidad de reducir la evaporación de aromas en la siguiente etapa.

13. Homogenización de la pasta

Se aplica para repartir uniformemente ciertas propiedades físicas de la pasta como densidad, viscosidad y temperatura.

Esta operación se realiza a niveles industriales, en tanques cilíndricos de gran capacidad (20.000 litros o más) provistos de un agitador lo suficientemente efectivo como para lograr una adecuada homogeneización de la pasta. Estos tanques también sirven de tanques pulmón reguladores en proceso de desaireación.

14. Desaireación de la pasta

Con la desaireación de la pasta se pretende eliminar el oxígeno presente en la misma, ya que podría actuar sobre los taninos, aceites esenciales y lípidos, originando modificaciones del sabor y del color, además de causar pérdidas de Vitamina C. La presencia de oxígeno en la pasta, también podría favorecer el desarrollo de ciertos microorganismos.

La pasta se introduce en el desaireador a 63°C y se pulveriza en condiciones de vacío relativo (presión absoluta 0,25kg/cm²). Los vapores extraídos del desaireador arrastran consigo gran cantidad de sustancias aromáticas naturales, por lo que son condensados y devueltos a la pasta.

15. Pasteurización de la pasta

La pasteurización es un procedimiento universal aplicado en la efectiva destrucción térmica de los microorganismos patógenos en estado vegetativo que favorecen el deterioro del alimento y son nocivos para el ser humano. En el caso de los jugos de frutas y pastas se lo realiza llevando al producto a temperaturas

de 80 – 90°C durante 30 segundos. “Estos productos de corta duración a temperatura alta permiten la obtención de productos estabilizados bioquímicamente, sin embargo el problema del proceso aséptico posterior es muy delicado, en procesos como la uperización, que es una forma sofisticada de pasteurización, las temperaturas pueden llegar hasta 150°C por un muy pequeño lapso de tiempo (entre 2 y 3 segundos). Se utilizan tanto procesos continuos, como discontinuos según la tecnología utilizada, y los sistemas en donde se procesan fluidos muy viscosos, se requiere un eficiente método mecánico de agitación.”¹

Se realiza en intercambiadores de placas utilizando como fluido calefactor vapor de agua sobrecalentado. Se realiza un tratamiento térmico de 45 segundos de duración a la temperatura de 95-97°C, o de 105-107°C, en función del pH del producto. Seguidamente, la pasta, que ya puede denominarse cremogenado, se enfría hasta 23-25°C en otro intercambiador de placas alimentado con agua glicolada.

16. Envasado y Almacenamiento

En el caso de envasarse en grandes volúmenes el cremogenado puede almacenarse en tanques asépticos con capacidades de 25 a 60.000 litros, con atmósferas inertes, generalmente de nitrógeno, y mantenidos en el interior de almacenes refrigerados. Otra forma de envasado y almacenamiento, cada vez más utilizada, es en los llamados "bag in box", bolsas de 200-250 litros de capacidad, compuestas de cinco láminas de PVC y una de aluminio, envasadas asépticamente y cerradas al vacío que se introducen en bidones metálicos que permiten su paletizado, facilitando así su manejo, control y almacenamiento.

En la elección del tipo de material para envasar el producto debemos tener las siguientes consideraciones generales sobre envases:

- *Los principales tipos de materiales usados para envasar productos alimenticios son:*
 - a) De hojalata estañada o barnizada
 - b) De vidrio con tapa metálica
 - c) De aluminio
 - d) Película polietilénica u otros materiales plásticos
 - e) Barriles
 - f) Cartón hidrófugo, o de triple capa: cartón, plástico y metal
 - g) Fundas de tela, plástico o papel.

- *Características de los envases de alimentos:*

Para que un envase, de vidrio, de hojalata o de cualquier otro material, pueda contener un alimento, manteniéndolo idóneo para el consumo, debe cumplir con algunos de los siguientes requerimientos:

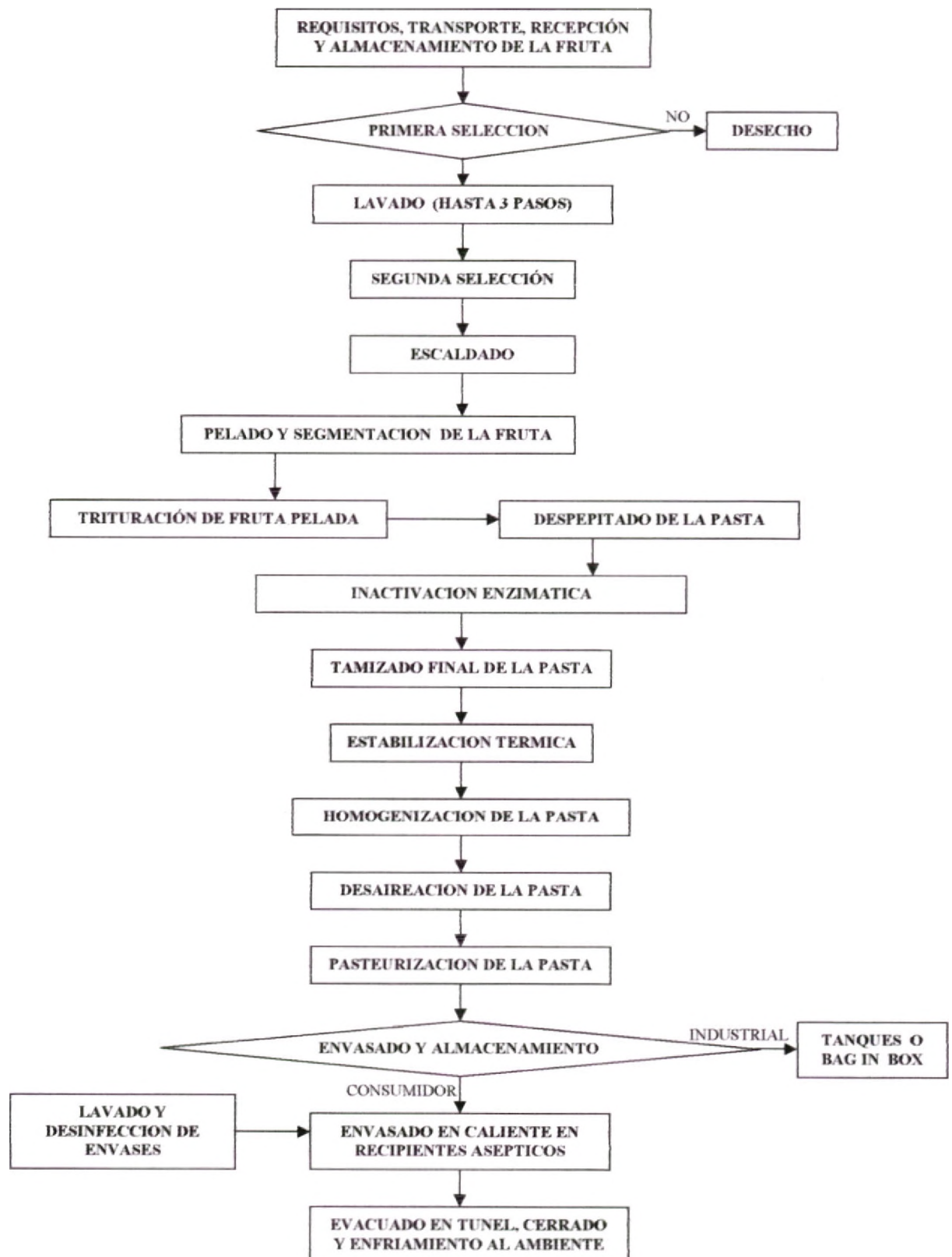
¹ (Ref. Carrión M. 1996, Págs. 225-226)

- 1.- AJUSTE PERFECTO
- 2.- TERMORRESISTENCIA
- 3.- RESISTENCIA MECANICA
- 4.- RESISTENCIA QUIMICA
- 5.- ALTA CONDUCCIÓN DEL CALOR
- 6.- FACILIDAD DE MANEJO
- 7.- LIGEREZA
- 8.- BAJO COSTO

Si se va a envasar el cremogenado directamente en un recipiente que se dirige al consumidor, se deben seguir muy prolijamente los siguientes pasos:

- Selección de envases y tapas (mecanismos de cierre hermético),
- Lavado manual o mecánico (con detergentes apropiados y que no dejen residuos)
- Enjuague prolijo de los envases y escurrido de aguas de enjuague
- El envasado del cremogenado debe realizarse en caliente
- Evacuado en túnel de vapor. $T = 80^{\circ}\text{C}$, durante 6 minutos
- Cerrado manual o mecánico.
- Enfriado ambiental.
- Control de calidad total (Cuarentena).

A continuación mostramos un Diagrama de Flujo del Proceso a nivel Industrial que resume los pasos anteriormente mencionados:



1.1.4. Aspectos fundamentales del cremogenado de tomate de árbol.

Después de describir el proceso de elaboración de los cremogenados resulta esencial destacar los aspectos de este producto que, por su especial incidencia en el propio proceso o en la calidad final del producto, es necesario conocer. Dadas las características propias del proceso y del mismo cremogenado los aspectos más destacables son: la reología, el aspecto microbiológico y los fenómenos de pardeamiento no enzimático.

Desde el punto de vista del proceso resulta imprescindible una adecuada caracterización reológica del cremogenado del tomate de árbol. A lo largo de su elaboración este producto es sometido a toda una serie de manipulaciones y tratamientos como circulación a través de tuberías y equipo de proceso; tratamientos de calentamiento, enfriamiento y pasteurización en las que tiene lugar una transferencia de calor; y otras operaciones como tamizado, homogeneización y desaireación. En todas estas operaciones las características reológicas del cremogenado de tomate de árbol van a desempeñar un papel fundamental. El conocimiento de ciertos aspectos microbiológicos como la caracterización de la microflora presente en el cremogenado de tomate de árbol, la determinación e identificación de los microorganismos más perjudiciales y su comportamiento durante la pasteurización y el almacenamiento, van a resultar esenciales desde el punto de vista higiénico y de conservación del producto.

Por último, otro aspecto de especial importancia es el pardeamiento no enzimático.

Los tratamientos térmicos a que se ve sometido el cremogenado durante su elaboración, generalmente, inactivan las enzimas evitando así todas las consecuencias no deseadas que éstas pudieran ocasionar. Sin embargo, estos mismos tratamientos no sólo no evitan las reacciones de pardeamiento no enzimático sino que las favorecen, ocasionando un posible deterioro de las propiedades organolépticas, y con ello de la calidad del cremogenado.

1.1.5. Características del Cremogenado de Tomate de árbol.

Previamente se debe realizar una reseña de las características propias de la fruta, en este caso basados en la información aportada por el CONVENIO MAG / IICA (Subprograma de Cooperación Técnica) (Préstamos BID / MAG 831/OC y 832/OC – EC) y de INSTITUTO NACIONAL AUTONOMO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS (INIAP) Estación Experimental de Chuquipata y Granja de Bulcay (Vía a Gualaceo). Luego con las especificaciones analíticas que normalmente se seguirían para la producción de otros cremogenados según la CODEX ALIMENTARIUS aplicándolos a las características del Tomate de árbol.

1.1.5.1. Especificaciones de la Materia Prima

“Generalidades del Tomate de Árbol (Fuente Convenio MAG / IICA)”²:

1) Situación Nacional.-

Esta fruta exótica es originaria de la vertiente oriental de los Andes, específicamente Perú, Ecuador y Colombia. Perteneciente al grupo de las frutas semiácidas, se la ha conocido con diversos nombres en distintas regiones, hasta que alrededor de 1970 en Nueva Zelanda se le asignó el nombre “tamarillo”, posicionándose como la designación comercial generalizada para el tomate de árbol en el mercado mundial, la tipificación científica es:

NOMBRE CIENTIFICO

Cyphomandra betacea (C.S.)

OTROS IDIOMAS

Tomatenbaum. Tree tomato.

SINONIMIA Y NOMBRES VULGARES

Tomate de árbol, Tamarillo.

VARIEDADES

Común, alargado morado y anaranjado, redondo colombiano, tomate mora.

Esta baya aromática de forma ovoidal, punteada en su extremo inferior y con un cáliz cónico, está cubierta por una cáscara gruesa, lisa, brillante y cerácea, de sabor amargo, en tonos ladrillo, rojos, naranjas y amarillos según la variedad. En el interior, los colores de la pulpa varían entre naranja, rojo y amarillo; esta es ligeramente firme, suave y jugosa, con un sabor agridulce. En el centro de la fruta, rodeadas de pulpa más suave que la capa exterior, se encuentran entre 200 y 400 pequeñas semillas comestibles, de forma plana y circular.

El cultivo del tomate de árbol es antiguo en el Ecuador en zonas tradicionales como Patate y Baños, a pesar de que se cultiva prácticamente en toda la serranía ecuatoriana. Con el crecimiento de la demanda interna desde hace unos 15 años, se ha extendido comercialmente a otras zonas de producción. La variedad más difundida es la tradicional anaranjada, habiéndose introducido últimamente el tomate “mora”, de color morado y pulpa más rojiza, pero de palatabilidad inferior.

La falta de plantas certificadas y mal manejo del cultivo originó la diseminación de nemátodos a casi todas las zonas de producción, lo que causó serias pérdidas de producción y destrucción de plantaciones.

² (Ref. Doc. Convenio MAG/IICA, <http://www.sica.gov.ec/agronegocios/Biblioteca>).

En la actualidad ya existe una producción de plantas inclusive meristemáticas que dan seguridad fitosanitaria al productor.

Colombia fue el país pionero en abrir mercados internacionales para esta fruta en Europa. El Ecuador inició sus exportaciones a fines de la década de los años 80 y hasta la presente fecha no se ha podido consolidar un mercado creciente. A los Estados Unidos no es posible exportar por ser producida en zonas con presencia de las destrucciones de la mosca de la fruta. También uno de los problemas de exportación ha sido también la calidad de la fruta por los sistemas de producción en el Ecuador, erradas distancias de siembra que dificultan los controles fitosanitarios y no permiten la producción de fruta grande, de color uniforme y de calidad de exportación, así como la utilización inadecuada de pesticidas no aptos para pasar los controles de exportación.

El tomate de árbol tiene un problema de consumo directo como fruta, por el sabor de la cáscara que produce escozor en los labios de quien la consume. Sería muy importante que el INIAP y las instituciones de investigación realicen estudios para tratar de eliminar genéticamente esta problemática. En igual forma, el tomate de árbol al requerir de un proceso para la elaboración de jugos no es de fácil ingreso a mercados como el norteamericano y europeo. "Más futuro tendría la exportación de pulpas, en las condiciones actuales".

A continuación mostramos un cuadro de los volúmenes de exportación de este producto según Banco Central del Ecuador:

Ecuador : Exportaciones de tomate de árbol 1990 – 2000 (Valor FOB en miles de dólares)		
AÑO	TONELADAS	USD FOB
1990	15,30	3,40
1991	17,30	7,00
1992	20,30	12,70
1994	0,00	0,00
1995	0,20	0,30
1996	0,50	0,60
1997	2,50	4,10
1998	18,60	20,00
1999	11,40	15,30
10/2000	1,10	1,20

En Ecuador se producen tres variedades reconocidas de tomate de árbol, aunque comercialmente no se las diferencia. Estas son:

Tomate común: De forma alargada, color morado y anaranjado.

Tomate redondo: De color anaranjado rojizo.

Tomate mora: De forma oblonga y de color morado.

El sabor y tamaño de la fruta difiere en su mezcla de sabor dulce y agrio según la variedad. En Colombia se distinguen tres tipos: tamarillo, morado o rojo y amarillo. Se considera al tamarillo una fruta más resistente que el amarillo y rojo. Las variedades se reconocen por el color, y se escogen según la forma de consumo de la fruta. Así, el tomate rojo se prefiere para consumo en fresco por su color atractivo, mientras que el amarillo se prefiere para la elaboración de conservas por su sabor.

La principal variedad comercial en Nueva Zelanda es la llamada “negra”, obtenida como una variación entre los tipos amarillos y rojos oscuros. El resultado es una fruta de tamaño grande, color rojo intenso, considerada de mejor calidad.

A pesar de que en el mercado no se ha establecido una diferenciación clara entre las variedades de esta fruta, se reconocen distintos cultivos; los principales se especifican a continuación, indicándose las características principales relevantes a su comercialización:

- **“Ecuadorian orange”:** Fruta de color naranja, tamaño mediano, pulpa color naranja – amarillo, textura cremosa, acidez menor que en otras variedades. Excelente para consumo en fresco y también para uso en cocina gourmet.
- **“Goldmine”:** Se trata de un cultivar superior recientemente introducido en Nueva Zelanda. Es una fruta grande de color amarillo – dorado, con pulpa blanda, sabor fuerte pero no ácido. Altamente recomendada para consumo en fresco por su sabor.
- **“Inca Gold”:** Fruta amarilla de sabor menos ácido que los tipos rojos. Se la utiliza para consumo y fresco además de cocinada. El sabor de la fruta cocinada ha sido comparado con el del durazno.
- **“Oratia Red”:** Fruta roja de tamaño grande con pronunciado sabor ácido. Se consume fresca y en conservas.
- **“Rothamer”:** Fruta de mayor tamaño que los otros tipos, con cáscara roja brillante y pulpa amarilla – dorada, sabor dulce. Se recomienda su consumo en fresco.

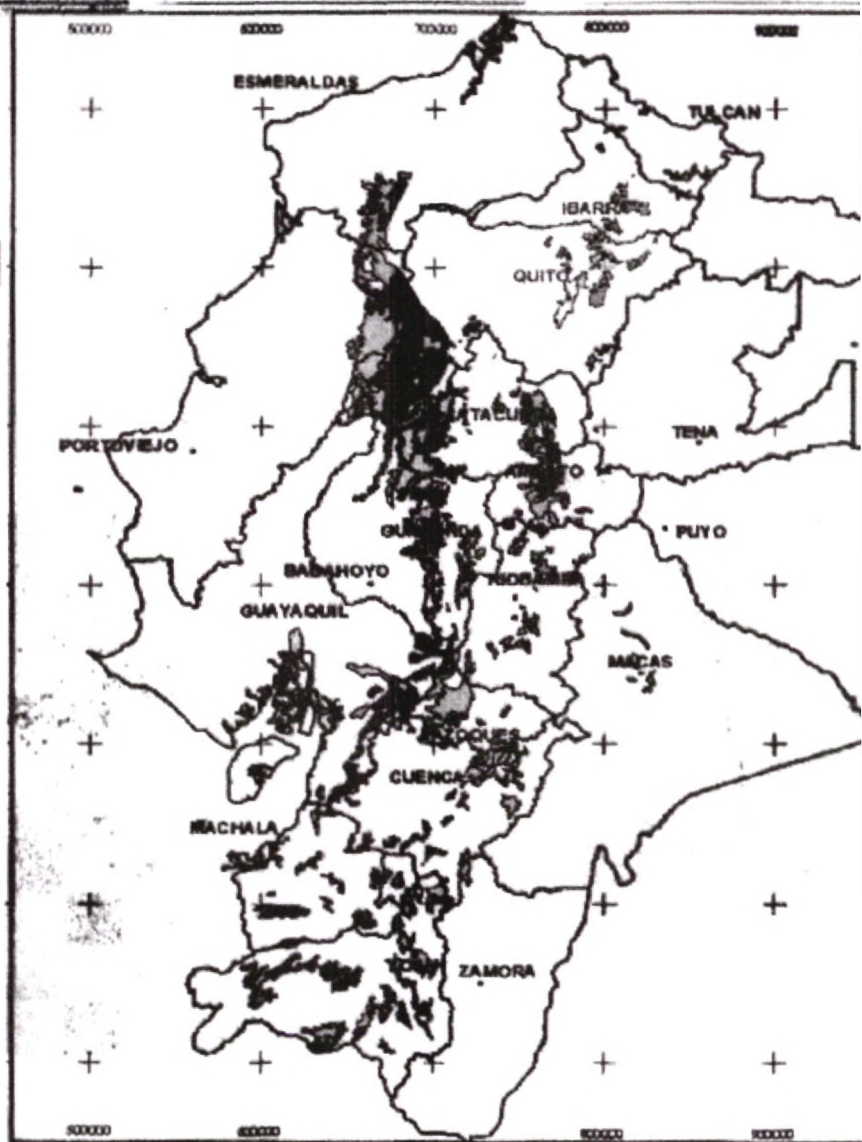
- **“Ruby Red”**: Fruta grande, cáscara de color rojo brillante y su pulpa es rojo oscuro. Tiene sabor fuerte y ácido. Se la recomienda para uso en cocina gourmet. En Nueva Zelanda esta variedad es la de cultivo estándar para exportación.
- **“Solid Gold”**: Fruta grande con cáscara de color dorado – naranja. Su pulpa es suave con sabor menos ácido que otros tipos. Muy buena para consumo en fresco.
- **“Yellow”**: Fruta de tamaño mediano, con cáscara de color naranja - amarillenta. La pulpa es amarilla con sabor suave. Es el tipo de cultivo más antiguo de tamarillo en Nueva Zelanda.

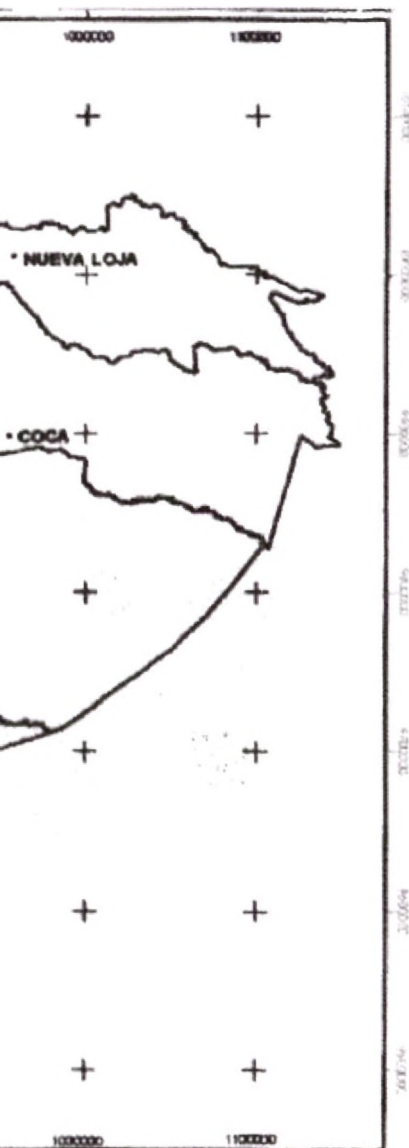
La partida arancelaria NANDINA de este producto es la #0810903000 "Tomate de árbol fresco o congelado".

2) Regionalización

Cultivo de amplio desarrollo en el callejón interandino y estribaciones de la cordillera: Salinas Ibarra, Ambuquí, San Gabriel, Bolívar, Pimampiro, Ibarra, Atuntaquí, Tumbaco, Puembo, Tambillo, Latacunga, Salcedo, Pelileo, Huachi, Baños, Biblián, Gualaceo (Bulcay), Paute, Girón, Santa Isabel, Loja.

A continuación presentamos un mapa en el cual se presenta la ubicación de las zonas más productivas de esta fruta en el Ecuador:





TOMATE DE ARBOL

LEYENDA

- LIMITACIONES IMPORTANTES
- LIMITACIONES LIGERAS
- LIMITACIONES MUY IMPORTANTES
- LIMITE PROVINCIAL

LIMITACIONES	ESCALA	AREA EN HECTÁREAS
LIMITACIONES IMPORTANTES		10000
LIMITACIONES LIGERAS		10000
LIMITACIONES MUY IMPORTANTES		10000



CONVENIO MAG - IICA

GUIA TECNOLÓGICA Y DE POSIBILIDADES
DE INVERSIÓN PARA CULTIVOS NO TRADICIONALES

TEMA: LOCALIZACIÓN DEL CULTIVO DEL TOMATE DE ARBOL

REALIZADO POR: ING. JAMES PROYOS

ESCALA 1 : 100000

FECHA: DICIEMBRE DE 1986

DE GRADUACIÓN

3) Características Nutricionales de la Fruta.-

La composición nutricional general del Tomate de árbol, según la fuente del Ministerio de Agricultura y la CORPEI (Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones) es:

Composición nutricional del tomate de árbol (Estos valores difieren según la variedad de tomate de árbol)		
Componentes	Contenido de 100 g de parte comestible	Valores diarios recomendados (basado en una dieta de 2000 calorías)
Acidez	1.93 – 1.60	
Brix	11.60 – 10.50	
Calorías	30	
pH	3.17 – 3.80	
Humedad	86.03 – 87.07 %	
Carbohidratos	7 g	300 g
Ceniza	0.60 g	
Fibra	1.1 g	25 g
Proteína	2.00 g	
Calcio	9 mg	162 mg
Caroteno	1 000 IU	5 000 IU
Fósforo	41 mg	125 mg
Hierro	0.90 mg	18 mg
Niacina	1.07 mg	20 mg
Riboflavina	0.03 mg	1.7 mg
Tiamina	0.10 mg	
Vitamina C	25 mg	60 mg
Vitamina E	2 010 mg	

Fuente: Caribbean Fruit, CORPEI

4) Manejo Post Cosecha

1. Cosecha y transporte: La cosecha de campo se lo realiza en cestas de plástico de 52 x 35 x 36cm, en cuyo fondo de coloca hojas de papel en blanco no de periódico.
2. Recepción en planta: Las jabas se deben localizar inmediatamente en un sitio seco y fresco, preferible aclimatado. Se recomiendan temperaturas de 4° C – 8° C, con una humedad relativa del 80% - 90%.
3. Selección: La selección de la fruta se realiza personal capacitado, los cuales deben estar equipados con delantales que protejan al producto

estar en contacto con el vestido o directamente con la piel, para evitar posibles contaminaciones con microorganismos. Deben estar equipados con vestimenta de color blanco para detectar fácilmente la suciedad y mantener constantemente altísimos índices de higiene. La selección de la fruta se lo hace con guantes de látex.

4. Limpieza: Se debe eliminar especialmente los residuos de cosecha, pedúnculos de la fruta, hojas, impurezas, etc.
5. Clasificación: Existen índices de clasificación que están en función con el peso del fruto.
6. Empaque: Se la realiza en paquetes de poliestireno envueltos con celofán I o celofán II (de poros mas grandes que el anterior), con pesos de 300 - 500 gramos incluso de 5 Kilos.
7. Almacenamiento: A una temperatura de por lo menos 4°C, con una humedad relativa de 80% a 90%.

Calidad nutrimental del tomate de árbol.

“Según Corpei (1998), el fruto del tomate de árbol resalta por sus cualidades nutricionales, especialmente por las siguientes:

- Propicia la reducción de los niveles de colesterol.
- Tiene alto contenido de fibra y de vitaminas (A y C) y bajo nivel de calorías.
- Es rico en minerales, especialmente, calcio, hierro y fósforo
- Contiene niveles importantes de proteína y caroteno, por lo que fortalece el sistema inmunológico y la visión, además de funcionar como antioxidante;
- Es una buena fuente de pectina.

La composición aproximada en 100 g de fruto para cada uno de los constituyentes citados se establece en el siguiente cuadro proveniente de la comparación entre datos de la CORPEI e investigaciones del INIAP en Chuquipata, aunque puede variar según la variedad de tomate de árbol.”³

³ (Feicán C., Tesis Crecimiento, Nutrición, Producción y Calidad de Frutos de Tomate de Árbol en Cuenca, Ecuador, Págs. 9 -10. México 2001)

Composición energética y nutrimental del fruto de tomate de árbol		
Factor	Corpei (1998)	Romero (1961)
Proteína	2.0 g	1.4 g
Ceniza	0.60 g	0.7 g
Energía	27 Calorías	
Vitamina E	2010 U.I.	
Humedad	86.03 - 87.07 %	
pH	3.17 - 3.80	
Acidez	1.60 - 1.93	
°Brix	10.5 - 11.6	
Caroteno	0.67 mg	
Tiamina	0.10 mg	0.05 mg
Riboflavina	0.03 mg	0.03 mg
Ácido Ascórbico	29 mg	25 mg
Niacina	1.07 mg	1.1 mg
Calcio	9 mg	6 mg
Fósforo	41 mg	22 mg
Hierro	0.90 mg	0.4 mg
Vitamina A		1000 U.I.
Calorías		30
Agua		89.1 g
Grasa		0 g
Carbohidratos		7.0 g
Fibra		1.1 g

^a Composición en 100 g de pulpa base húmeda

5) Alternativas de Procesamiento Agroindustrial

El tomate de árbol se puede procesar y comercializar congelado IQF, en pulpa congelada, concentrado, jugo, conservas, mermeladas. El tomate de árbol es una fruta muy versátil en cuanto a variedad de preparaciones. Se la consume principalmente en jugo, y en almibar.

En Europa se la consume fresca, mientras que el consumidor estadounidense la prefiere preparada. Es un excelente complemento para ensaladas de frutas, y vegetales, así como platos gourmet. Se la utiliza para la elaboración de helados y, por su alto contenido de pectina, para mermeladas.

1.1.5.2. Especificaciones Analíticas en la Fabricación de Cremogenados

Las especificaciones analíticas que normalmente siguen las industrias que producen cremogenado/pulpas o puré de frutas, según información obtenida de la CODEX ALIMENTARIUS son:

Físico-químicas:

Sólidos solubles:	<i>Mínimo 11%</i>
Acidez:	<i>Entre 1,60 – 2.00% (expresado como ácido cítrico).</i>
Grado Brix:	<i>11.6 – 10.5</i>
pH:	<i>Entre 3,6 ± 0,4</i>

Microbiológicas:

Recuento total Aerobios Mesofilicos:	<i>Inferior a 10.000 ufc/g.</i>
Coliformes totales:	<i>Ausencia absoluta.</i>
Hongos y levaduras:	<i>Inferior a 50 ufc/g.</i>

1.2 Principales parámetros y componentes de los derivados de fruta.

1.2.1. El pH

El pH de un alimento es uno de los principales factores que determinan la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el procesado, el almacenaje y la distribución, “así pues ciertos mohos como los fusarium, se desarrollan a en pH comprendido entre 1,8 y 11,2, a pesar de ello se encuentran mohos y levaduras que se desarrollan entre 7,5 a 3, en cambio con las bacterias sucede que se desarrollan en un intervalo de pH superior de 8 o inferior a 5, ejemplo son los Lactobacillus, pero en aquellas cepas bacterianas que son termorresistentes tales como Bacillus y Clostridium no se desarrollarán en intervalos inferiores a 4,5, por ello es posible una efectiva esterilización a 100°C, pero cabe mencionar que existen ciertas bacterias esporuladas de gran termorresistencia, tal como lo son los Bacillus thermoacidurans que se desarrollan en jugos de tomate con pH menor a 4,5”⁴.

⁴ (Ref. Carrión M. 1996, Pág. 203)

Las frutas, que son la materia prima fundamental para la elaboración de los zumos y cremogenados, tienen normalmente valores de pH ácidos, comprendidos entre 2,0 para el limón y la lima, y 4,5 para el tomate riñón, debido a su gran contenido en ácidos orgánicos. En el tomate de árbol los valores de pH oscilan entre 3,17 y 3,80.

Los concentrados de frutas y los cremogenados, que sirven para la elaboración de zumos y mermeladas, tienen prácticamente el mismo margen de pH.

1.2.2. Actividad de agua

“Del agua contenida en un alimento dependen las propiedades reológicas y de textura de éste, pero también es responsable en gran medida de las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas, que son las tres principales causas del deterioro de un producto.

El agua en los alimentos se divide en libre y en ligada; la primera sería la única disponible para el crecimiento de los microorganismos o para intervenir en las transformaciones hidrolíticas, químicas, enzimáticas, etc., mientras que la segunda está unida a la superficie sólida y no puede intervenir en estos procesos. Es decir, bajo este esquema sólo una parte del agua es capaz de propiciar estos cambios.

Para medir dicha fracción se acuñó el término "actividad acuosa", que se viene empleando desde 1953 y que representa el grado de interacción del agua con los demás constituyentes, o la porción que está disponible en un producto para sustentar las reacciones ya mencionadas con base en este valor, se puede predecir la estabilidad de un alimento.”⁵

Matemáticamente la actividad del agua se vincula con ciertas propiedades fisicoquímicas, de la siguiente manera:

$$a_w = \frac{f}{f^o} = \frac{P}{P_o} = \frac{HR}{100} = \frac{Ma}{Ma + Ms}$$



⁵ (Ref. Badui S. 1993, Pág. 28)

En donde:

f	=	Fugacidad en un determinado estado a temperatura T
f°	=	Fugacidad en un estado estándar a T
HR	=	Humedad relativa
P	=	Presión de vapor del agua del alimento a T
P_o	=	Presión de vapor del agua pura a T
Ms	=	Moles de soluto (g/pm)
Ma	=	Moles de agua (g/18)

La fugacidad es una medida de la tendencia de una sustancia a escaparse; en virtud de que el vapor de agua se comporta aproximadamente como un gas ideal, se puede emplear la presión de vapor en lugar de la fugacidad.

La escala de medición de este parámetro es de cero (un producto absolutamente seco) a uno (agua pura), mientras que para la humedad relativa es de 0 a 100%.

La actividad acuosa es una propiedad intrínseca y se relaciona con el contenido de humedad por medio de las curvas o isotermas de adsorción y desorción, por esta razón es muy importante no confundir la actividad acuosa con el contenido de agua ya que la relación no es lineal.

Para entender mejor esto, considérese un material orgánico hidratado y almacenado a una temperatura constante en una cámara cerrada; al cabo de algún tiempo, su presión de vapor correspondiente provocará que haya transferencia de moléculas de agua y la cámara adquirirá una humedad relativa constante que estará en equilibrio con el contenido de agua del material; es decir, no hay movimiento de humedad en ningún sentido

Aquí tenemos los gráficos de relaciones entre actividad de agua, estabilidad de alimentos e isotermas de sorción:

Grafico A) Crecimiento microbiano versus a_w

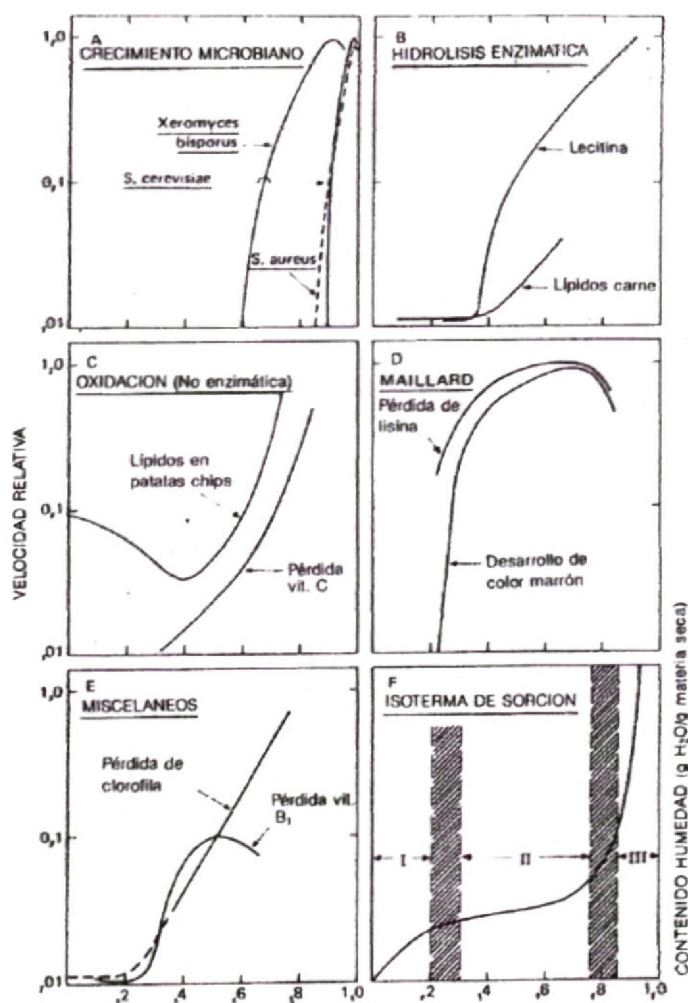
Grafico B) Hidrólisis enzimática versus a_w

Gráfico C) Oxidación no enzimática versus a_w

Gráfico D) Pardeamiento de Maillard versus a_w

Gráfico E) Velocidades de reacción misceláneas versus a_w

Gráfico F) Contenido de agua versus a_w



La actividad de agua (a_w) está íntimamente relacionada con las propiedades físicas, químicas y biológicas de los alimentos y juega un papel muy importante en su estabilidad, ya que influye notablemente en la velocidad de las reacciones de alteración de los alimentos.

Alteraciones específicas en el color, aroma, sabor, textura y en la aceptabilidad de un alimento, crudo o procesado, han sido asociadas a cambios de a_w relativamente pequeños.

Muchas de las reacciones involucradas en la reacción de Maillard consisten en deshidrataciones y rehidrataciones sucesivas, por lo que el agua misma es uno de los reaccionantes.

La actividad de agua de los zumos y cremogenados viene determinada por su contenido en sólidos solubles, principalmente azúcares. Dichos niveles de azúcar suelen oscilar, en los zumos y cremogenados no concentrados, entre el 5 y el 15 % en peso, es decir, entre 5 y 15° Brix, lo que implica que la actividad de agua tome valores altos, por encima de 0.98, los mismos que favorecen el desarrollo microbiano, puesto que aunque cada microorganismo tiene una

actividad de agua crítica por debajo de la cual no puede desarrollarse, el valor óptimo para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos se sitúa entre 0,92 y 0,99. Así pues, las bacterias, entre las que se incluyen las patógenas, prácticamente no pueden crecer cuando los valores de la actividad de agua están por debajo de 0,85-0,90. Los mohos y levaduras, en cambio, son más tolerantes, pudiendo crecer a valores de actividad de agua mucho más bajos, de hasta 0,6.

1.2.3. Nutrientes

1.2.3.1. Hidratos de carbono

El contenido en carbohidratos de los zumos y cremogenados es alto y está constituido fundamentalmente por hexosas fácilmente metabolizables (como glucosa y fructosa), pentosas y pectinas. Los principales monosacáridos en el tomate de árbol son la glucosa y la fructosa. En general, es mayor la proporción de glucosa que la de fructosa, siendo sus contenidos, con respecto al total de la fracción comestible de la fruta, de 1,47 y 0,96 g por 100 g respectivamente. Cabe destacar su contenido en sacarosa, un 6,90 % que es notablemente superior que el de los azúcares reductores. Otros azúcares que se encuentran en menor proporción son la xilosa, la arabinosa y el sorbitol.

1.2.3.2. Compuestos nitrogenados

Con frecuencia estos productos contienen nitrógeno, pero en niveles muy bajos, y aproximadamente alrededor del 60 % se encuentra en forma de aminoácidos libres. En el tomate de árbol su contenido se sitúa entre 0,3 y 0,9 % del total de la fracción comestible. La mayor parte de la fracción proteica está constituida por enzimas, las cuales son inactivadas por la acción del calor durante el procesado de las frutas. Los aminoácidos libres constituyen un promedio de un 50 % de la fracción de los compuestos nitrogenados solubles. En el tomate de árbol algunos de los aminoácidos presentes son los ácidos γ -aminobutírico, aspártico, glutámico, la α -alanina y la glutamina entre otros.

1.2.3.3. Ácidos y vitaminas

El contenido en ácidos orgánicos es también elevado y tiene una gran influencia en el valor del pH. Muchas levaduras y hongos pueden utilizar los ácidos orgánicos como fuente de carbono en condiciones aeróbicas. Los principales ácidos orgánicos en el tomate de árbol son el málico, el cítrico aunque también se encuentran presentes, en pequeñas concentraciones, otros ácidos como el clorogénico, el galacturónico, el místico y el succínico.

Las principales vitaminas aportadas por las frutas son las vitaminas A y C, así pues, la concentración de ácido ascórbico en el tomate de árbol es de aproximadamente 25mg/100 g, aunque en los productos elaborados este valor es mucho más reducido a no ser que se haya añadido después del proceso, ya que además de su carácter nutritivo, esta sustancia contribuye a mantener la estabilidad del color y del sabor. Cabe destacar que el tomate contiene una elevada cantidad de Vitamina E, siendo su valor aproximado de 2010 mg/100g.

1.2.3.4. Pigmentos

El color de las frutas se debe a los pigmentos localizados en los plastos, vacuolas y en el líquido citoplasmático de las células. Los pigmentos más característicos pertenecen a cuatro grandes grupos: las clorofilas, los flavonoides, las antocianinas y sobretodo los carotenoides.

La pigmentación de la piel en la mayoría de frutos va variando durante el periodo de crecimiento y durante la maduración. La clorofila es el pigmento verde presente en los frutos jóvenes. A medida que las frutas maduran se produce un viraje de color, como consecuencia de la desaparición de la clorofila y de la formación de nuevos pigmentos. En los tomates de árbol cuando se alcanza la madurez, la clorofila desaparece casi por completo. La estructura química de la molécula de clorofila es muy compleja y fácilmente alterable por diferentes agentes físicos y químicos.

Las antocianinas son glucósidos formados por una molécula de antocianidina (aglucon) unida a un carbohidrato. La antocianidina más frecuente en las distintas variedades de tomates de árbol, es la cianidina; y los azúcares que comúnmente se pueden encontrar formando parte de las antocianinas son glucosa, ramnosa, galactosa y arabinosa. En general, las antocianinas se encuentran en la piel, pero también se pueden encontrar en la porción carnosa de las frutas y se hallan disueltas en el jugo celular. Sus colores son rojos, azules o violetas. El color de cada antocianina depende de su estructura química, del H al que se encuentra y de la presencia de sales con las que interaccione. Estos pigmentos son poco estables, la presencia de oxígeno, la temperatura, tanto durante el procesado como en el almacenamiento, y otros factores como la luz y el pH influyen en la pérdida del color de las mismas.

Los productos de degradación de los azúcares, en particular el furfural y el 5-hidroximetil-furfural (HMF), también aceleran la degradación de las antocianinas.

Los flavonoides tienen una estructura química similar a las antocianinas, y normalmente se encuentran junto con ellas en los frutos. Los azúcares unidos a los aglucones son, generalmente, glucosa, ramnosa, galactosa, arabinosa y xilosa, y en algunos casos, es el disacárido rutinosa. En general los flavonoides son de

color amarillo y naranja, pero participan muy poco en la coloración de las frutas. Son más estables que las antocianinas al calor y a las reacciones de oxidación.

Los carotenoides son responsables del color amarillo, naranja y rojo de las frutas. En las frutas se encuentran en forma libre, disueltos en lípidos, como ésteres, o combinados con azúcares o proteínas y generan diferentes colores según la manera en que interaccionen. Los tomates de árbol son particularmente ricos en carotenoides en forma de β -carotenoides.

Los carotenoides son relativamente resistentes al calor y a pH extremos, pero por el contrario, son muy sensibles a la oxidación, reacción catalizada por la luz, lipoxidasas y peróxidos lipídicos. Los carotenoides además tienen mucha importancia no sólo por el color que confieren a los alimentos, sino porque son los precursores más importantes de la vitamina A en el hombre. En general, son más abundantes en la piel de las frutas que en la porción carnosa.

1.2.3.5. Pectinas y sólidos en suspensión

En los cremogenados de fruta los sólidos en suspensión constituyen la pulpa, que está formada, principalmente, por tejido desintegrado, que contiene fibra celulósica, pectinas y partículas lipoides que contienen carotenoides y aceites esenciales. Otra porción de pectinas se encuentra disuelta en el zumo y contribuye a la viscosidad y consistencia del mismo. La viscosidad depende de la concentración y del grado de polimerización de la pectina, así como del pH y de las sales existentes.

La pectina total está formada por tres fracciones: la pectina soluble en agua (pectina de alto metoxilo), la pectina hidrolizada (pectina de bajo metoxilo) y la protopectina o pectina unida a la celulosa en forma insoluble. Las pectinas que se encuentran presentes en la fruta, se encuentran también en los cremogenados o purés de fruta influyendo en sus características reología.

En el tomate de árbol se encuentran las pectinas, así como las fibras, en un porcentaje aproximado de 1.1%.

Capítulo II

“Reología en Alimentos”

“Reología en Alimentos”

2.1. Concepto y aplicaciones

La reología se define como la ciencia que estudia la deformación y flujo de la materia.

La reología de los alimentos ha sido definida como “el estudio de la deformación y flujo de las materias primas sin procesar, los productos intermedios o semielaborados, y los productos finales de la industria alimentaria”.

El conocimiento adecuado de las propiedades reológicas de los alimentos es muy importante por numerosas razones, entre las que destacan las aplicaciones que se detallan a continuación:

- **Diseño de procesos y equipos en Ingeniería:** el conocimiento de las propiedades de comportamiento al flujo y de deformación de los alimentos son imprescindibles en el diseño y dimensionado de equipos tales como cintas transportadoras, tuberías, tanques de almacenamiento, pulverizadores o bombas para el manejo de alimentos. Además, la viscosidad se utiliza para la estimación y cálculo de los fenómenos de transporte de cantidad de movimiento, calor y energía.
- **Evaluación sensorial:** los datos reológicos pueden ser muy interesantes para modificar el proceso de elaboración o la formulación de un producto final de forma que los parámetros de textura del alimento se encuentren dentro del rango considerado deseable por los consumidores
- **Obtener información sobre la estructura del alimento:** los estudios reológicos pueden aportarnos información que facilite una mejor comprensión de la estructura o de la distribución de los componentes moleculares de los alimentos, especialmente de los componentes macromoleculares, así como para predecir los cambios estructurales durante los procesos de acondicionamiento y elaboración a los que son sometidos.
- **Control de calidad:** las medidas de la viscosidad en continuo son cada vez más importantes en muchas industrias alimentarias con objeto de controlar el buen funcionamiento del proceso productivo, así como la calidad de las materias primas, productos intermedios y acabados.

2.2. Reología en fluidos alimentarios

Los alimentos se presentan en una gran variedad de formas, tales como sólidos, líquidos y semilíquidos. Algunos alimentos, entre los que se encuentran los helados y las grasas, son sólidos a una temperatura y líquidos a otra. Otros son suspensiones (mermeladas, zumos y purés o cremogenados de frutas), o emulsiones como la leche. Debido a esta amplia variación en su estructura, el comportamiento al flujo de los alimentos fluidos presenta una amplia gama de modelos que van desde el simple newtoniano a los no newtonianos dependientes del tiempo y los viscoelásticos.

Los numerosos estudios reológicos realizados en alimentos que se encuentran en la bibliografía confirman la gran diversidad de comportamientos al flujo que pueden presentar.

Todo ello hace necesario un análisis crítico de los fenómenos subrayados bajo una variedad de condiciones de flujo y establecer las relaciones entre la estructura y el comportamiento al flujo.

Cuando se trabaja con átomos o moléculas mono o diatómicas no polares, pequeñas y esféricas, se puede aplicar la teoría molecular de la viscosidad, la cual señala que los parámetros que contribuyen a la viscosidad son el volumen molecular, la masa molecular, la distancia entre moléculas, la distribución radial de las moléculas, y las fuerzas de atracción entre las moléculas.

Cuando las moléculas son más largas y más complejas, caso de los alimentos, se hace necesario tener en consideración toda una serie de parámetros adicionales, tales como factores geométricos e interacciones entre partículas.

El tamaño o volumen, la forma, la concentración y la interacción de las partículas son parámetros básicos que afectan a las propiedades reológicas de cualquier sistema, sea éste molecular, una suspensión, una dispersión, una pasta o un gel. Sin embargo, el rango de operación de cada uno de estos parámetros básicos es diferente para cada uno de los sistemas.

De hecho, no son estos parámetros por sí mismos los que controlan las propiedades de flujo, sino las interacciones entre ellos.

El comportamiento reológico de un fluido alimentario puede describirse según distintas ecuaciones que relacionan el esfuerzo cortante con la velocidad de deformación. En la literatura existen muchos modelos para describir este comportamiento, sin embargo son varios los autores que coinciden al afirmar que uno de los modelos más comúnmente usados y de aplicación general para ajustar los datos experimentales y expresar cuantitativamente el comportamiento al flujo de los fluidos inelásticos independientes del tiempo es el modelo propuesto por Herschel y Bulkley:

$$\tau = \tau_0 + K_H \dot{\gamma}^n \quad (1)$$

En donde:

- τ = Esfuerzo cortante
 τ_0 = Umbral de fluencia
 K_H = Índice de consistencia de flujo
 $\dot{\gamma}$ = Velocidad de deformación
 n = Índice de comportamiento al flujo

Esta ecuación puede representar, dependiendo de los valores que tomen las constantes, comportamientos newtonianos, plásticos de Bingham, pseudoplásticos y dilatantes. Ver gráfico:

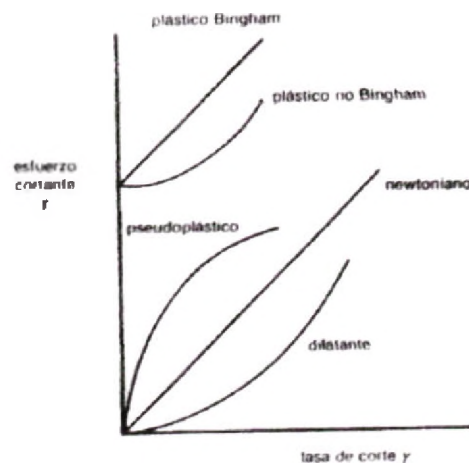


Fig. Comportamiento Reológico de los Fluidos.

En la siguiente tabla se muestra el comportamiento al flujo y algunos ejemplos de varios tipos de alimentos fluidos y semifluidos”⁶

⁶ (Ref. Fenómenos de Transporte, 1975)

Tipo de flujo	Índice de consistencia	Índice de comportamiento al flujo	Umbral de fluencia	Ejemplo
Newtoniano	Viscosidad $K > 0$	$n = 1$	$\tau_0 = 0$	Zumos clarificados, aceites, leche, jarabes de pastelería.
Seudoplástico	Viscosidad aparente $K > 0$	$0 < n < 1$	$\tau_0 = 0$	Zumos concentrados cremogenados y purés, de fruta, almidón.
Plástico de Bingham	Plasticidad constante $K > 0$	$n = 1$	$\tau_0 > 0$	Aderezos de ensalada, salsa de dulce de, chocolate kepechup.
Tipo mixto	Índice de consistencia $K > 0$	$0 < n < 1$	$\tau_0 > 0$	Mermelada, jalea.
Dilatante	Índice de consistencia $K > 0$	$1 < n < \infty$	$\tau_0 = 0$	Mantequilla de cacahuete, pasta de salchichas.

Características de flujo de alimentos líquidos.

2.3. Clasificación de los alimentos fluidos según su comportamiento reológico

Para una mayor comprensión de los problemas que se plantean en el estudio de las propiedades reológicas de los alimentos, se presenta a continuación una clasificación de los diversos alimentos fluidos más habituales según su comportamiento reológico.

De modo general, la mayoría de los autores, coinciden al hacer una primera clasificación entre alimentos newtonianos y no newtonianos, según su comportamiento reológico siga o no la ley de Newton de la viscosidad.

Además, existen alimentos en los que su comportamiento depende del tiempo de actuación del esfuerzo realizado sobre ellos. Finalmente, existe otro grupo de alimentos que se comportan como fluidos viscosos y sólidos elásticos a la vez, son los fluidos viscoelásticos.

Así, la clasificación de los fluidos alimentarios según su comportamiento reológico puede establecerse de la siguiente forma:

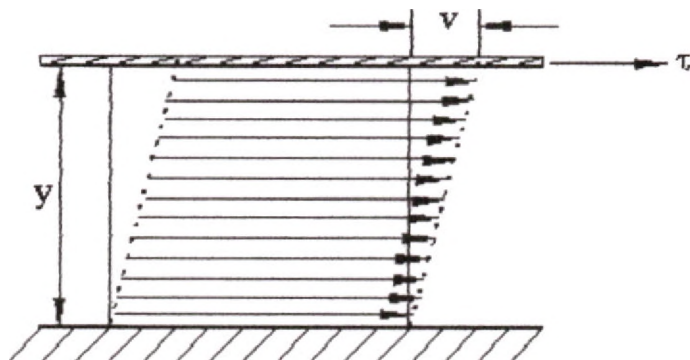
- Fluidos newtonianos.
- Fluidos no newtonianos.
 - 1) Independientes del tiempo
 - Plásticos de Bingham
 - Seudoplásticos
 - Dilatantes
 - 2) Dependientes del tiempo
 - Fluidos tixotrópicos
 - Fluidos reopéticos
- Fluidos viscoelásticos

2.3.1. Fluidos newtonianos

Los fluidos newtonianos son llamados así después de que Isaac Newton describiera el flujo viscoso. El fluido newtoniano no posee propiedades elásticas, es incompresible, isotrópico y carente de estructura y, como el sólido de Hooke, no existe en la realidad. Sin embargo, muchos líquidos reales muestran un comportamiento newtoniano en un amplio rango de esfuerzos cortantes. Estos líquidos son a los que los reólogos se refieren como “líquidos newtonianos”.

El comportamiento reológico de un fluido newtoniano se ilustra en la figura, en la que un fluido está contenido entre dos placas paralelas. La placa superior es obligada a moverse con una velocidad v , relativa con respecto a la placa inferior, esta fuerza es debida a la aplicación de una fuerza cortante F por unidad de área (se considera que los efectos de borde son despreciables) o lo que es lo mismo, un esfuerzo cortante o tensión de cizalladura, τ .

Las capas del fluido en contacto con las placas se considera que se mueven a la misma velocidad que la superficie con la que están en contacto, lo que supone que no tiene lugar deslizamiento en las paredes. Entonces el fluido se comporta como una serie de capas paralelas, o láminas, cuyas velocidades son proporcionales a su distancia a la placa inferior.



Así, el comportamiento reológico de los fluidos ideales o newtonianos puede describirse mediante la ley de Newton de la viscosidad, que viene expresada por la ecuación:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (2)$$

La misma que indica que cuando un fluido es sometido a un esfuerzo cortante, τ , existe una proporcionalidad directa entre la velocidad de deformación o gradiente de velocidad, $\dot{\gamma}$, que sufre el fluido y dicho esfuerzo cortante. Esta constante de proporcionalidad, η , es el llamado coeficiente de viscosidad, viscosidad dinámica o simplemente viscosidad.

En este tipo de fluidos la viscosidad sólo depende de la temperatura y composición, siendo independiente del tiempo, de la velocidad de deformación y de la historia previa del fluido.

Un número limitado de alimentos muestran características de flujo ideal, entre los que se encuentran algunos tan importantes fisiológicamente como el agua, nutritivamente como la leche y económicamente como las bebidas refrescantes.

Son muchos los autores que, como resultado de sus investigaciones, atribuyen un comportamiento casi newtoniano a gran número de alimentos fluidos. Como ejemplo de los más nombrados se pueden citar el agua y las disoluciones diluidas de azúcares; las bebidas carbónicas, las bebidas alcohólicas (si no contienen moléculas de cadena larga), los extractos de carne; el jarabe de maíz y ciertas mieles; algunos aceites ligeros de cocina y la leche cruda y homogeneizada, el huevo y algunos de sus derivados.

2.3.2. Fluidos no newtonianos

Son aquellos fluidos que no cumplen la ley de Newton de la viscosidad, por lo tanto, la relación entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación deja de ser lineal.

Estos fluidos se caracterizan porque su viscosidad no permanece constante cuando la temperatura y la composición permanecen invariables, sino que depende del esfuerzo cortante o gradiente de velocidad y, a veces, del tiempo de aplicación del esfuerzo y de la historia previa del producto o muestra. Ello es debido a que la constitución física varía al someter el producto a los efectos de rozamiento a lo largo del tiempo. Dado que en este tipo de fluidos la viscosidad no permanece

constante, se define la viscosidad aparente, η_a , como la relación entre el esfuerzo cortante y la velocidad de deformación correspondiente:

$$\eta_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \neq \text{cte.} \quad (3)$$

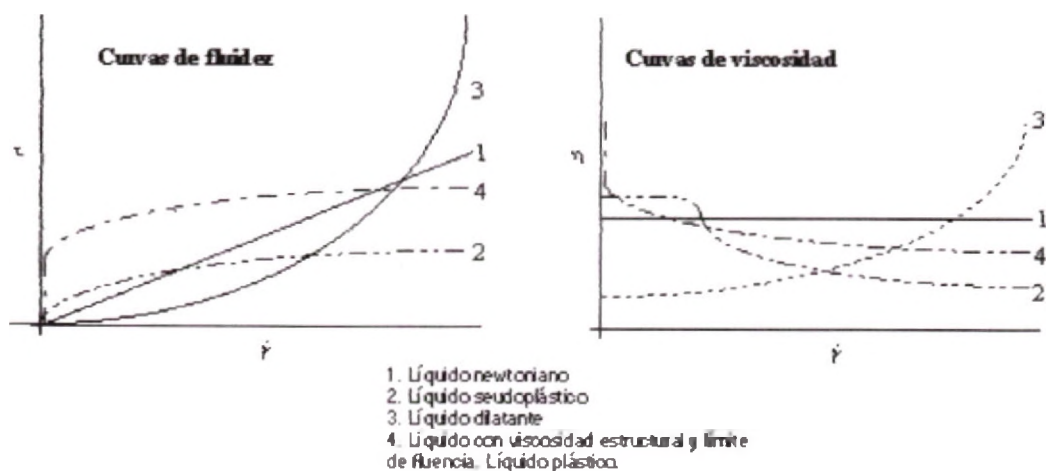
2.3.2.1. Fluidos independientes del tiempo

Los fluidos independientes del tiempo se han clasificado en tres categorías o grupos:

- Plásticos
- Seudoplásticos
- Dilatantes

Y se caracterizan por que la viscosidad aparente sólo depende de la temperatura, de la composición del fluido y del esfuerzo cortante o gradiente de velocidad aplicado, pero nunca del tiempo de aplicación de éste último.

En la siguiente figura se representan las curvas de fluidez y de viscosidad de algunos de los comportamientos reológicos más frecuentes:



▪ Fluidos plásticos

Los fluidos plásticos son aquellos que no fluyen hasta que son sometidos a un esfuerzo cortante límite determinado, llamado esfuerzo de deformación plástica, umbral de fluencia o límite de fluencia, τ_0 . En el caso de los fluidos plásticos de Bingham, una vez que se supera el valor del umbral de fluencia, la velocidad de deformación es proporcional al esfuerzo, como en el caso de los fluidos newtonianos. Estos fluidos exhiben propiedades de líquido a esfuerzos superiores al umbral de fluencia por lo tanto pueden ser clasificados tanto como líquidos o como sólidos.

El producto plástico ideal es el descrito por el modelo de Bingham:

$$\tau = \tau_0 + \eta' \dot{\gamma}^n \quad (4)$$

Donde τ_0 es el umbral de fluencia y η' es la viscosidad plástica, aquí el umbral de fluencia puede ser consecuencia de un entrelazado de moléculas o partículas debido a su gran tamaño, ramificaciones o forma irregular. También puede ser debida a la formación de redes provocadas por las interacciones entre moléculas o partículas.

Entre los alimentos típicamente plásticos se encuentran el puré de patata y la nata batida, el chocolate fundido y algunas grasas como margarinas y mantequillas.

El modelo de Bingham ha sido también utilizado por algunos autores para describir el comportamiento reológico de pastas de fécula de mandioca, suero de puré de albaricoque a gradientes de deformación bajos, de geles de pectina y de algunos zumos naturales de manzana.

▪ Fluidos seudoplásticos

Los fluidos seudoplásticos se caracterizan porque su viscosidad aparente decrece cuando aumenta el gradiente de velocidad de deformación. Este comportamiento indica una ruptura o reorganización continua de la estructura, dando como resultado una menor resistencia al flujo, y es debido a la presencia de sustancias de alto peso molecular así como a la dispersión de sólidos en la fase sólida.

De los modelos utilizados para describir el comportamiento reológico de los fluidos seudoplásticos, el más conocido y simple de aplicar es el de Ostwald-De Waale, también conocido como ley de la potencia:

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (5)$$

En donde **K** es el índice de consistencia de flujo y **n** es el índice de comportamiento al flujo. La variable **K** nos da una idea de la consistencia del producto y **n** de la desviación del comportamiento al flujo respecto al newtoniano. Esta ecuación es una de las más utilizadas para describir el flujo de los derivados de fruta que se comportan como pseudoplásticos.

Otra relación muy utilizada es la propuesta por Herschel y Bulkley “Ecuación (1)”, cuya expresión supone ampliar la ley de la potencia con un término correspondiente al umbral de fluencia.

Otro modelo muy utilizado es el de Casson, que viene definido por la ecuación:

$$\tau^{0.5} = K_0C + KC \dot{\gamma}^{0.5} \quad (6)$$

Además de estos modelos existen otros muchos, pero los más utilizados en el caso de fluidos alimentarios pseudoplásticos son los anteriormente descritos.

El comportamiento pseudoplástico es, quizás, el más frecuente en los fluidos alimentarios. En general, se comportan de esta forma muchos derivados de frutas y vegetales como algunos zumos y purés de frutas, derivados del tomate, confituras de fruta; productos lácteos como la nata o la leche azucarada condensada; algunas sopas y salsas; la clara de huevo; la yema del huevo; el ketchup y la mostaza francesa, y en el caso de nuestra investigación del Cremogenado de Tomate de Árbol.

2.3.2.2. Fluidos no newtonianos dependientes del tiempo

Son aquellos fluidos en los que la viscosidad aparente depende, además de la velocidad de deformación, del tiempo de actuación de dicha velocidad.

Los alimentos no newtonianos con propiedades dependientes del tiempo se subdividen en fluidos tixotrópicos y reopécticos. Para los primeros, a una velocidad de deformación fija, la viscosidad disminuye con el tiempo de cizallado; para los últimos, la viscosidad aumenta con el tiempo.

Los materiales tixotrópicos y reopécticos muestran disminución y aumento del esfuerzo de corte (y viscosidad aparente) en el tiempo a un gradiente de deformación fijo.

Ambos fenómenos pueden ser irreversibles, reversibles o parcialmente reversibles. La tixotropía irreversible, llamada rheomalaxia o reodestrucción, es común en alimentos y puede ser un factor para evaluar el umbral de fluencia como también el comportamiento general del flujo.

Anti-tixotropía y tixotropía negativa son sinónimos de reopexía. La tixotropía en muchos fluidos puede ser descrito en términos del fenómeno de transición sol-gel. Esta terminología se puede aplicar al espesamiento del almidón en alimentos para niños o yogurt.

Fluidos tixotrópicos

Se consideran fluidos tixotrópicos a todos aquellos que al aplicarles una velocidad de deformación constante, muestran una disminución del esfuerzo cortante y de la viscosidad aparente con el tiempo. Esto es debido al cambio continuo de la estructura del material, que puede ser en cualquier caso reversible o irreversible. La tixotropía indica una continua ruptura o reorganización de la estructura dando como resultado una disminución de la resistencia al flujo.

Todas las definiciones de tixotropía incluyen el concepto de recuperación estructural.

Sin embargo, muchos alimentos tienen un comportamiento al flujo dependiente del tiempo pero su periodo de recuperación es muy largo o su estructura sólo es parcialmente recuperable. Por ello es más adecuado utilizar los términos "dependencia del tiempo en el flujo" o "destrucción estructural" para definir este tipo de comportamiento.

Se han utilizado distintos modelos matemáticos para cuantificar la dependencia del tiempo de los alimentos. A continuación se describen los más importantes.

Modelo de WELTMANN (1943)

La expresión matemática propuesta por Weltmann

$$\tau = \tau_0 - \log t \quad (7)$$

Relaciona la viscosidad plástica con el tiempo de aplicación de un determinado gradiente de velocidad a través del coeficiente temporal de ruptura tixotrópica (B), el cual representa, en cierta manera, la cantidad de estructura que se degrada durante el cizallamiento. El parámetro τ_0 indica

la tensión tangencial necesaria para que comience a degradarse la estructura que origina la tixotropía.

Una modificación de esta ecuación ha sido utilizada por varios autores para analizar la dependencia del tiempo al flujo de varios alimentos, como la clara de huevo, el zumo de tomate, los aderezos de ensalada y el puré de albaricoque.

$$\tau = \tau_0 + B \ln t \quad (8)$$

Modelo de HAHN (1959)

$$\tau (\tau - \tau_e) = \tau_0 - B_1 t \quad (9)$$

Donde τ_0 , al igual que en el modelo de Weltmann, indica el esfuerzo cortante inicial necesario para que comience a degradarse la estructura que da lugar a la tixotropía. El valor de B_1 informa sobre la velocidad del proceso de degradación de la estructura y depende de la resistencia estructural del fluido frente al cizallamiento que se aplica. τ es el esfuerzo cortante y τ_e es el esfuerzo cortante de equilibrio.

Modelo de TIU y BOGER (1974)

Este modelo permite caracterizar de forma completa el comportamiento reológico de materiales cuyo comportamiento se podría definir como plástico, pseudo-plástico y dependiente del tiempo:

$$\tau = k (\tau + K_H)^n \quad (10)$$

Este modelo asume que el parámetro estructural k varía con el tiempo según una ecuación cinética de segundo orden, válida para $k > k_e$:

$$\frac{dk}{dt} \neq k_t (K + K_e) \quad (11)$$

En la que la constante K_t es una constante de velocidad que es función de la velocidad de deformación y debe ser determinada experimentalmente.

El comportamiento tixotrópico ha sido encontrado en varios alimentos. Además de la clara de huevo, el zumo de tomate, los aderezos de ensalada y el puré de albaricoque, citados anteriormente, también se ha observado este comportamiento en leche condensada, mayonesa, algunos quesos blandos y miel.

Fluidos Reopépticos

Los fluidos reopépticos tienen un comportamiento al flujo contrario a los tixotrópicos, es decir, la viscosidad aparente aumenta con el tiempo en que la muestra es sometida a un determinado gradiente de velocidad, lo que les confiere una cierta semejanza con los fluidos dilatantes en el sentido de que la única diferencia es si el tiempo para la destrucción o formación de estructura es detectable o no.

El modelo reológico aplicable a estos fluidos es el de la ley de la potencia, siendo el valor del índice de comportamiento al flujo mayor que la unidad. Al igual que con los otros tipos de fluidos, para este tipo de alimentos se pueden aplicar otros modelos distintos con mayor o menor éxito.

Finalmente indicar que, aunque se ha observado un comportamiento reopéptico en algunos alimentos como ciertas mieles de eucalipto, este tipo de fluidos son muy poco frecuentes en el campo de la alimentación.

2.3.2.3. Fluidos no newtonianos viscoelásticos

Las características de los productos viscoelásticos varían desde las de los líquidos viscosos con propiedades elásticas a las de los sólidos con propiedades viscosas. En condiciones normales, no es apreciable la elasticidad debida al estiramiento de los enlaces interatómicos y se puede afirmar que la elasticidad de los alimentos viscoelásticos es debida a la deformación elástica de las macromoléculas.

En los alimentos viscoelásticos es frecuente que sólo se dé una recuperación parcial, porque la red tridimensional elástica se desintegra bajo el efecto de la tensión.

Una forma de caracterizar estos fluidos es estudiando la evolución del esfuerzo cortante con el tiempo a una velocidad de deformación fija pudiéndose realizar un análisis comparativo de las diferentes muestras a partir de las curvas obtenidas.

Existen diversos modelos matemáticos que permiten explicar el comportamiento de los fluidos viscoelásticos. El más simple de todos ellos puede obtenerse combinando un sólido de Hooke con un fluido de Newton, lo que lleva al conocido modelo de Maxwell:

$$\tau + \lambda \dot{\tau} = \eta \dot{\gamma} \quad (12)$$

Donde λ es el tiempo de relajación definido como la relación entre la viscosidad newtoniana (η) y el módulo de elasticidad (G).

Este modelo resulta ser excesivamente simple, por lo que tiene el defecto de ser demasiado restringido ya que solamente puede ser aplicado cuando el comportamiento viscoelástico es lineal y, por lo tanto, no es adecuado cuando lo que se pretende representar es un comportamiento no lineal como el observado en los materiales reales. Es por esto, que son necesarias expresiones más complicadas que modelicen de forma más apropiada los comportamientos viscoelásticos no lineales.

Existen varios alimentos que presentan propiedades viscoelásticas. Se trata, en general, de productos con características de geles o semisólidos como los geles de almidón-gelatina y los de leche, los helados, las manzanas, los fideos cocidos, el queso, la masa de harina de trigo, las espumas de proteína y los granos de maíz y trigo. También presentan propiedades viscoelásticas la crema de leche y la mantequilla batida.

2.4. Factores que influyen en el comportamiento reológico

Existen muchos factores que influyen en el comportamiento reológico de los alimentos como son la presión, la estructura del alimento, el gradiente de velocidad o velocidad de deformación y el tiempo de tratamiento de la muestra.

Pero son, quizás, la temperatura de tratamiento y la concentración del alimento los más importantes y los que más se han estudiado.

2.5. Efecto de la temperatura

Hasta el momento en que son consumidos, los alimentos están sometidos continuamente a cambios de temperatura. Empezando por el proceso de elaboración y pasando por los periodos de transporte y almacenamiento, las condiciones de temperatura a que son sometidos los alimentos pueden variar notablemente. Por este motivo es muy importante conocer sus propiedades reológicas en función de la temperatura.

Son muchos los autores que en sus investigaciones correlacionan el efecto que la temperatura ejerce sobre la viscosidad mediante una ecuación de tipo Arrhenius.

Para los fluidos newtonianos, la expresión que correlaciona la viscosidad con la temperatura es:

$$\eta = K_0 \exp (E_a / RT) \quad (13)$$

Donde K_0 es el factor de frecuencia, E_a es la energía de activación de flujo, R es la constante universal de los gases perfectos y T es la temperatura absoluta.

En el caso de los fluidos no newtonianos en lugar de la viscosidad se correlaciona la viscosidad aparente a una velocidad de deformación fijada:

$$\eta_a = \eta_{\infty} \exp (E_a / RT) \quad (14)$$

Siendo η_a la viscosidad aparente y η una constante denominada viscosidad de deformación infinita.

En el caso de fluidos que obedecen el modelo de la ley de la potencia y de Herschel - Bulkley, el efecto de la temperatura puede correlacionarse mediante un modelo combinado de la ecuación de Arrhenius para el índice de consistencia:

$$\tau = K \exp (E_a / RT) \dot{\gamma}^n \quad (15)$$

Esta ecuación ha sido utilizada en concentrados de tomate; cremogenado de pera, puré de guayaba y concentrados de frambuesa.

En líneas generales puede decirse que la viscosidad disminuye al aumentar la temperatura, y lo mismo ocurre con el índice de consistencia y el umbral de fluencia, al estudiar el comportamiento reológico de zumos concentrados de kiwi (55,7 y 63 °Brix), establecen una relación de tipo lineal entre el índice de consistencia y la temperatura, que se concreta en la siguiente expresión:

$$\tau_0 = a - bT \quad (16)$$

Donde τ_0 es el umbral de fluencia, a y b son constantes y T es la temperatura en Kelvin.

La variación de la temperatura no suele afectar al índice de comportamiento al flujo aunque algunos autores afirman que aumenta con la temperatura.

2.6. Efecto de la concentración

Se han descrito dos tipos de correlaciones o modelos matemáticos para considerar el efecto de la concentración en la viscosidad, una, según un modelo potencial:

$$\eta = K_1 C^{A_1} \quad (17)$$

Y otra según un modelo exponencial:

$$\eta = K_2 \exp(A_2 C) \quad (18)$$

En estas ecuaciones K_1 , K_2 , A_1 y A_2 son constantes y C es el contenido en sólidos solubles del fluido expresado en °Brix. Estas ecuaciones también son válidas para estudiar el efecto de la concentración en el índice de consistencia.

El modelo potencial da resultados satisfactorios en purés de frutas y hortalizas altamente viscosos. Sin embargo, los mismos autores encontraron que para zumos de fruta concentrados el modelo exponencial proporcionaba mejores ajustes. Esto último ha sido confirmado por otros autores que han estudiado la reología de zumos clarificados de diversas frutas.

Normalmente, un aumento de la concentración comporta un incremento de la viscosidad o del índice de consistencia. También puede afectar a otros parámetros como el umbral de fluencia, que si bien tiende a aumentar con la concentración a veces se ha descrito el efecto contrario. Por lo que respecta al índice de comportamiento al flujo, un aumento de la concentración o bien no le afecta o bien hace que disminuya.

2.7. Medidas en reología

Basándose en la clasificación de los instrumentos para el estudio de la textura hecha por Scott-Blair (1958), clasificó los instrumentos para el estudio de las propiedades de flujo de los alimentos en tres categorías según métodos en los que se utilizan:

- **Métodos fundamentales:** Miden propiedades físicas bien definidas utilizando geometrías que son fáciles de analizar matemáticamente. Este punto se desarrolla en el siguiente apartado.
- **Métodos empíricos:** Aunque los parámetros medidos por estos métodos no están claramente definidos, la experiencia ha demostrado que son útiles. Algunos instrumentos como los consistómetros Adams y Bostwick, y el viscosímetro de flujo de tubo, han sido utilizados para caracterizar

cremogenados de frutas y vegetales, papillas infantiles (*baby foods*), y alimentos de tipo puré. Los métodos empíricos se usan en el control de calidad de estos productos y en estudios relacionados con los efectos de los cambios de las condiciones de procesado en la consistencia de los purés. También se incluirían en este grupo los viscosímetros rotacionales que utilizan geometrías de difícil análisis matemático, como husos con agujas o aletas, con las cuales se obtiene, para fluidos no newtonianos, una magnitud de viscosidad aparente en unidades arbitrarias.

- **Métodos imitativos:** Estos aparatos miden las propiedades en condiciones que simulan las que se dan en la práctica. Estos aparatos son utilizados principalmente en alimentos sólidos.

En algunos casos no es posible determinar las propiedades reológicas de los alimentos, dado que los factores son numerosos y complejos.

Las Zanahorias, el maní o porotos (por ejemplo) no son homogéneos, materiales noisotrópicos (no tiene las mismas propiedades en todas las direcciones) con geometrías complejas.

2.8. Métodos fundamentales

Varios instrumentos se han empleado para medir las propiedades de flujo mediante métodos fundamentales. Éstos pueden ser clasificados en función de la geometría específica empleada: capilar, cilindros concéntricos, plato y cono y platos paralelos.

Para todas la geometrías se deben cumplir tres requisitos: que el fluido tenga flujo laminar, que la operación sea isoterma y que no exista deslizamiento en la interfase sólido - fluido.

▪ Viscosímetros capilares

Se basa en el hecho de que cuando un fluido fluye a través de un tubo forma un gradiente de velocidad y se induce un cizallamiento.

El fluido puede fluir por acción de la gravedad o por efecto de una presión dada. Si se conocen el caudal volumétrico, las dimensiones del tubo y la presión aplicada se pueden construir las curvas de fluidez y calcular los valores aparentes de la viscosidad.

Estos aparatos han sido utilizados por algunos autores para estudiar las propiedades reológicas de algunos zumos y purés de fruta.

▪ Viscosímetros Plato-Cono y Plato-Plato

Es un tipo de viscosímetro rotacional que consta que un plato circular plano y de un cono (plato-cono) u otro plato plano (plato-plato o platos paralelos). El ángulo del cono es de 3° o menor para evitar distorsiones en los resultados debido al efecto borde.

Las ecuaciones que permiten calcular la velocidad de deformación y el esfuerzo cortante han sido deducidas por Brodkey (1967) para el caso de plato-cono y por Walters (1975) para platos paralelos.

▪ Viscosímetro de cilindros concéntricos

Consta de un vaso de medición cilíndrico (de radio R_a) que contiene en su interior un cilindro (de radio R_i) de forma que el fluido queda atrapado en la corona anular que dejan el vaso y el cilindro interior. Durante la operación de medida, el cilindro interior o el vaso giran a una velocidad constante, mientras el otro permanece fijo.

En estas condiciones el par transmitido por el elemento móvil hacia el fijo, a través del fluido, será constante. Para poder obtener las ecuaciones fundamentales con este tipo de viscosímetros, además de los requisitos mencionados anteriormente, deben hacerse una serie de suposiciones adicionales:

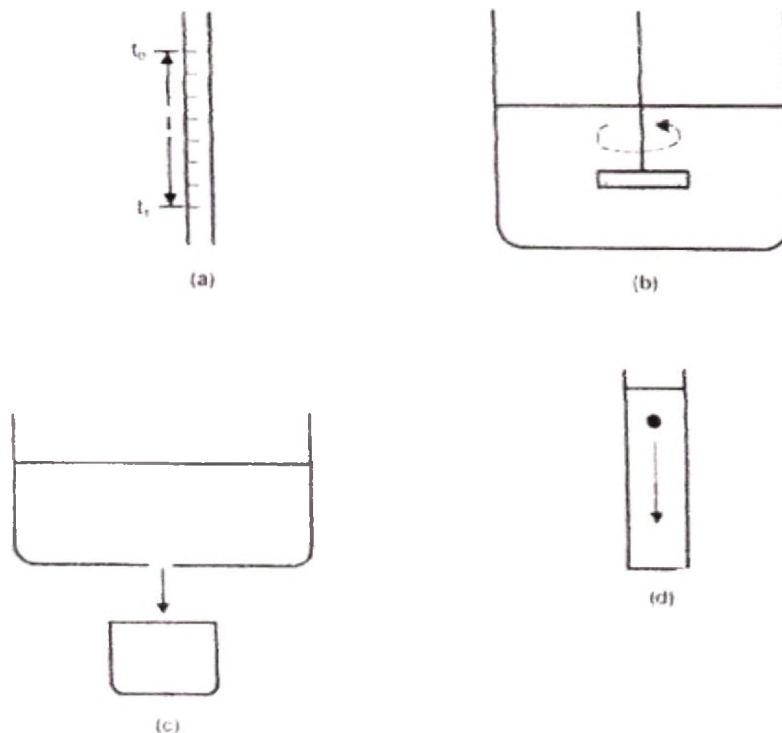
- El flujo es estacionario.
- No existen componentes radiales ni axiales de la velocidad.
- No existe distorsión del campo de flujo por el efecto borde de los cilindros.

Si es el vaso de medición el que gira, permaneciendo el cilindro interior fijo, se denomina sistema Couette, mientras que si es al revés, es decir, el cilindro interior gira y el vaso permanece fijo se denomina sistema Searle. La transición de flujo laminar a turbulento ocurre a velocidades de giro más elevadas en el sistema Couette que en el Searle.

Si la corona anular es estrecha se imposibilita el estudio de alimentos que contienen partículas sólidas grandes como es el caso de los purés y pulpas de fruta.”⁷

Mostramos a continuación el gráfico descriptivo del funcionamiento de los sistemas de medición anteriormente mencionados:

⁷ (Ref. Fenómenos de Transporte, 1975)



Principio de funcionamiento de viscosímetros más comunes: (a) de capilar (vg. Ostwald); (b) de cilindro rotatorio (vg. Brookfield); (c) de vaciado, y (d) de esfera descendente.

2.9. Métodos Empíricos

La obtención de medidas reológicas a través de estos equipos es muy común por motivos de economía en los equipos y facilidad de toma de medida y aunque no son utilizados para determinar las propiedades reológicas fundamentales, sus resultados pueden encontrar diversas aplicaciones, entre ellas:

- Control de calidad
- Correlación con datos sensoriales
- Estándares oficiales de identificación

Estos equipos se clasifican en:

- Equipos para pruebas de masas

Se entiende por masa a la mezcla de harina de cereal (usualmente trigo), combinado con agua, levadura, sal y otros ingredientes; es probablemente el material más complejo de la reología de alimentos. Los siguientes equipos evalúan su comportamiento:

Farinógrafo: Este equipo combina los ingredientes de la masa usando dos aspas en forma de Z que rotan, a diferentes velocidades, en direcciones opuestas.

La mezcla inicial se hace con harina seca y el agua es adicionada con una bureta. Un dinamómetro registra el torque en las aspas. La respuesta es un farinograma, un gráfico de un parámetro del instrumento proporcional al torque, expresado en Unidades Brabender (UB) versus el tiempo. La forma del farinograma es interpretado en términos de factores relacionados con la calidad de la harina y el comportamiento de la masa en el horneado. Un factor importante es la cantidad de agua requerida para lograr una consistencia de 500 Ub a 14% de contenido de humedad (en base seca), conocido como absorción de agua. (Ver Fig.)

FARINOGRAMA
BRABENDER



Mixógrafo: Es la alternativa del farinógrafo que involucra una rotación planetaria de clavijas verticales alrededor de clavijas verticales estacionarias fijas en el bolo de mezcla. Los resultados se interpretan de la misma forma que el farinograma.

Extensógrafo: Generalmente se realiza la prueba con la masa preparada en el farinógrafo. Un equipo moldeador especial moldea la masa dentro de un cilindro el que es puesto horizontalmente dentro del sistema de soporte. Los extremos son afirmados firmemente en el lugar de partida, la sección del medio está libre en la prueba. Un gancho es conectado a la mitad de la muestra y se estira mientras se mueva hacia abajo a una velocidad constante. Se grafica la fuerza versus el tiempo y extensión (extensograma). Se puede determinar el efecto de agentes oxidantes y enzimas en el comportamiento de la masa.

Alveógrafo: También llamado extensógrafo de Chopin, mide el comportamiento de la masa cuando es sometida a una deformación extensional. Se infla una lámina de masa en forma de disco circular. Se registra la presión del aire versus el tiempo en un alveograma. La máxima altura en conjunto con la longitud de la curva y el área, son los principales parámetros.

Entre lo métodos que se utilizan para medir las propiedades reológicas en alimentos de concentrados de frutas y jugos tenemos:

▪ Consistómetro de Bostwick

Sirve para la verificación de la consistencia, viscosidad y rango de fluidez en productos de producción en cadena estandarizada. Lo estudiaremos un poco más a profundidad puesto que es el método que se utilizará para caracterizar reológicamente a nuestro producto.

El Consistómetro de Bostwick es de bajo costo, durable y de simple manejo, usado industrialmente para evaluar los parámetros antes mencionados.

Este provee un simple parámetro para una variedad de pruebas de fluidez que puedan ser aproximadas en condiciones idénticas dentro de lo posible, en los periodos que sean necesarios.

El Consistómetro está manufacturado de acero inoxidable con una escala grabada en una serie precisa de intervalos de 0,5cm en su superficie de desplazamiento para la muestra.

La muestra está inicialmente retenida en un reservorio detrás de una compuerta que se dispara al comenzar la medición.

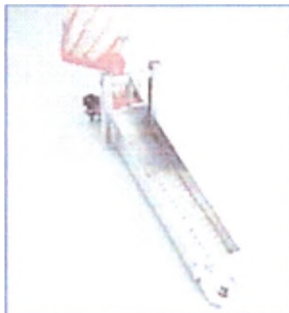
Consistometer

- ▶ Verify the consistency, viscosity, and flow rates of fluids
- ▶ Meets military specification R-81294B for paint manufacturing



Determine the
consistency and flow
rate of viscous materials

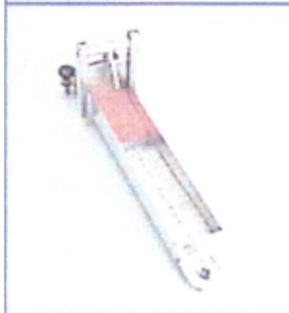
El método de uso es el siguiente:



Una muestra de exactamente 75ml es dispuesta en el reservorio del aparato, con la compuerta cerrada.



La compuerta es disparada hacia arriba por acción de liberación del gatillo de sujeción y el tiempo se comienza a contabilizar en un cronómetro de precisión.



La muestra comienza a deslizarse por la superficie graduada, y por comparación de rangos de flujo con periodos de tiempo específicos, las propiedades físicas de la muestra pueden ser calculadas. Para asegurar la reproductibilidad precisa del instrumento, este se puede nivelar mediante tornillos en su base y un nivelador de burbuja.

▪ **Consistometro Adams**

Entrega una medida del flujo, debida a gravedad, sobre una placa horizontal hecha de vidrio, metal o acero. La placa tiene una serie de cilindros concéntricos, cada $\frac{1}{4}$ de pulgada. Un cono truncado es puesto en el centro y cargado con la muestra, el que se levanta. Luego de 10 o 30 s se mide la distancia recorrida en pulgadas (Consistencia Adams).

▪ **Viscómetro Zhan**

Consiste en una pequeña copa con un orificio en el fondo. La copa se llena con la muestra permitiendo la descarga por el orificio. Se mide el tiempo de descarga y se correlaciona con la viscosidad.

- **Penetrómetro de Cono**

Se relaciona con la medida del esparcimiento (untabilidad). El instrumento consiste en un cono vertical que es puesto sobre una superficie plana. Ángulos de 20 o 45° son típicos. El cono es liberado dentro de la muestra y la profundidad de la penetración es medida, en un intervalo de tiempo fijo.

Tenemos finalmente otros equipos que también sirven para medir estas propiedades, solo los enunciaremos:

- Visco – amilografo
- Discos rotatorios Brookfield
- Viscosímetro de bola que cae
- Viscosímetro Hoeppler
- Consistometro Brabender
- Celula de extrusión-compresión
- Compresión simple.

Capítulo III

“Principales Mecanismos de Deterioro en Cremogenados”

“Principales Mecanismos de Deterioro en Cremogenados”

3.1. Principales Mecanismos de Deterioro en Cremogenados

Las principales alteraciones o modificaciones indeseables que se producen en zumos y derivados de fruta afectan a cambios en la textura, como ablandamientos, insolubilizaciones o pérdidas de capacidad de retención de agua; en el sabor, con desarrollo de sabores a acaramelado, rancidez u otros sabores extraños; en el color, por oscurecimientos o decoloraciones; y en el valor nutritivo por pérdida o degradación de vitaminas, proteínas y minerales.

Las principales causas de estas alteraciones son debidas a los microorganismos y a las reacciones químicas y bioquímicas.

Los distintos procesos bioquímicos son catalizados por un gran número de enzimas, los cuales deben ser inactivados para que el alimento no pierda sus propiedades organolépticas originales. Sin embargo, se pueden dar casos en los que la actividad bioquímica quede inactiva pero que la acción microbiana persista y provoque alteraciones posteriores.

En el aspecto microbiano las principales alteraciones que tienen lugar en derivados de fruta son las debidas a fermentaciones que son causadas en su mayoría por levaduras, aunque también algunas bacterias y mohos pueden originar modificaciones no deseadas en estos productos.

Dentro de las alteraciones químicas o bioquímicas en alimentos, hay numerosos mecanismos o reacciones capaces de ocasionar estas alteraciones, pero en los derivados de frutas, son quizás, las de pardeamiento no enzimático, las que más importancia tienen a este respecto.

Estas reacciones producen modificaciones en el color durante el proceso de extracción y elaboración, pero también pueden producirse durante la conservación y almacenamiento de los zumos y cremogenados.

Esta evolución del color en los alimentos se produce principalmente por:

- Por reacciones de Maillard, un complejo grupo de reacciones que dan como resultado la formación de compuestos pardos denominados melanoidinas.
- La degradación del ácido ascórbico.
- Reacciones de caramelización.

Durante la fabricación, el almacenamiento, etc., muchos alimentos desarrollan una coloración que en ciertos casos mejora sus propiedades sensoriales, mientras que en otros las deteriora; la complejidad química de los alimentos hace que se propicien diversas transformaciones que son las que provocan estos cambios. En algunos casos los pigmentos naturales (entre ellos, mioglobina, clorofila, antocianinas, etc.) se pierden, y en otros la oxidación de las grasas y las interacciones de taninos con el hierro general compuestos coloreados que no están presentes en el producto original.

Sin embargo, existe otro grupo de mecanismos muy importantes llamado de oscurecimiento, encafecimiento o empardeamiento, que sintetizan compuestos de colores que van desde un ligero amarillo hasta el café oscuro; en términos generales y para agruparlos, éstos se han clasificado como reacciones enzimáticas y no enzimáticas. En los primeros sólo se incluye la reacción catalizada por la polifenol oxidasa que se estudia en el capítulo correspondiente a enzimas; y en las segundas se incluye la caramelización, la reacción de Maillard y la degradación del ácido ascórbico.

Cabe indicar que la efectuada enzimáticamente y la del ácido, ascórbico son las únicas transformaciones que tienen naturaleza oxidativa, por lo que la presencia del oxígeno es necesaria para que se lleven a cabo.

En el próximo capítulo se estudiarán los mecanismos de oscurecimiento en los que intervienen azúcares reductores: la caramelización y la reacción de Maillard.

Debido a la gran complejidad de ambas reacciones, todavía quedan muchos aspectos que no se conocen bien y que requieren de más investigación.

El comportamiento de los azúcares varía considerablemente con el pH, la temperatura, la presencia de otras sustancias, etc., por lo que pueden seguir diversas rutas químicas dependiendo de la composición del alimento. Para entender mejor estos cambios, en muchos casos se emplean sistemas modelo de laboratorio con un estricto control sobre los parámetros que más influyen; en estas circunstancias resulta muy difícil comprender todo lo que ocurre en el matraz, y más aún extrapolar esta información a un alimento que contiene un gran número de sustancias desconocidas y capaces de reaccionar. Hay que recordar que el pH la concentración, la actividad acuosa, etc., pueden ser incluso diferentes dentro del propio producto, y por lo tanto el panorama del mecanismo se vuelve más complejo.

Estos cambios son de fundamental importancia, ya que no sólo se genera un color ligero amarillo (como la costra de algunos productos de la panificación), o café oscuro (los caramelos usados para colorear bebidas), sino que también se sintetiza una gama muy amplia de sustancias que contribuyen al sabor y al aroma, además de

que se altera la calidad nutritiva y la apariencia del alimento. Estos cambios no son siempre dañinos en muchos casos.

En otros, como en los del café, el cacao y el pan, son deseables debido a que provocan el pardeamiento y el aroma requeridos.

<i>Mecanismo</i>	<i>O₂ necesario</i>	<i>Grupos amino necesarios</i>	<i>Temp. elevada</i>	<i>pH óptimo</i>	<i>Azúcares reductores</i>
Caramelización	no	no	sí	alcalino/ácido	sí
Maillard	no	sí	no	alcalino	sí
Oxidación	sí	no	no	ligeramente ácido	no
Polifenol oxidasa	sí	no	no	ligeramente ácido	no

Para seguir la evolución del color provocada por el pardeamiento no enzimático en zumos y cremogenados de frutas se han ensayado diversos métodos, pero dada la complejidad de estas reacciones, es difícil establecer un mecanismo de reacción preciso que las describa en su globalidad.

En consecuencia, las metodologías utilizadas abordan su estudio desde distintos enfoques (evolución del color, formación o degradación de compuestos) intentando describir la fenomenología observada mediante el seguimiento de distintos parámetros modelizables en expresiones matemáticas sencillas y de fácil determinación como son la absorbancia, la luminosidad y diferencia de color, e incluso se han definido nuevos índices que explique estas modificaciones del color.

Pero es, quizás, el contenido en HMF el índice más ampliamente utilizado en el estudio de los pardeamientos no enzimáticos en zumos y cremogenados, y es considerado como una medida de la intensidad del tratamiento térmico al que han sido sometidos los zumos, el cual se origina por distintas vías, una de ellas es la deshidratación de las hexosas en medio ácido y otra a través de las reacciones de Maillard.

3.2. Microflora en derivados de fruta

Todos los vegetales poseen en su superficie una microflora, más o menos característica, que depende mucho del tipo de planta, clima, ubicación, fase de desarrollo y en las frutas, sobre todo, del grado de maduración. La flora superficial tiene un gran interés durante el almacenamiento y procesado de las frutas.

“Estudios acerca de la carga microbiana inicial en frutas y hortalizas realizados en época de recolección demuestran que los recuentos promedios de levaduras están comprendidos entre más de 103pfc/g (o cm²) de tejido.

Aunque en la mayor parte de los casos la contaminación es externa, también se han aislado microorganismos del interior (huesos y pepitas) de los frutos.

La materia prima utilizada en la elaboración de zumos y cremogenados de frutas contiene muchos géneros y especies de microorganismos, incluidos bacterias, mohos y levaduras, sin embargo, de acuerdo con su composición química, los zumos, cremogenados y pulpas de fruta, poseen una serie de especies microbianas para las que presentan buenas condiciones de crecimiento y desarrollo, mientras que para otras constituyen un mal sustrato. Además de las condiciones nutritivas, el pH juega un papel primordial como factor seleccionador y como retardante o inhibidor del crecimiento microbiano.

De las frutas frescas y sus zumos se han aislado numerosos géneros de bacterias. Las principales especies pertenecen a los grupos de las bacterias lácticas (géneros *Leuconostoc* y *Lactobacillus*), acéticas (géneros *Gluconobacter* y *Acetobacter*) y algunas bacterias esporuladas del género *Bacillus*; al estudiarse la microflora bacteriana presente en zumos y néctares de frutas se observó que las cepas aisladas pertenecían a los géneros *Lactobacillus*, *Gluconobacter* y *Bacillus* con una distribución del 55,42 %, 10,28 % y 34,28 % respectivamente.”⁸

Las especies de levaduras que se pueden encontrar en los derivados de frutas dependen del tipo de fruta. A continuación se relacionan algunas de las levaduras más frecuentes en los distintos tipos de frutas y sus derivados más importantes:

- Las manzanas enteras y sus zumos recién exprimidos contienen fundamentalmente levaduras asporógenas como especies de *Candida*, *Torulopsis*, *Rhodotorula*, *Brettanomyces* y *Cryptococcus*.
- Los jugos de manzana fermentados contienen principalmente levaduras esporógenas de los géneros *Saccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces* y *Saccharomycopsis*.
- Las uvas y los zumos de uva se encuentran contaminados principalmente por levaduras esporógenas como *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Pichia*, *Torulasporea*, y *Debaryomyces*. También se encuentran presentes especies asporógenas como *Kloeckera apiculata* que

⁸ (Ref. James M. Jay, Microbiología Moderna de los Alimentos, Pág. 55-66, 1973)

junto con *Saccharomyces cerevisiae* comprenden alrededor del 80 % de las levaduras totales en uvas y otra frutas.

- Los jugos de cítricos se contaminan fundamentalmente con *Candida*, *Zygosaccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Saccharomyces* y *Pichia*.
- En conservas de frutos tropicales se han aislado levaduras de los géneros *Schizosaccharomyces* y *Zygosaccharomyces* (Bhajekar y Kulkarni, 1991).
- En general, las especies que han sido aisladas con mayor frecuencia de frutas y sus derivados han sido *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida tropicales*.

3.3. Microflora alterante de los derivados de fruta

Los zumos, cremogenados y derivados de fruta en general constituyen ecosistemas relativamente únicos, dada la particular combinación de sus propiedades físicas y químicas, dentro de las cuales destacan, además del pH y la acidez, la actividad de agua y la presencia de sustancias antimicrobianas naturales como aceites esenciales, ácido benzoico o ácido sórbico.

Aunque algunos zumos podrían llegar a constituir un buen medio de cultivo para algunas bacterias acidolácticas, como *Lactobacillus* y *Leuconostoc*, la mayor parte de las bacterias son incapaces de crecer a los niveles de pH que presentan los derivados de frutas, ya que prefieren un pH neutro para su desarrollo.

Contrariamente, las levaduras y mohos pueden crecer y desarrollarse en estas condiciones, de ahí que la mayor parte de las alteraciones microbianas que tienen lugar en zumos y derivados de frutas sean debidas a las levaduras, más del 90 % y buena parte del resto a mohos.

En cuanto a la presencia de patógenos en los productos a base de frutas, es preciso decir que son productos de bajo riesgo sanitario debido fundamentalmente a que el bajo valor de su pH limita el crecimiento de este tipo de microorganismos.

3.3.1. Alteraciones bacterianas

Las bacterias responsables del deterioro de los alimentos ácidos (pH < 4,5) son todas gram-positivas. Entre las bacterias causantes de alteración en zumos y cremogenados, sólo las lácticas y las acéticas merecen ser consideradas, ya que, como ya se ha señalado anteriormente, debido a las condiciones de pH y acidez que presentan estos productos, rara vez son

capaces de desarrollarse otras especies bacterianas. Pero enumeraremos la clasificación por el tipo de sustrato o producto que las caracteriza:

“ 1. **Bacterias lácticas o productoras de ácido láctico.** Este grupo, el más importante, comprende las *Lactobaciláceas*, que originan ácido láctico como producto más importante de la fermentación de azúcares.

Los miembros de esta familia que se subdividen en cocos y bacilos y en homofermentativos, que producen a partir de los azúcares principalmente ácido láctico y pequeñas cantidades de productos volátiles tales como ácido acético y dióxido de carbono, y heterofermentativos, que además de ácido láctico producen cantidades abundantes de ácido acético, alcohol y dióxido de carbono.

Se dividen asimismo en especies que crecen a altas temperaturas, 37° C, y especies que crecen a temperaturas bajas cuya temperatura óptima está alrededor de los 30° C.

A veces también se hacen dos grupos de bacterias lácticas, según sean capaces o no de fermentar la lactosa, pero la separación entre ambos grupos no es suficientemente clara como para hacer esta división útil.

Generalmente los más importantes pertenecen a los géneros *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* y *Microbacterium*.

2. **Bacterias acéticas o productoras de ácido acético.** Las bacterias que forman ácido acético como producto principal, generalmente oxidando el alcohol etílico pertenecen normalmente a los géneros *Acetobacter* y *Acetomonas*.

3. **Bacterias butíricas o productoras de ácido butírico.** La mayoría son anaerobias esporuladas del género *Clostridium*.

4. **Bacterias propiónicas o formadoras de ácido propiónico.** La mayor parte son del género *Propionibacterium*, si bien se ha señalado que algunos cocos poseen esta propiedad.

5. **Bacterias proteolíticas.** Constituyen un grupo heterogéneo de bacterias fuertemente proteolíticas que forman proteinasas extracelulares, así llamadas porque se difunden fuera de las células.

6. **Bacterias lipolíticas.** Es un grupo heterogéneo formado por bacterias que producen lipasa, fermento que cataliza la hidrólisis de las grasas a glicerina y ácidos grasos. Muchas de las bacterias aerobias fuertemente proteolíticas son a la vez lipolíticas. *Pseudomonas fluorescens*, por ejemplo, es fuertemente lipolítica. *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Serratia* y *Micrococcus* son géneros que poseen especies lipolíticas.

7. **Bacterias sacarolíticas.** Son bacterias que hidrolizan los disacáridos o polisacáridos a carbohidratos más sencillos. Un número limitado de bacterias son amilolíticas, es decir, elaboran amilasa que determina la hidrólisis extracelular del almidón. Entre ellas se encuentran *Bacillus subtilis* y *Clostridium butyricum*.

8. **Bacterias pectolíticas.** Las pectinas son carbohidratos complejos existentes en hortalizas y frutas. La mezcla de enzimas pectolíticas llamada pectinasa puede ser responsable del ablandamiento de los tejidos vegetales o de la pérdida de las propiedades gelificantes de los zumos de frutas. Son pectolíticas ciertas especies de *Erwinia*, *Bacillus* y *Clostridium*, así como algunos hongos.

9. Bacterias intestinales. Las bacterias coliformes, así como los enterococos, ya estudiados, se emplean como indicadores de la contaminación de los alimentos con productos fecales. También se han empleado pruebas en las que se detectan clostridios. Las bacterias intestinales también pueden causar alteración de los alimentos.

10. Bacterias termófilas. Estas bacterias, cuya temperatura óptima está por encima de los 45° C, normalmente alrededor de los 55° C, son importantes en los alimentos mantenidos a altas temperaturas. Como ejemplos pueden citarse *Clostridium thermosaccharolyticum*, que determina una alteración gaseosa de los alimentos, y algunas especies de *Bacillus*, responsables de la fermentación ácida de las conservas enlatadas. *Lactobacillus thermophilus* es una bacteria láctica termófila obligada.

11. Bacterias psicrófilas. Estos gérmenes, que crecen a temperaturas muy próximas a las de congelación, son importantes en los alimentos refrigerados. Generalmente pertenecen a los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* y *Alcaligenes* si bien los géneros *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Aerobacter*, *Arthrobacter* y otros contienen también especies psicrófilas.

12. Bacterias halófilas. Las verdaderas bacterias *halófilas* requieren para su crecimiento cierta concentración mínima de cloruro sódico en disolución. La necesidad de sal para un crecimiento óptimo es menor para las *halófilas moderadas* (5-20 %) que para las *halófilas extremas* (20-30 %). Hay bacterias ligeramente halófilas, pues pueden crecer en medios con un 2 a 5 % de sal.

Otras bacterias son *sal-tolerantes*, esto es, pueden crecer en presencia o en ausencia de sal. Las bacterias halófilas y sal-tolerantes pueden ser de importancia en alimentos muy salados y en salmueras de cloruro sódico.

Dichas bacterias pertenecen a los géneros *Halobacterium*, *Sarcina*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Pediococcus* y *Achromobacter*.

13. Bacterias osmófilas o sacarófilas. En sentido estricto, las bacterias *osmófilas* serían aquellas cuyo crecimiento óptimo tuviera lugar en concentraciones altas de azúcar; sin embargo, la mayoría de las así llamadas son meramente *azúcar-tolerantes*, como algunas especies de *Leuconostoc*.

14. Bacterias de las intoxicaciones e infecciones alimenticias. Las bacterias productoras de intoxicaciones alimenticias comprenden géneros productores de enterotoxinas, como *Staphylococcus aureus* (*Micrococcus pyogenes* var. *aureus*) y *Clostridium botulinum*.

Las infecciones alimenticias son ocasionadas por bacterias tales como ciertas especies de *Salmonella* y *Streptococcus* que crecen en los alimentos, infectando así a quien los consume.

15. Bacterias pigmentadas. Los colores producidos por las bacterias pigmentadas que crecen en los alimentos comprenden todos los del espectro visible, así como negro y blanco.

Todas las especies de ciertos géneros son pigmentadas, como *Flavobacterium* (amarillo a naranja) y *Serratia* (rojo). Se encuentran especies pigmentadas en multitud de géneros: muchas especies de *Micrococcus*, por ejemplo, son pigmentadas.

16. Bacterias formadoras de mucílago o viscosidad. Ya se han citado ejemplos de este tipo de bacterias: *Alcaligenes viscolactis* (*viscosus*) y *Aerobacter aerogenes* que determinan la alteración viscosa de la leche, especies de *Leuconostoc* que originan

mucosidad en las soluciones de sacarosa y el crecimiento mucoso superficial de ciertas bacterias presentes en los alimentos.

Hay cepas de *Lactobacillus Plantarum*, y de otros bacilos, que pueden causar viscosidad en varios productos derivados de frutas, hortalizas y cereales, por ejemplo, en la sidra, "sauerkraut" y cerveza. Además, determinadas especies de bacterias pertenecientes a géneros de los que ya se ha hablado, pueden causar viscosidad o mucosidad.

17. Bacterias productoras de gas. Muchas bacterias producen tan escasa cantidad de gas y tan lentamente que muchas veces no es detectable.

Tal ocurre con las bacterias lácticas heterofermentativas, si bien en ciertas condiciones la producción de gas se hace evidente.

Entre los géneros que contienen bacterias productoras de gas se encuentran *Leuconostoc*, *Lactobacillus* (heterofermentativos), *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Aerobacter*, *Proteus*, *Bacillus* (los acrobacilos) y *Clostridium*.⁹

Las bacterias productoras de ácido láctico figuran entre las más alterantes de zumos de fruta, siendo las especies de *Lactobacillus* y *Leuconostoc* las que más frecuentemente han sido aisladas de zumos alterados. Entre los lactobacilos aislados predominan los heterofermentativos, es decir que, además de ácidos orgánicos, producen alcohol etílico y CO₂ a partir del azúcar. El crecimiento de este tipo de bacterias en productos derivados de frutas se ve favorecido por su capacidad para desarrollarse en condiciones de anaerobiosis, por su tolerancia a la acidez (algunas especies pueden crecer a un pH de 3,0-3,5 y la mayoría pueden hacerlo a pH de 3,5) y por su capacidad de crecer a las temperaturas que se utilizan en el almacenamiento de zumos y cremogenados.

Las especies de *Gluconobacter* también pueden ser causantes de alteraciones, dada su capacidad para crecer a pH relativamente bajos, pero estos microorganismos son estrictamente aerobios por lo que sólo se multiplicaran adecuadamente cuando esté asegurado un buen aporte de oxígeno. Los productos alterados por este tipo de bacterias son ricos en ácido láctico, acético o glucónico, presentando generalmente un aspecto turbio y, algunas veces, burbujas de gas visibles.

Las bacterias alterantes son relativamente sensibles al tratamiento térmico y son destruidas por las técnicas corrientes de pasteurización. Por el contrario, las formas esporuladas son muy termorresistentes, aunque la germinación de las esporas se ve inhibida por los valores de pH bajos.

⁹ (Ref. W.C. Franzier, Microbiología de los Alimentos, Pág. 37)



3.3.2. Alteraciones causadas por mohos

Los mohos son, generalmente, muy tolerantes a condiciones de acidez elevada, y son capaces de crecer con una reducida actividad acuosa, pero esta capacidad varía enormemente entre los géneros e incluso entre las distintas especies de un mismo género. Son capaces de crecer en condiciones nutritivas difíciles, pero estos microorganismos, con muy pocas excepciones, son estrictamente aerobios, por lo que su desarrollo se encuentra muy limitado en las condiciones de bajo contenido de oxígeno que presentan la mayoría de los derivados de fruta.

“ A continuación presentamos una clasificación de los 16 géneros más comunes de mohos más alterantes en las frutas y verduras:

1. **Alternaria.** Estos mohos presentan el micelio tabicado con conidióforas y conidias oscuras. Las conidias son de forma variada y tienen septos transversales y longitudinales. Deterioran activamente productos vegetales (fig. 1 - A).

2. **Aspergillus.** Estos mohos producen conidióforas enhiestas que terminan en una protuberancia globosa o mazuda. Las conidias son esféricas, están formadas por una sola célula y, en conjunto, presentan distintos colores. Estos mohos crecen sobre muchos alimentos determinando coloraciones amarillentas, verdosas u oscuras. Presentan micelio tabicado. Ciertas especies de este género producen aflatoxinas carcinogénicas, mientras otras se emplean como elaboradoras de proteasas y ácido cítrico. Se encuentran ampliamente distribuidas y se pueden hallar en pasteles, frutas, hortalizas, carnes y otros alimentos (fig. 1 - B).

3. **Botrytis.** Estos organismos producen conidióforas largas, delgadas y frecuentemente pigmentadas. El micelio es tabicado y las conidias se disponen en posición apical. Las conidias son unicelulares y en conjunto de color grisáceo. Con frecuencia producen esclerocios irregulares de color negro. Pueden causar un «enmohecimiento gris» en plantas y vegetales, comestibles. Determinan importantes enfermedades o alteraciones comerciales en frutas y verduras. *B. cinerea* presenta conidias y conidióforas como puede observarse en la figura 1 - C.

4. **Cephalosporium.** Estos mohos tienen el micelio tabicado y con conidióforas simples delgadas o engrosadas. Las microsporas de ciertas especies de *Fusarium* son, en muchos aspectos, similares a éstas. En la figura 1 - D se representan las estructuras de *Cephalosporium sp.*

5. **Cladosporium.** Este género se caracteriza por la presentación de un micelio tabicado con conidióforos oscuros que se ramifican varias veces cerca del vértice. Las conidias son también oscuras, con 1 ó 2 células y a veces tienen forma de limón. El *C. herbarum* es una especie que produce manchas negras en la carne de vaca (fig. 1 - E).

6. **Fusarium.** Estos mohos producen un extenso micelio, que en los cultivos aparece algodonoso con tonalidades rosas, púrpuras o amarillas. Las conidias tienen forma de «caneo», pudiendo encontrarse aisladas o formando cadenas. Estos hongos tienen

importancia en el deterioro de muchas frutas y verduras. Se encuentran asociados con la alteración de los plátanos denominada «manchas del pedúnculo» (fig. 1 - F).

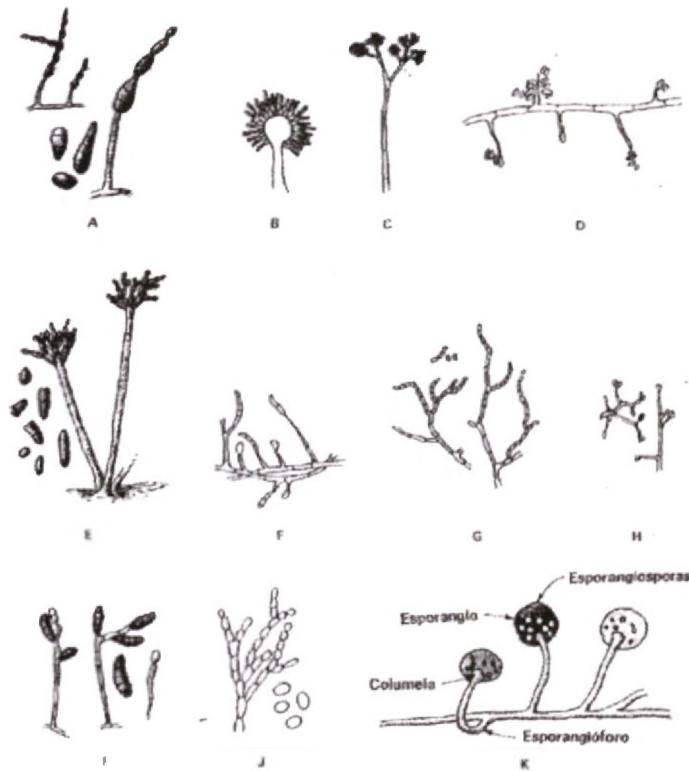


Fig. 1. Géneros de mohos más frecuentemente transmitidos por alimentos.

7. **Geotrichum (Oidium).** Son hongos parecidos a las levaduras, que presentan diversos colores, de los que el más frecuente es el blanco. El micelio es tabicado y la reproducción tiene lugar por fragmentación del micelio en artrosporas. En algunas ocasiones a estos organismos se les ha denominado «mohos de lechería», ya que son responsables del aroma y sabor de muchos tipos de quesos. *G. albidum* se representa esquemáticamente en la figura 1 - G.

8. **Gloesporium.** Estos mohos presentan conidióforos sencillos y de longitud variables. Las conidias son hialinas, unicelulares y a veces curvadas. En las plantas producen antracnosis. *G. fructigenum* corresponde a la figura 1 - H.

9. **Helminthosporium.** Estos mohos presentan, en los cultivos, un micelio delicado y oscuro. Los conidióforos pueden ser cortos o largos, tabicados, sencillos o ramificados. Las conidias nacen unas detrás de otras sobre los nuevos brotes que van creciendo en el micelio; son oscuras y casi siempre contienen más de 3 células. En este género existen especies saprófitas y patógenas para las plantas. *H. sativum* se representa en la figura 1 - I.

10. **Monilia.** Estos mohos tienen un micelio blanco o gris del que nacen conidióforos ramificados. En conjunto, las conidias son de color rosa o canela. Ciertas especies constituyen estados imperfectos de *Neurospora*. Otras, cuyos estados perfectos son

Monilinia o *Sclerotinia* spp., producen manchas oscuras en frutas. *N. sitophila* se denomina frecuentemente «moho rojo del pan». En la figura 1 - J aparece *M. americana*.

11. Mucor. Estos mohos presentan un micelio no septado, a partir del cual se elevan los conidióforos, naciendo de estos últimos la columela y el esporangio. Las esporas son pequeñas, regulares y se forman dentro del esporangio. Se pueden encontrar proliferando sobre un gran número de alimentos (fig. 1 - K).

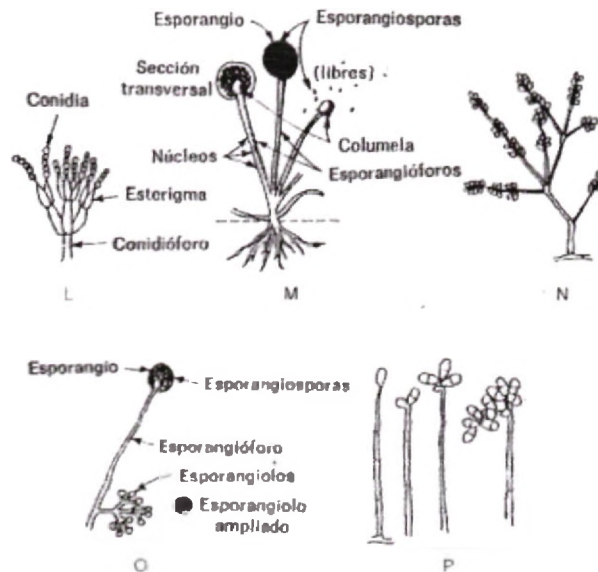


Fig. 2. Géneros de mohos más frecuentemente transmitidos por alimentos.

12. Penicilium. Estos organismos tienen el micelio septado, del que se forman los conidióforos, que se ramifican cerca de su extremidad para formar un dispositivo parecido a un pincel del que van surgiendo las conidias. Las conidias se forman a partir de las fiálides. Sobre los alimentos producen colores típicos como azules o verde azulados. Estos mohos son importantes en la elaboración de ciertos quesos. Otros tienen interés en la producción de antibióticos (por ejemplo, penicilina). Se encuentran ampliamente distribuidos en el suelo, aire, polvo y otros muchos lugares, y se pueden hallar en alimentos como el pan, pasteles, frutas y compotas. Algunas especies producen la «podredumbre blanda de las frutas» (fig. 2 - A).

13. Rhizopus. Estos mohos tienen el micelio no septado y presentan estolones y rizoides. Los esporangióforos nacen de las raicillas y en su extremo se forman la columela y el esporangio. Las esporas son de color negro y se forman en el interior del esporangio. Al igual que *Penicilium*, se encuentran ampliamente difundidos en la naturaleza y se pueden hallar en alimentos como las frutas, pasteles, compotas y pan. La especie *R. Stolonifer* frecuentemente se la conoce con el nombre de «moho del pan». Ciertas especies se han empleado en la fermentación alcohólica del almidón (fig. 2 - B).

14. Sporotrichum. Estos mohos presentan un micelio septado que da lugar a los conidióforos, de los que nacen las esporas en un lugar próximo a su extremo. Las conidias

fijadas apicalmente a los lados del conidióforo son hialinas, unicelulares y de forma esférica u oval. Se ha señalado que son capaces de crecer a temperaturas inferiores a 0° C. Algunas producen sobre carne de vaca refrigerada manchas blancas» (fig. 2 - C).

15. Thamnidium. Estos organismos presentan un micelio no tabicado del que nacen esporangióforos con un gran esporangio en su extremidad y esporangiolos laterales próximos a su base. A veces se encuentran en carnes refrigeradas, especialmente en los cuartos traseros conservados durante largos periodos de tiempo, en los que determinan una alteración que frecuentemente se conoce con el nombre de «barbas». Se pueden hallar en huevos y en otros alimentos en estado de descomposición (figura 2 - D).

16. Trichothecium (Cephalothecium). Estas formas presentan micelio septado del que nacen conidióforos simples, delgados y largos. Las conidias son simples y se fijan apicalmente, aunque a veces forman cadenas. Algunas especies producen en frutas y verduras coloraciones rosáceas. *T. roseum* se representa en la figura 2 - E. ¹⁰

Los principales géneros que producen alteraciones en zumos y derivados de frutas son *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Byssoschlamys*. Dragoni y Comi (1985) aislaron cuatro especies de mohos a partir de zumos de fruta industriales: *Penicillium expansum*, *Byssoschlamys fulva*, *Byssoschlamys nivea*, y *Aspergillus fumigatus*, este último fue aislado en zumo de durazno aislaron también diversas especies de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Trichoderma* cuando estudiaron la microbiología de bebidas no alcohólicas.

Este tipo de mohos cuando se desarrollan lo hacen, por su condición de aerobios, en la superficie formando colonias y micelios flotantes en el producto. A veces también son los causantes de la formación de flóculos o de una clarificación de la turbidez debido a la degradación de las pectinas. El crecimiento de mohos puede originar alteraciones en el color de los productos alterados como consecuencia de la difusión de sus pigmentos y de la destrucción de los pigmentos naturales de las frutas. Muchos mohos destruyen los ácidos de la fruta como el cítrico y el ascórbico o sintetizan otros como el glucónico y el oxálico, produciendo modificaciones en el pH y en el sabor.

El crecimiento de mohos toxigénicos, productores de toxinas, y la consiguiente acumulación de estas sustancias en las frutas puede representar un serio problema ya que estas toxinas, que no se destruyen por los tratamientos térmicos corrientes aplicados a los zumos, pasarían a los zumos y derivados de fruta representando un grave peligro para la salud de los consumidores.

¹⁰ (Ref. James M. Jay, Microbiología Moderna de los Alimentos, Pág. 18-22, 1973)

Algunos mohos como *Fusarium* y *Mucor* en ausencia de oxígeno pueden producir fermentaciones en las que se originan alcohol etílico y anhídrido carbónico.

En este caso las formas vegetativas crecen sumergidas en el producto. Se han aislado mohos productores de gas a partir de zumos de fruta envasados en "tetra pak" que mostraban una clara hinchazón. Las cepas aisladas fueron identificadas como *Mucor spinensis* y *Cephalosporium roseo-griseum*.

Algunos mohos son más termorresistentes que las levaduras y por ello pueden predominar en los productos pasteurizados. Las esporas conidiales y el micelio se destruyen a temperaturas entre 55 y 70 °C, pero las ascosporas y los esclerocios son mucho más resistentes al calor y algunas sólo se destruyen a temperaturas superiores a los 80 °C.

3.3.3. Alteraciones por levaduras

Los zumos y cremogenados de frutas son los productos que mejor cubren las necesidades de las levaduras en lo referente a pH, condiciones nutritivas y oxígeno, por lo que son los microorganismos que más fácilmente crecen y se multiplican en estos alimentos.

Muchas levaduras aisladas de frutas son capaces de crecer en condiciones de anaerobiosis y son muy tolerantes a una elevada acidez, ya que pueden crecer a pH de 2,0 y 1,5. Sus necesidades nutritivas son mínimas; muchas pueden sintetizar una gran variedad de sustancias esenciales para el crecimiento, incluyendo aminoácidos, carbohidratos y vitaminas, y requieren concentraciones muy bajas de nitrógeno para crecer.

Las alteraciones producidas por el crecimiento anaerobio de levaduras se caracterizan por la producción de CO₂ y alcohol etílico, originados por la fermentación de los azúcares.

También originan turbidez, sedimentos, flóculos, películas y agregados. Si producen pectinesterasa son capaces de destruir la turbidez natural debida a las pectinas. Son capaces de degradar los ácidos orgánicos (elevando el pH) y pueden formar acetaldehído, que contribuye al "olor a fermentado".

“A continuación presentamos una clasificación de los 9 géneros más comunes de levaduras que más producen alteraciones en frutas y verduras:

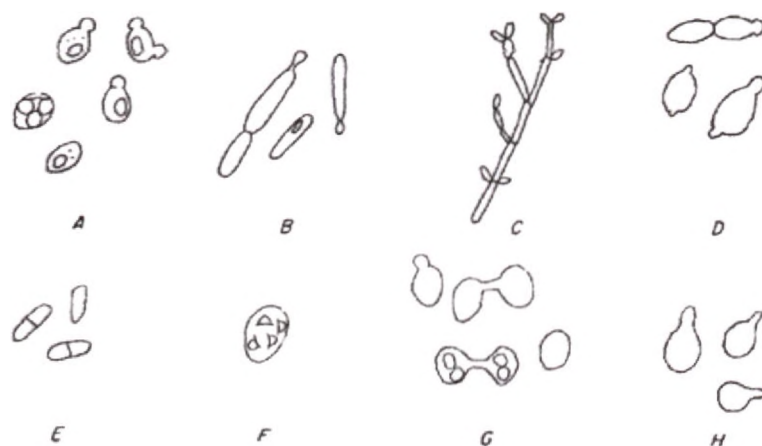


Fig. 3. Distintas formas de levaduras

1. *Saccharomyces*. Son levaduras ascosporógenas que producen células alargadas, ovoides o esféricas. Se reproducen por gemación multipolar y por formación de ascas, en las que se encuentran de 1 a 4 esporas. Este grupo representa a las levaduras de mayor importancia industrial, entre las que se halla, *S. cerevisiae*, empleada en la elaboración de la cerveza, del pan y en las industrias de la destilación. Estos organismos están muy ampliamente extendidos en las frutas (especialmente las uvas) y en las verduras, en las que producen la fermentación de los azúcares con desprendimiento de CO_2 y liberación de etanol. (fig. 3 - A).

2. *Candida*. Son organismos levaduriformes que, en algunas ocasiones, se han incluido entre los Hongos imperfectos; concretamente dentro de la familia *Moniliaceae*, junto con los géneros *Trichothecium* y *Geotrichum*. Se reproducen por fragmentación del micelio en blastosporas, o por gemación. Son levaduras asporógenas que producen un pseudomicelio. Unas pocas especies tienen importancia industrial y médica. (fig. 3 - B).

3. *Debaromyces*. Se trata de levaduras ascosporógenas que, en ocasiones, producen un pseudomicelio. En general, se reproducen por gemación multipolar y también de forma sexual. Este género se encuentra, con frecuencia, en la superficie de alimentos alterados. (fig. 3 - C).

4. *Shizosaccharomyces*. Son levaduras ascosporógenas que se reproducen por fisión, artrosporas o por métodos sexuales. En este último caso, las ascas contienen 4-6 esporas ovales, esféricas o arrionadas. Se encuentran en el azúcar y otros productos afines. (fig. 3 - E).

5. *Hansenula*. Son levaduras ascosporógenas que presentan células ovales, alargadas o esféricas y con frecuencia un pseudomicelio. Se reproducen por gemación multipolar y de forma sexual. En este último caso, las esporas en forma de «sombrero» se producen en el

interior del asca. Comúnmente se encuentran en los cítricos, uvas y productos derivados. (fig. 3 – F).

5. Mycoderma. Se trata de levaduras asporógenas que normalmente crecen en la superficie de las cervezas, encurtidos salados, jugos de fruta, vinagre y otros productos similares sobre los que producen una gruesa capa o película. Una de estas especies, *M. vini*, está relacionada con la calidad del vino, vinagre y otros productos afines.

6. Rhodotorula. Son levaduras asporógenas que algunas veces producen un pseudomicelio de tipo primitivo. Se reproducen por gemación multipolar. Muchas especies producen pigmentos rojos, tanto en los medios de cultivo como en diversos tipos de alimentos. Están ampliamente distribuidas en la naturaleza y, con frecuencia, se encuentran en el aire y en el polvo.

7. Brettanomyces. Son levaduras asporógenas, productoras de acidez, que presentan células ovales, alargadas, esféricas o en forma de ojiva. La reproducción es por gemación multipolar, que frecuentemente conduce a la formación de cadenas de células. Ciertas especies llevan a cabo una fermentación tardía en determinadas cervezas europeas, mientras que otras se han aislado en encurtidos alterados.

9. Torulopsis (Torula). Se trata de levaduras asporógenas que dan lugar a células esféricas u ovales. Se reproducen por gemación multipolar y a veces son capaces de formar un pseudomicelio, de tipo primitivo. Ampliamente distribuidas en la naturaleza y pueden crecer en alimentos refrigerados de diversas clases. ”¹¹

“ **Otros tipos de Levaduras.** Tenemos levaduras Apiculadas (en forma de limón) (fig. 3 – D), levaduras del tipo *Zygosaccharomyces* en conjugación y asca con cuatro ascosporas (fig. 3 – G) y las del tipo Piriformes (fig. 3 – H). ”¹²

Los principales géneros de levaduras causantes de alteraciones en los derivados de frutas son *Rhodotorula*, *Candida*, *Brettanomyces* y *Torulopsis* dentro de las levaduras asporógenas, y *Debaromyces*, *Hansenula*, *Pichia* y *Saccharomyces* dentro de las levaduras esporógenas.

Las especies de levaduras más representativas que Dragoni y Comi (1985) aislaron de zumos de fruta industriales fueron *Kloeckera apiculata*, *Pichia etchellsii*, *Torulopsis candida*, *Candida gilliermondii* y *Saccharomyces bailii* (*Zygosaccharomyces bailii*); sin embargo no detectaron la presencia de *Saccharomyces cerevisiae*. Son muchos, en cambio, los investigadores que afirman que *Saccharomyces cerevisiae* es una de las especies más frecuentemente aisladas de derivados de fruta. Así, algunos autores afirman que *Saccharomyces cerevisiae* es la especie más frecuente en concentrados de fruta y fue aislada en el 100 % de las muestras analizadas de concentrado de naranja y cereza. También se ha aislado *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida*

¹¹ (Ref. James M. Jay, Microbiología Moderna de los Alimentos, Pág. 23-24, 1973)

¹² (Ref. W.C. Franzier, Microbiología de los Alimentos, Pág. 36)

maltosa en productos alterados de cítricos y en preparados comerciales de pomelo.

Las contaminaciones por levaduras pueden presentarse en las distintas fases de elaboración de los zumos y cremogenados, aunque frecuentemente son responsables de fermentaciones durante el almacenamiento, aún cuando los productos se mantengan en refrigeración, ya que algunas especies pueden desarrollarse a bajas temperaturas.

Como resultado de sus investigaciones concluyeron que las levaduras que forman ascosporas tienen mayor resistencia al calor que las que no las forman, y establecieron que los valores D (para destrucción térmica) para las ascosporas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces chevalieri* eran diez veces mayores que para las formas vegetativas. Sin embargo, las esporas de las levaduras son mucho menos resistentes al calor que las esporas bacterianas también encontraron que *Saccharomyces cerevisiae* era la especie más termorresistente de todas las levaduras que aislaron de bebidas no alcohólicas.

Otros muchos autores han estudiado la termorresistencia de levaduras aisladas de productos derivados de la fruta.

3.4. Métodos de control de los microorganismos

Uno de los mayores problemas con el que se enfrentan las industrias elaboradoras de derivados de fruta es el mantener los productos libres de microorganismos productores de fermentaciones, de enmohecimientos y de otros cambios perjudiciales que puedan alterar sus propiedades físicas y organolépticas.

Para ello existen diversos métodos de conservación de este tipo de productos, como son, entre otros, mantenerlos bajo presión de dióxido de carbono, conservarlos en congelación, tratarlos con radiaciones, adicionarles conservantes, esterilizarlos por filtración o tratarlos térmicamente (pasteurización, esterilización). Todos estos sistemas van encaminados a destruir los microorganismos de los zumos y cremogenados o, al menos, a detener su actividad metabólica.

De todos los métodos enumerados en el párrafo anterior quizás sean la pasteurización, junto con la adición de conservantes químicos, los métodos más utilizados en la industria de los elaborados de frutas, aunque actualmente, y debido en parte a la demanda creciente por parte de los consumidores de productos “naturales” (sin aditivos ni conservantes químicos) y de una mayor calidad

organoléptica, los esfuerzos de fabricantes e investigadores se dirigen hacia el desarrollo de nuevos métodos de conservación.

Muchos de ellos son métodos combinados que permiten reducir las concentraciones de los conservantes y que parecen tener un futuro muy prometedor. No obstante, los tratamientos térmicos son los métodos de conservación más habituales en la industria de los elaborados de fruta.

3.4.1. Conservación química

Como se ha dicho antes, se observa una tendencia general a sustituir la adición de antisépticos por otras técnicas de conservación igualmente eficaces.

Los conservantes químicos autorizados por el INEN en la elaboración de zumos de frutas, de vegetales y sus derivados son: el ácido benzoico y sus sales de sodio, calcio y potasio, el ácido sórbico y sus sales de sodio, calcio y potasio, el ácido parahidroxibenzoico y sus ésteres, y el dióxido de azufre y sus derivados.

El ácido benzoico se usa especialmente como agente micostático. Muchas levaduras y mohos se inhiben a concentraciones de 0,05 - 0,1 % de ácido no disociado, pero la mayor parte de las bacterias causantes de alteraciones son mucho más resistentes y no debe, por tanto, confiarse en el ácido benzoico para la conservación de alimentos capaces de permitir el crecimiento bacteriano.

El ácido sórbico posee un amplio espectro de actividad contra los microorganismos catalasa - positivos, que incluyen las levaduras, mohos y bacterias, y se utiliza por tanto para inhibir los contaminantes aeróbicos en los alimentos fermentados o ácidos, ya que la eficacia máxima de este conservante tiene lugar a valores de pH ácidos, como los existentes en los zumos y cremogenados de frutas.

Las levaduras y los mohos de los géneros *Mucor* y *Penicillium* que producen alteraciones en los zumos y derivados de frutas, incluso los tipos termorresistentes, detienen su crecimiento a concentraciones de ácido sórbico del orden de 100 a 500mg/l. No obstante, se conocen algunos microorganismos, como *Lactobacillus arabinosus*, que resisten concentraciones grandes de ácido sórbico y otros, como *Aspergillus Niger*, que son capaces de utilizarlo como sustrato.

La concentración de ácido sórbico necesario para detener el crecimiento microbiano en los zumos de frutas, disminuye al adicionarles ácido ascórbico o al mantenerlos en refrigeración a 0° C.

Los ésteres del ácido para-hidroxibenzoico poseen un amplio espectro antimicrobiano y son inhibidores eficaces de levaduras, mohos y bacterias a pH próximos a la neutralidad.

El dióxido de azufre se utiliza ampliamente para controlar el crecimiento de los microorganismos no deseables de las frutas trituradas y zumos de frutas. En las frutas trituradas el SO₂ evita el crecimiento de *Botrytis*, *Cladosporium* y otros mohos.

La tolerancia a los conservantes químicos por parte de los microorganismos varía entre géneros, especies e incluso entre cepas. Muchas especies microbianas pueden adaptarse a concentraciones bajas de estos aditivos, por lo que se requieren concentraciones mucho mayores para inhibir su crecimiento.

3.4.2. Pasteurización

En la industria es necesario el conocimiento del tratamiento térmico conveniente para eliminar, de un producto determinado, una población microbiana e inactivar los enzimas.

La pasteurización es un tratamiento térmico que destruye parte, pero no todos los microorganismos presentes; generalmente se realiza a temperaturas por debajo de los 100° C. El calentamiento se verifica por medio de vapor, agua caliente, calor seco o corrientes eléctricas. Se emplea la pasteurización:

1. Cuando tratamientos térmicos más elevados dañarían la calidad del producto, como en la leche;
2. Cuando uno de los fines perseguidos es la destrucción de los gérmenes patógenos;
3. Cuando los agentes de alteración más importantes no son muy termorresistentes, como las levaduras de los jugos de frutas;
4. Cuando los microorganismos supervivientes se controlan por otros métodos de conservación adicionales, como ocurre en la refrigeración de la leche pasteurizada, y
5. Cuando se destruyen los agentes competitivos permitiendo una fermentación beneficiosa que generalmente se realiza por la adición de algunos fermentos o iniciadores, como en la elaboración del queso.

Los métodos de conservación que se emplean para complementar la pasteurización comprenden refrigeración, evitar la contaminación bacteriana generalmente envasando el producto en un recipiente cerrado, manteniendo

condiciones anaerobias, como en los recipientes cerrados al vacío, adicionando concentraciones altas de azúcar como en la leche condensada, y presencia o adición de conservadores químicos como los ácidos orgánicos de los encurtidos.

Los tiempos y temperaturas de pasteurización dependen del método empleado y del producto que se va a tratar.

En el método de temperatura alta tiempo corto (HTST y UHT) se emplea una temperatura relativamente alta durante un tiempo breve. El método de temperatura baja-tiempo largo o de mantenimiento (LTU) se emplea una temperatura más baja durante un tiempo mayor. Como ejemplos de estos tratamientos tenemos: Los vinos de uva se pueden pasteurizar durante un minuto a temperaturas de 82 a 85° C; en grandes volúmenes, mientras que los vinos de otras frutas a veces se calientan a 62,8° C o temperaturas mas altas y a continuación se embotellan calientes.

La cerveza se puede pasteurizar a 60° C o temperaturas superiores, variando el tiempo de tratamiento con la temperatura. Las frutas secas generalmente se pasteurizan en paquetes a 65,6 - 85° C durante 30-90 minutos, dependiendo el tratamiento del tipo de fruta y del tamaño del paquete.

El tratamiento pasteurizante de los jugos de frutas depende de su acidez y de que se traten en volúmenes grandes o distribuidos en botellas o latas. Para el mosto embotellado se recomiendan temperaturas de 76,7° C durante 30 minutos o un tratamiento instantáneo a 80-85° C si se encuentra en un volumen grande, y para el jugo de manzanas 60° C si está embotellado y 87,8° C si está en volumen único, durante 30 a 60 minutos.

Un tratamiento medio para las bebidas carbónicas es de 65,6° C durante 30 minutos. Para pasteurizar en baño de agua el vinagre embotellado se lleva su temperatura a un mínimo de 65,5° C y si se usa la pasteurización instantánea, el vinagre se calienta a 65,6-71,1° C después de cerrada la botella. Si el vinagre se pasteuriza sin embotellar se calienta a 60-65/66° C durante 30 minutos.

Y Finalmente para nuestro caso de los cremogenados de frutas y específicamente para el de tomate de árbol, se debe pasteurizar a 82 – 85° C por 30 minutos, o contar con una concentración hasta los 12° Brix que se lleve a cabo a ebullición a 92° C por 20 minutos.

Todo tratamiento térmico en caliente, sin embargo, deberá ser el más ajustado para que no se desencadenen una serie de reacciones no deseables como son:

- Destrucción de componentes de importancia nutritiva como las vitaminas y provitaminas.

- Aceleración de las reacciones entre azúcares y aminoácidos libres (Reacciones de Maillard), dando lugar a productos de color oscuro y gusto amargo.
- Hidrolización y liquefacción de almidones y otros polisacáridos.
- Caramelización de los azúcares.
- Destrucción de pigmentos coloreados (clorofilas, carotenos, xantofilas,...).
- Desnaturalización de las proteínas.
- Aceleración de la oxidación de las grasas.
- Formación de productos tóxicos.

En definitiva, reacciones que afectan a las condiciones organolépticas y nutritivas del producto que es tratado térmicamente.

En todo caso de cremogenados y derivados de fruta la destrucción de los microorganismos capaces de desarrollarse en el producto puede conseguirse con un tratamiento de pasteurización, es decir, calentando durante un período de tiempo determinado a una temperatura por debajo de 100° C.

Además con este tipo de tratamiento también se consigue inactivar los enzimas de la fruta. El tratamiento de pasteurización aplicado en cada caso dependerá de:

La microflora

La termorresistencia de los microorganismos alterantes depende, entre otros factores, de las condiciones de crecimiento y de la presencia o no de esporas.

El producto

El pH, la actividad de agua, la presencia de sustancias antimicrobianas y el tipo de producto son factores muy importantes que influyen sobre la resistencia térmica y el crecimiento de los microorganismos sobrevivientes.

Ya que el pH bajo de los zumos y cremogenados favorece la destrucción microbiana por el calor, en general es suficiente un calentamiento a 82 - 85° C durante pocos minutos. En pasteurizaciones rápidas, donde se emplean temperaturas más altas, el tiempo necesario de calentamiento es menor (tratamientos UHT).

3.5. Factores que afectan a la termorresistencia

TERMORRESISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS

La temperatura es, probablemente, el factor ambiental más importante de cuanto afectan a la viabilidad y desarrollo de los microorganismos. Las temperaturas por encima de aquellas a las que los microorganismos crecen habitualmente producen inevitablemente su muerte o les provocan lesiones subletales.

Exposiciones más drásticas provocan en las poblaciones homogéneas un progresivo y ordenado descenso del número de microorganismos debido a la muerte de un número de células tanto mayor cuanto más prolongado sea el tiempo de exposición.

La termorresistencia de una célula o de una población microbiana está generalmente definida por el tratamiento térmico máximo que la célula o población microbiana es susceptible de soportar. Es necesario precisar que, desde un punto de vista práctico, por muerte microbiana se entiende la pérdida de la capacidad para reproducirse cuando se le coloca en condiciones idóneas para su multiplicación.

Muchos microorganismos no esporulados responsables de la alteración de los alimentos son considerablemente más termorresistentes que los patógenos no esporulados, por lo que, normalmente, un tratamiento que elimine los microorganismos alterantes también destruirá a los patógenos.

El número de factores que intervienen en la termorresistencia es tan grande que la interpretación de los resultados obtenidos de las investigaciones no resulta un trabajo muy sencillo para cada tipo de investigación.

Basándose en las numerosas revisiones de los distintos factores que afectan a la termorresistencia microbiana éstos pueden clasificarse en tres tipos generales:

- ***Factores genéticos del microorganismo:*** como diferencias específicas y raciales, y entre esporas y células vegetativas.
- ***Factores ambientales que ejercen su influencia durante el crecimiento:*** y la formación de las células o los esporas: como edad, temperatura y medio de cultivo.
- ***Factores ambientales que actúan durante el tratamiento térmico de las células o esporas:*** la naturaleza fisicoquímica del medio o menstuo en el que se realiza el calentamiento o tratamiento térmico.

Hay otros diversos factores como pH, actividad de agua, medio de suspensión, tipo de alimento, a la presencia de sales, carbohidratos y de otros compuestos orgánicos o inorgánicos.

También son numerosos los estudios realizados con la finalidad de determinar la influencia de diversos factores sobre la termorresistencia de levaduras aisladas de zumos y derivados de frutas.

Los principales factores que afectan a la termorresistencia son:

3.5.1. Temperatura y medio de cultivo

Un factor influyente en la termorresistencia es la temperatura de incubación del cultivo.

La termorresistencia de todos los esporulados parece estar influenciada por la temperatura de esporulación. Así, si la esporulación tiene lugar a la temperatura óptima de crecimiento, o superior, su termorresistencia durante la fase estacionaria será apreciablemente superior que si el crecimiento hubiera tenido lugar a temperaturas inferiores.

Las formas vegetativas presentan el mismo comportamiento que las esporuladas, como lo prueban las investigaciones realizadas por el autor Schmidt (1957), quien halló que, en general, cuanto más se aproxima la temperatura a la óptima durante la fase de crecimiento, más elevada es luego su termorresistencia.

Estas diferencias en la termorresistencia según la temperatura de cultivo es lo que convalida la utilidad práctica del mantenimiento a bajas temperaturas y refrigeración de los alimentos que posteriormente van a ser tratados térmicamente, ya que con ello se evita el desarrollo de formas más termorresistentes que dificultarían tal tratamiento.

El medio de cultivo y la riqueza en él de determinados nutrientes, también tiene un efecto importante sobre la termorresistencia de las células en él obtenidas, pero los efectos de diferentes componentes, solos o en combinación, son tan variables que hacen muy difícil sacar generalizaciones.

3.5.2. pH del medio de tratamiento

Quizás el factor que de un modo más importante afecta a la termorresistencia sea el pH y la acidez.

La resistencia térmica de los microorganismos es generalmente máxima a valores de pH próximos a la neutralidad, entre 6,0 y 8,0, y decrece cuando el pH se hace más ácido.

Las investigaciones de sobre *Aeromonas hydrophila* también parecen confirmar esto, dado que su máxima resistencia térmica se halla a pH 6,0 y la mínima a pH 4,0 según algunos autores, ellos también estudiaron el efecto del pH sobre la termorresistencia de una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* y otra de *Lactobacillus fructivorans* aisladas del velo del vino.

Para los pH estudiados, no encontraron efectos significativos sobre la termorresistencia de *Saccharomyces cerevisiae*; por el contrario, para *Lactobacillus fructivorans* la termorresistencia disminuyó con el pH.

Otros autores, en cambio, afirman que las levaduras son más termosensibles cuanto más ácido es el pH del medio de tratamiento.

3.5.3. Actividad del agua

La reducción de la actividad de agua en el medio de tratamiento aumenta considerablemente la termorresistencia tanto en los esporos como en las células vegetativas, lo que se refleja en la necesidad de utilizar temperaturas de tratamiento más elevadas o tiempos más prolongados.

En trabajos sobre la influencia de la actividad de agua en *Zygosaccharomyces* se ha demostrado que la termorresistencia de sus células vegetativas estaba más influenciada por la actividad de agua que la de sus esporos.

Sin embargo, también se ha demostrado que cuanto más bajos son los valores de la actividad de agua del medio de tratamiento, menores son las diferencias entre la termorresistencia de las células vegetativas y de las esporos.

Capítulo IV

“Estudio Cinético Enzimático en Cremogenados”

“Estudio Cinético Enzimático en Cremogenados”

4.1. El pardeamiento no enzimático

Según se ha visto anteriormente, tanto los cremogenados como los zumos clarificados son sometidos, a lo largo de todo su proceso de elaboración, a tratamientos térmicos de mayor o menor intensidad, tales como pasteurización, esterilización o concentración.

Estos tratamientos, si bien necesarios, tienen efectos no deseados sobre el producto final, provocando cambios en el color, aparición de aromas desagradables, modificaciones en el sabor y pérdida o degradación de algunos de sus componentes nutricionales, como vitaminas, azúcares y aminoácidos, y, además, conducen a la formación de productos resultantes de las reacciones de Maillard, 5-hidroximetilfurfural (HMF) y melanoidinas, que confieren al producto final coloraciones oscuras englobadas bajo el término de **pardeamiento no enzimático**. En los alimentos estas sustancias coloreadas pueden formarse principalmente por reacciones de “caramelización”, oxidación del ácido ascórbico y por la reacción de Maillard.

Caramelización

La caramelización o pirólisis de los azúcares monosacáridos se da cuando se calientan por encima de su temperatura de fusión, con reacciones de enolización, deshidratación y fragmentación, formándose derivados furánicos que por polimerización forman pigmentos oscuros. Si se trata de disacáridos debe de existir una hidrólisis previa. Los citados derivados furánicos, como el furfural y el 5-hidroximetilfurfural (HMF) pueden a su vez reaccionar con compuestos amínicos (reacción de Maillard).

Comercialmente la caramelización se lleva a cabo de manera controlada para la fabricación de caramelos líquidos o sólidos, que se utilizan como colorante para refrescos de cola, postres, productos de la confitería, etc.; se elaboran calentando soluciones concentradas de glucosa o de sacarosa en presencia de ácidos y sales de amonio; su composición química es muy compleja y se presentan como partículas coloidales con un tamaño y punto isoeléctrico característicos.

Oxidación del ácido ascórbico

Esta sustancia se oxida con facilidad en presencia de aire, pasando a furfural con la consiguiente liberación de CO₂.

Este proceso se da en alimentos ácidos ($\text{pH} = 2,0-3,5$), y al calentar, y se puede producir tanto en presencia como en ausencia de oxígeno.

Esta oxidación tiene lugar en frutas en las que los grupos amino con los que puede reaccionar el ácido ascórbico son relativamente escasos. Tal es el caso de los cítricos y en especial del limón y del pomelo.

Reacción de Maillard

Bajo la denominación de reacción de Maillard se incluye un complejo sistema de reacciones químicas que tienen lugar, durante los tratamientos térmicos, entre los grupos carbonilo y amino libre presentes en los alimentos, induciendo la formación de pigmentos pardos y componentes aromáticos en las últimas etapas de reacción.

Muchos autores afirman que la reacción de Maillard es el mecanismo predominante en el pardeamiento no enzimático que tiene lugar durante la elaboración y almacenamiento de zumos y derivados de fruta, especialmente si se trata de fruta dulce.

Este grupo muy complejo de transformaciones traen consigo la producción de melanoidinas coloreadas que van desde amarillo claro hasta café oscuro, o incluso negro; para que se lleven a cabo se requiere de un azúcar reductor (cetosa o aldosa) y un grupo amino libre proveniente de un aminoácido o de una proteína. Estas reacciones las observó por vez primera el químico francés Maillard, en 1913, pero no fue sino hasta 1953 cuando se aclaró su mecanismo general.

El característico y deseado color de la costra de los alimentos horneados se debe a esta reacción, al igual que el de los diversos postres a base de leche; sin embargo, es indeseable en otros productos, como en las leches evaporadas y azucaradas y en algunos jugos concentrados.

Aunque esta reacción se puede efectuar en diferentes condiciones, está principalmente influenciada por los siguientes parámetros:

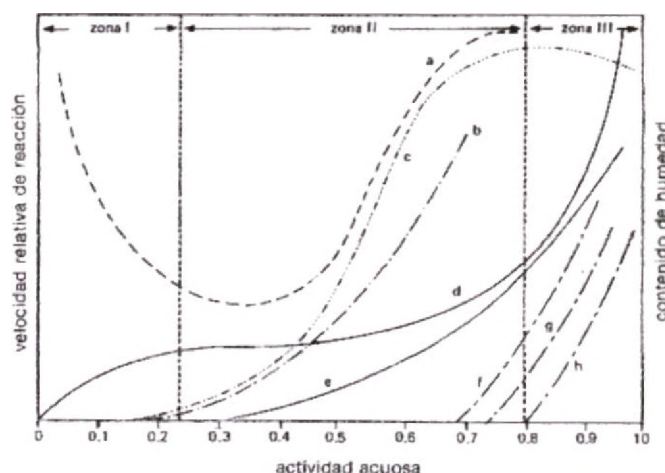
- a) A pH alcalino se incrementa la velocidad y alcanza un máximo a pH 10; sin embargo, hay que recordar que existen muy pocos alimentos en forma natural con $\text{pH} > 7$ (como el huevo).
Por lo contrario, el mecanismo se inhibe en condiciones muy ácidas que normalmente no se encuentran en los alimentos.
- b) Las temperaturas elevadas también la aceleran, pero debido a que su energía de activación es baja, también se observa hasta en condiciones de

refrigeración. En términos generales, la E_a (Energía de activación) es del orden de 16 a 30 kcal/mol, y el valor de su coeficiente de temperatura, Q_{10} (en el intervalo de 0 a 70° C), es de 2 a 3; es decir, por cada 10° C de aumento, la velocidad se incrementa de dos a tres veces.

En el caso del encafecimiento del jugo de manzana de 65 a 75° Brix, la E_a es de 16.4 a 19.3 kcal/mol, mientras que para la pera es de 21.9 kcal/mol. En sistemas modelo de caseína-glucosa se sigue una relación lineal entre la temperatura y la velocidad de reacción en un intervalo de 0 a 90° C de acuerdo con la ecuación de Arrhenius.

Igualmente, este mecanismo se ajusta a un modelo de primer orden aparente en el jugo de manzana, dependiente de la temperatura, la composición y los sólidos solubles.

- c) Otro factor importante es “la actividad acuosa por lo que los alimentos de humedad intermedia son los más propensos; en la figura siguiente se observa que los valores de actividad acuosa de 0.6 a 0.9 son los que más la favorecen: una actividad acuosa menor no permite la movilidad de los reactantes y se inhibe el mecanismo, y una mayor produce el mismo efecto ya que el agua, por ser el producto de la propia reacción, ejerce una acción inhibitoria, de acuerdo con la Ley de acción de masas ya que diluye los reactantes.”¹³



Cambios que ocurren en los alimentos en función de la actividad acuosa a 20 °C: oxidación de lípidos; b reacciones hidrolíticas; c, oscurecimiento no enzimático; d, isoterma del contenido de humedad; e, actividad enzimática; f, crecimiento de hongos; g, crecimiento de levaduras, y h, crecimiento de bacterias.

- d) El tipo de aminoácido es decisivo, puesto que éstos serán más reactivos en la medida en que se incremente el tamaño de la cadena y tengan más de un grupo amino. Por esta razón, la lisina, con su amino en posición - es el más activo; también pueden intervenir otros, como la arginina, la histidina y el triptófano. Se sabe que en los sistemas modelo de glucosa-aminoácido, la velocidad se incrementa con los aminoácidos cuyo grupo amino está más alejado del carboxilo. El aspartamo es un dipéptido y también está sujeto a estos cambios.

¹³ (Ref. Salvador Badui Dergal, Química de los Alimentos 1993, Pág. 28)

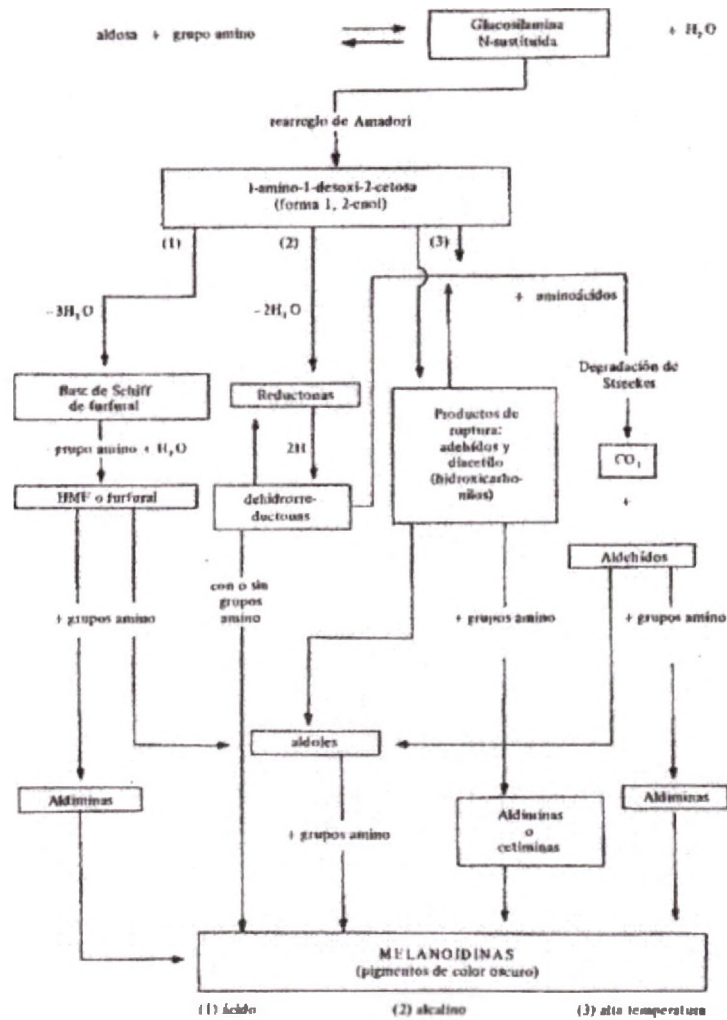
- e) Los azúcares reductores que más favorecen la reacción de Maillard son en primer término las pentosas y, en un segundo término las hexosas; asimismo, las aldosas actúan más fácilmente que las cetosas, y los monosacáridos son más efectivos que los disacáridos. Con base en esto, y en términos generales, la xilosa es el azúcar más activo, seguido de la galactosa, la glucosa, la fructosa, la lactosa y la maltosa por su parte, la sacarosa, por no tener poder reductor, no interviene a menos que se hidrolize previamente lo cual es muy sencillo. Este ordenamiento no es estricto, ya que en sistemas específicos, como el freído de papas, la fructosa es más activa que la glucosa, y en otros esta situación se invierte. Los ácidos nucleicos también intervienen porque contienen ribosa que es altamente reactiva.

En los sistemas modelo de caseína se ha demostrado que esta transformación se lleva a cabo a diferentes velocidades de acuerdo con el azúcar que se emplea.

- f) Los metales como el cobre y el hierro tienen un efecto catalizador sobre la formación de las melanoidinas, lo que indica el carácter de oxidación-reducción de la última etapa de este mecanismo. El oxígeno y las radiaciones electromagnéticas actúan de manera semejante. La ausencia de estos agentes metales luz y oxígeno no previene el inicio de la reacción ya que sólo favorecen la polimerización final,

La reacción de Maillard se lleva a cabo de manera muy compleja mediante un gran número de mecanismos que incluyen la posible producción de radicales libres; en la figura de la siguiente página se muestra el diagrama característico de este proceso, de acuerdo con los primeros trabajos de Hodge, que resume las posibles rutas que siguen los reactantes.





Reacciones de oscurecimiento de Maillard.

Con base en esto, se ha dividido en cuatro principales etapas: condensación del azúcar reductor con el grupo amino; transposición de los productos de condensación reacción de los productos de la transposición, y polimerización y formación de sustancias coloreadas.

4.2. Mecanismos de Reacción de Maillard

Los mecanismos químicos de la reacción de Maillard han sido ampliamente descritos por varios autores, según los cuales el desarrollo de la reacción de Maillard presenta siete tipos de reacciones diferentes, que pueden ser clasificadas de acuerdo a tres fases de desarrollo:

Fase inicial (sin producción de color).

- A. Condensación azúcar-amino: se trata de una condensación de los grupos carbonílicos, de aldosas y cetosas principalmente, sobre grupos amino de aminoácidos y proteínas para dar una glicosilamina N-sustituida.
- B. Reagrupamiento de Amadori: tiene lugar la formación de cetosaminas a partir de aldosaminas. Esta reacción es catalizada por ácidos débiles y puede ser considerada como la etapa clave en la reacción de Maillard, pues en medios fuertemente ácidos al hidrolizarse la glicosilamina N-sustituida, puede revertir la reacción hacia los sustratos de partida. En el caso de que el azúcar reaccionante sea una cetosa tiene lugar una reacción similar a la anterior, denominada reagrupamiento de Heyns-Carson, dando como producto de la reacción la formación de una aldosilamina. Durante el desarrollo de la fase inicial del pardeamiento (reacciones A y B) tiene lugar una pérdida del valor nutritivo del alimento ya que se ve afectada la disponibilidad de aminoácidos, sin embargo los productos de reacción no confieren al alimento color ni aroma propios (Finot y Mauron, 1969).

Fase intermedia (incolora o con producción de ligeros colores amarillos).

- C. Deshidratación de azúcares: se conocen dos tipos de reacciones de deshidratación de azúcares. En sistemas ácidos se produce la formación de derivados del furfural. En sistemas casi anhidros con presencia de aminas tiene lugar la formación de reductonas.
- D. Fragmentación de azúcares: el potencial de pardeamiento de los productos resultantes de la fragmentación de los azúcares varía considerablemente. Los compuestos que mantienen el grupo α -hidroxicarbonilo sufrirán pardeamiento solamente en soluciones acuosas, y, en presencia de compuestos amino, el pardeamiento se verá fuertemente acelerado. Los compuestos más altamente reactivos son el glucolaldehído, gliceraldehído, piruvaldehído, acetol, acetoina y diacetilo.
- E. Degradación de Strecker: aminoácidos más dehidrorreductonas forman aldehídos con un átomo menos de carbono y liberación de CO_2 . Según Maillard el dióxido de carbono liberado durante las reacciones de pardeamiento proviene del grupo carboxilo del aminoácido y no del radical del azúcar. Según este proceso se explicaría la mayor parte, pero no la totalidad, del CO_2 formado a partir de sistemas azúcar-aminoácido. La producción de CO_2 sigue una evolución paralela a la formación del color y muestra la misma dependencia del pH.

Fase final (fuertemente coloreada).

En la fase final de pardeamiento tiene lugar la formación de polímeros coloreados.

Las principales reacciones implicadas son la condensación aldólica, la polimerización aldehído-amina, y la formación de compuestos nitrogenados heterocíclicos, tales como pirroles, imidazoles, piridinas y pirazinas.

F. Condensación aldólica: tiene lugar entre compuestos intermedios para formar pigmentos insaturados fluorescentes.

G. Polimerización de aldehídos con aminas: los aldehídos simples y las aminas reaccionan fácilmente a bajas temperaturas y forman productos polímeros coloreados.

4.3. Factores que afectan al pardeamiento no enzimático

La reacción de pardeamiento no enzimático no se desarrolla siempre de la misma forma, y tanto su velocidad como los productos finales que de ella se obtienen dependen de numerosos factores; los más importantes son: temperatura, actividad de agua y la composición del alimento o medio.

Al enumerar los principales factores que afectan a las reacciones de pardeamiento no enzimático, coinciden con la relación anterior, aunque dentro del factor composición del medio destacan como factores más importantes el contenido y la naturaleza de los azúcares, de los aminoácidos y proteínas y el contenido en metales.

4.3.1. Temperatura y duración del tratamiento

Bajo las mismas condiciones, la temperatura de tratamiento es el factor que más influye sobre la velocidad de reacción. Además, también influye en la composición de los productos finales.

En general, un aumento de la temperatura de tratamiento provoca un aumento en la velocidad de reacción del pardeamiento no enzimático, incluso en ausencia de catalizadores amino. La duración de tratamiento influye en el número y diversidad de los productos finales de la reacción.

Estudios realizados en zumo de manzana concentrado de 75° Brix, reflejan que para obtener un incremento del color inicial del 100 % es necesario almacenar el zumo durante más de 100 días a una temperatura de 20 °C, mientras que si la temperatura de almacenamiento aumenta a 37° C, el tiempo necesario para obtener el mismo incremento de color se reduce a 20 días. Esto da una idea de la influencia de la temperatura en la velocidad del pardeamiento no enzimático en los zumos de frutas.

El pardeamiento no enzimático, como cualquier reacción química, sigue una cinética de reacción cuya constante de velocidad varía con la temperatura siguiendo el modelo de Arrhenius.

En estos modelos, la energía de activación indica el grado de dificultad con que una reacción se desarrolla, así como su sensibilidad frente a la temperatura.

4.3.2. Actividad del agua

La actividad de agua también tiene una gran influencia sobre la velocidad de reacción de Maillard. A valores altos de a_w la velocidad de reacción es baja debido a que los reaccionantes se encuentran diluidos en el agua del medio; a valores de a_w bajos, como en alimentos sólidos, la reacción se ralentiza debido a la reducida movilidad de los reaccionantes.

Por lo tanto, la velocidad de reacción es máxima cuando la actividad de agua se encuentra en el rango 0,6-0,7; tras estudiar la velocidad de pardeamiento no enzimático a distintas concentraciones de sólidos solubles en zumos de manzana, proponen que la máxima velocidad de reacción tiene lugar cuando la a_w del medio es de 0,55, que corresponde a zumos con una concentración en sólidos solubles en torno a 81° Brix.

4.3.3. Acidez del medio

Acerca del efecto del pH en la reacción de Maillard, algunas investigaciones, en sistemas modelo y en alimentos, han demostrado que en general la reacción es inhibida por valores de pH bajos y favorecida por valores altos, sin embargo, en zumo concentrado de manzana se ha observado comportamiento opuesto, al estudiar el efecto del pH sobre distintos sistemas modelo de azúcar/aminoácido, encontró que una disminución del pH provocaba un aumento del tiempo de retardo o inducción.

4.3.4. Composición del medio

La velocidad de la reacción de Maillard depende también de la composición del medio, y en especial, de las características de los diferentes azúcares y aminoácidos que lo forman, así como de la proporción entre ellos.

4.3.4.1 Naturaleza del azúcar

Algunos autores estudiaron la capacidad de reacción de los azúcares en sistemas modelo, a pH 5,8, calentados a 100 °C durante 10 horas.

Como resultado de sus investigaciones concluyeron que la glucosa era más reactiva que la fructosa, ésta más que la lactosa, y que la sacarosa era la menos reactiva de los cuatro azúcares.

La sacarosa, como azúcar no reductor, sólo interviene en la reacción una vez que se ha producido su hidrólisis, que se ve favorecida por pH ácidos y elevadas temperaturas.

En el caso de muchos zumos y cremogenados de frutas hay que destacar su notable contenido en sacarosa la cual, a las temperaturas de tratamiento durante el procesado de estos productos, puede hidrolizarse dando glucosa y fructosa y, por tanto, aumenta el contenido en azúcares reductores que pueden intervenir en las reacciones de Maillard.

4.3.4.2 Aminoácidos y proteínas del medio

El tipo de aminoácido influye en la composición de los productos aromáticos finales.

El aminoácido más reactivo es la lisina, mientras que el ácido glutámico y el aspártico parecen tener un efecto inhibitor de la reacción, otros autores han comparado la reactividad de diferentes aminoácidos con algunos azúcares reductores, calentando sistemas modelo de azúcar/aminoácido a 121° C durante 10 minutos.

Como resultado de su estudio concluyeron que la lisina es muy reactiva, la alanina tiene una reactividad media y la arginina es poco reactiva.

Además, la constante de reacción aumenta cuando el contenido en aminoácidos del medio aumenta, mientras que otros encontraron que la presencia de aminoácidos en soluciones modelo que imitaban la composición de zumos concentrados de kiwi tenía una importancia considerable en el pardeamiento. Numerosos autores han investigado la

eliminación de aminoácidos de varios zumos de frutas usando resinas de intercambio iónico y el efecto que esta eliminación de aminoácidos tiene sobre los niveles posteriores de pardeamiento.

Así, se ha observado que la eliminación de aminoácidos provoca reducciones en el nivel de pardeamiento no enzimático en zumos de manzana, en zumo concentrado de pera, en zumo de limón, en zumo de naranja y en zumo de kiwi.

4.4 Medida de la intensidad del pardeamiento no enzimático

Dada la complejidad de estas reacciones, es difícil establecer un mecanismo de reacción y, de este modo, deducir un modelo cinético preciso que las describa en su globalidad.

En consecuencia, las metodologías utilizadas abordan su estudio desde distintos enfoques intentando describir la fenomenología observada mediante el seguimiento de distintos parámetros de fácil determinación y modelizables en expresiones matemáticas sencillas. Los indicadores de la reacción de Maillard más comúnmente utilizados son:

- Evolución del color (absorbancia a 410 ~ 470 nm, evaluaciones colorimétricas que van de acuerdo a los rangos de la siguiente tabla:

<i>LONGITUD DE ONDA DE LA ABSORCIÓN MÁXIMA (nm)</i>	<i>COLOR ABSORBIDO</i>	<i>COLOR OBSERVADO</i>
380-420	Violeta	Amarillo-verdoso
420-440	Azul-violeta	Amarillo
440-470	Azul	Naranja
470-500	Verde-azuloso	Rojo
500-520	Verde	Purpura
520-550	Verde amarillento	Violeta
550-580	Amarillo	Azul-violeta
580-620	Naranja	Azul
620-680	Rojo	Verde azuloso
680-780	Purpura	Verde

- Determinaciones cualitativas y cuantitativas de reactivos.

4.4.1 Evolución del color

Entre las alteraciones que tienen lugar en las características organolépticas de los zumos y cremogenados como consecuencia de las reacciones de pardeamiento no enzimático, hay que destacar, como una de las más importantes, las producidas en el color.

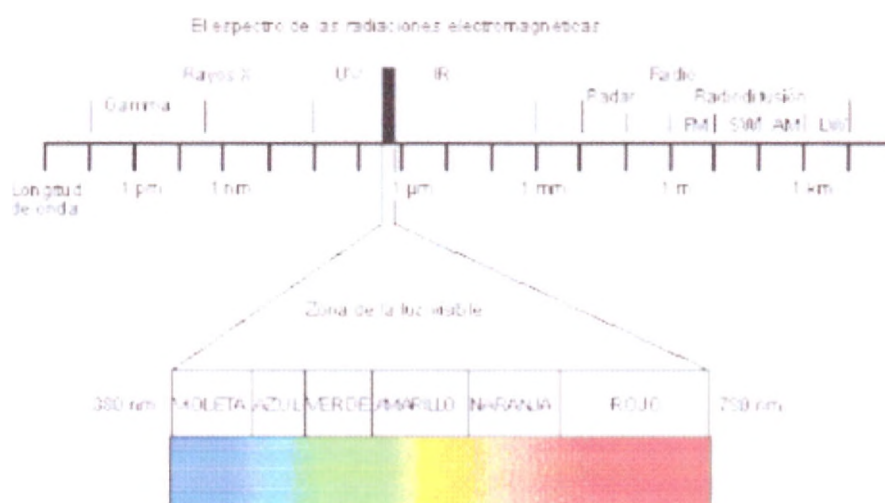
Así pues, el color es un indicador indirecto de los compuestos coloreados formados, y, por lo tanto, la medida de la variación del color con el tiempo de reacción permite determinar la cinética de pardeamiento no enzimático.

La medida del color ha sido muy utilizada en estudios de pardeamiento no enzimático ya que es una determinación relativamente fácil de realizar.

Normalmente, el color anaranjado se caracteriza mediante medidas espectrofotométricas entre 420 ~ 440 nm para la detección de pigmentos pardos y por evaluaciones colorimétricas como luminosidad y diferencia de color.

El color y su medida

El color es el efecto de un estímulo sobre la retina que lo transmite al cerebro donde es interpretado. El estímulo consiste en la luz reflejada o transmitida por un objeto a partir de la luz que incide sobre él.



El ojo humano percibe la luz visible (380nm ~ 780nm) y aprecia tres características:

El tono o tipo de color, que responde a la dominancia de unas radiaciones a determinadas longitudes de onda sobre otras (rojo, amarillo, azul);

La saturación o pureza, que describe el grado en que un color se separa del gris neutro y se acerca a un color puro del espectro (más rojo o menos rojo según la cantidad de gris presente en el color);

La luminosidad o claridad, que es la cantidad de luz reflejada o transmitida por un objeto dentro de un mismo tono y saturación (brillante y/o luminosa).

Un objeto puede absorber, reflejar o transmitir parte de la luz que le llega. La proporción de luz que refleja o transmite puede variar según la longitud de onda de la luz incidente, debido a que los pigmentos no absorben de igual forma a todas las longitudes de onda.

La sensación de color percibida por un observador depende de las características del producto, del color e intensidad de la iluminación y del estado anímico en se encuentre. Por lo que el ojo humano no resulta un medio objetivo para realizar medidas de color.

Todo lo anterior muestra la necesidad de aplicar métodos instrumentales de medida, basados en las teorías físicas del color, que permitan interpretar, definir y comparar entre sí los diferentes colores de una forma objetiva y, al mismo tiempo, fácilmente reproducible.

Entre los métodos más utilizados se encuentran los basados en medidas espectrofotométricas y posterior tratamiento matemático de los distintos parámetros indicativos del color.

La medida del color está normalizada a nivel internacional desde la reunión de la Commission Internationale de l'Eclairage (CIE) celebrada en París en 1931. En esta reunión se estableció una nomenclatura y un espacio de color conocido como sistema CIE. Los alimentos, tanto en forma natural como procesada, presentan un color característico y bien definido mediante el cual el consumidor los identifica; cualquier cambio que este sufra puede causar el rechazo de los productos.

Los colores de los alimentos se deben a distintos compuestos principalmente orgánicos, algunos que se producen durante su manejo y procesamiento, y otros que son pigmentos naturales o colorantes sintéticos añadidos.

Cuando se someten a tratamientos térmicos los alimentos desarrollan tonalidades que van desde un ligero amarillo hasta un intenso café, mediante las reacciones de Maillard y de caramelización; en otras ocasiones, los pigmentos que contienen se alteran y cambian de color.

Algunos alimentos líquidos, como la leche, deben su color característico al efecto de dispersión de la luz que causan los glóbulos de grasa y las micelas de caseína y el fosfato de calcio coloidal, aunque también influye la presencia de carotenos y de riboflavina. Cuanto más pequeños sean los lóbulos de grasa (principales responsables de la dispersión de la luz), mayor será el efecto de la dispersión y mayor la blancura de la leche; este efecto se comprueba con la leche homogeneizada que es más blanca que la recién obtenida de la vaca, ya que la primera contiene un mayor número de pequeños glóbulos de grasa.

Cuando estas partículas llegan a aglomerarse la blancura se reduce, lo que se observa fácilmente en el color que adquiere la crema de la leche.

Sin embargo, la mayoría de los alimentos vegetales y las carnes le deben su color a correspondientes pigmentos, que son sustancias que tienen una función biológica muy importante en el tejido; éste es el caso de la clorofila y la fotosíntesis, y de la mioglobina y almacenamiento muscular del oxígeno, entre otros. En este sentido cabe indicar que algunos de estos pigmentos se extraen de su estado natural y se emplean como colorantes en la elaboración de un gran número de alimentos.

“En términos generales, los pigmentos relacionados con los alimentos se pueden dividir en ocho categorías:

1. *Carotenoides*
2. *Clorofilas*
3. *Antocianinas*
4. *Flavonoides*
5. *Betalainas*
6. *Taninos*
7. *Mioglobina y hemoglobina*
8. *Otros*

Los seis primeros se encuentran fundamentalmente en productos vegetales, aun cuando llegan a estar presentes en derivados de origen animal; esto ocurre cuando en la dieta de animales se incluyen vegetales ricos en pigmentos. El séptimo grupo sólo se encuentra en productos de origen animal.

En el octavo grupo se incluye un gran número de compuestos que también imparten color tanto a los tejidos vegetales como animales en él se incluyen quinonas, xantonas, vitamina riboflavina como tal y en sus diferentes formas de coenzimas, los citocromos. Debido a que no son tan abundantes contribuyen poco al color de los alimentos.”¹⁴

La mayoría de los pigmentos vegetales se localizan en el protoplasma de las células, dentro de los organelos especializados llamados plástidos, que se pueden observar con el microscopio, ya que forman pequeñas placas o agujas de

¹⁴ (Ref. Salvador Badui Dergal, Química de los Alimentos 1993, Pág. 380)

estructura cristalina; en algunos casos, cuando son solubles en agua, se ubican disueltos en las vacuolas de las células.

Algunos de ellos son hidrosolubles, y su separación y aislamiento se facilita considerablemente, pero existen otros que sólo se solubilizan en disolventes orgánicos como hexano, éter, etc. Su identificación se basa en la propiedad que tiene cada pigmento de absorber una cierta longitud de onda del espectro visible; los carotenoides, por ejemplo, absorben una energía radiante de alrededor de 440nm, mientras que las clorofilas, las antocianinas y la mioglobina lo hacen en longitudes de onda de 655, 510 y 555nm respectivamente.

Además del patrón de absorción, existen otras maneras de medir el color, como es el método del triestímulo, o los sistemas subjetivos que comparan el producto con una serie de colores patrón.

Sin embargo, no todas las personas perciben el color de la misma manera, ya que en estudios recientes se ha demostrado que existen diferencias de sensibilidad entre los hombres, y entre éstos y las mujeres.

Absorbancia

La medida de la absorbancia entre 420 ~ 470nm (A450) ha sido muy utilizada por distintos autores para estudiar el pardeamiento no enzimático en distintos zumos y concentrados clarificados de frutas expuestos a condiciones muy distintas de temperatura y tiempo de tratamiento o almacenamiento.

Así, en zumos y concentrados clarificados de manzana, este parámetro ha sido utilizado para estudiar el pardeamiento no enzimático. También utilizando la absorbancia a 420nm para estudiar el pardeamiento no enzimático en zumos clarificados concentrados de manzana, en el rango de concentraciones de 65-90° Brix, durante su almacenamiento a 37° C.

La A450nm también se ha utilizado para estimar la evolución del pardeamiento no enzimático en distintos sistemas modelo, como aspartamo/glucosa y glicina/glucosa sometidos a condiciones de altas temperaturas, de 70 a 90° C, o en soluciones modelo simulando zumo clarificado de manzana, que contenían azúcares, ácidos orgánicos y los aminoácidos asparagina, ácido aspártico y ácido glutámico.

En nuestro trabajo se realizarán medidas de absorbancia en el rango de 400 ~ 490nm, para evaluar el pardeamiento no enzimático a lo largo del tiempo de almacenamiento de las muestras, y se buscará el modelo cinético de deterioro que se apegue a la evolución del color en nuestro producto.

Capítulo V

“Caracterización Físico-Química, Reológica, Microbiológica y Cinética del Cremogenado del Tomate de Árbol”

“Caracterización Físico-Química, Reológica, Microbiológica y Cinética del Cremogenado del Tomate de Árbol”

5.1. Caracterización Físico-Química

5.1.1. Preparación de las muestras de cremogenado

Se procesó tres cargas (batch) de la fruta con lapsos de 30 días con un peso de 8 Kg. por cada carga de tomate, con la finalidad de investigar y observar los cambios y alteraciones en el producto a lo largo de tres meses, así como de verificar la efectividad del proceso de fabricación.

La elaboración de las muestras se llevó a cabo en la planta piloto de Conservas Vegetales del Laboratorio Tecnológico de Ing. Química de la Universidad de Cuenca, mientras que la materia prima fue suministrada por la Granja del INIAP en Bulcay (Vía Cuenca – Gualaceo).

Se procesaron en total 24 kilos de Tomate de Árbol (*Cyphomandra betacea*) de tipo berenjena o puntón, en tres cargas de proceso una cada mes con un peso de 8 kilos cada vez.

Se envasaron las muestras en frascos de vidrio de 500 cm³ con tapa metálica y con un peso de 400g y se almacenaron en tres medios diferentes de temperatura:

- A Temperatura Ambiente (aprox. 12 ~ 18° C).
- En Refrigeración a 2° C.
- En Congelación a - 24 °C.

El proceso completo de elaboración de un cremogenado de Tomate de Árbol seguido para la obtención de las muestras, se rigió según los procedimientos seguidos en otros países para la fabricación de cremogenados; comprende las etapas detalladas a continuación, que van de acuerdo con el Método universal de Appert:

5.1.1.1 Procedimiento de Elaboración de Muestras de Cremogenado de Tomate de Árbol

1. Requisitos de la Materia Prima

La materia prima ha sido suministrada por la Granja y plantaciones del INIAP en el sector de Bulcay, donde se tiene, entre otros cultivos, una plantación del Tomate de árbol de tipo *Cyphomandra betacea* (C.S.) con un área de 2,3 Hectáreas y con una Producción anual aproximada de 100 toneladas de este tipo de tomate.



Selección de la Materia Prima, previo transporte.-

La materia prima ha sido seleccionada de acuerdo a las normas vigentes para el procesamiento de vegetales que deben de ser transformadas en conservas, en nuestro caso se lo hizo tomando en cuenta la reglamentación que esta vigente en la Norma INEN 377 en su literal 2.2.



2. Transporte, Recepción y Almacenamiento de la Materia Prima

Se ha transportado la materia prima desde la Granja en Bulcay hasta las instalaciones de la planta piloto de Conservas Vegetales de la Facultad de CC.QQ. en donde se la proceso de inmediato.

3. Selección de Materia Prima previo procesamiento.

Se realizó por simple apreciación visual de las frutas que tengan golpes o magulladuras, cortes, signos de deterioro por alteración microbiológica y sobre todo por el grado de madurez de las mismas, esto se lo hace para garantizar la obtención de un cremogenado con características idóneas.

4. Lavado de la materia prima calificada

Se lo realizó en 2 etapas:

- **Primera.-** Tuvo lugar en una tina de aluminio donde se colocó la materia prima con agua corriente a temperatura ambiente, mientras se agitaban y lavaban las frutas manualmente, haciendo circular las mismas por su interior con agua circulante lo que provocó el desprendimiento de una parte de la suciedad que la fruta llevaba.
- **Segunda.-** Se realizó en un baño de agua fría a la que se le adicionó un producto desinfectante de hipoclorito sódico en una cantidad de 5ml. por galón de agua y con la inmersión de la fruta durante 1 minuto en esta agua para luego ser enjuagada con abundante agua. En este segundo lavado, además de eliminar parte de la suciedad, se redujo significativamente la contaminación microbiana superficial de la fruta.



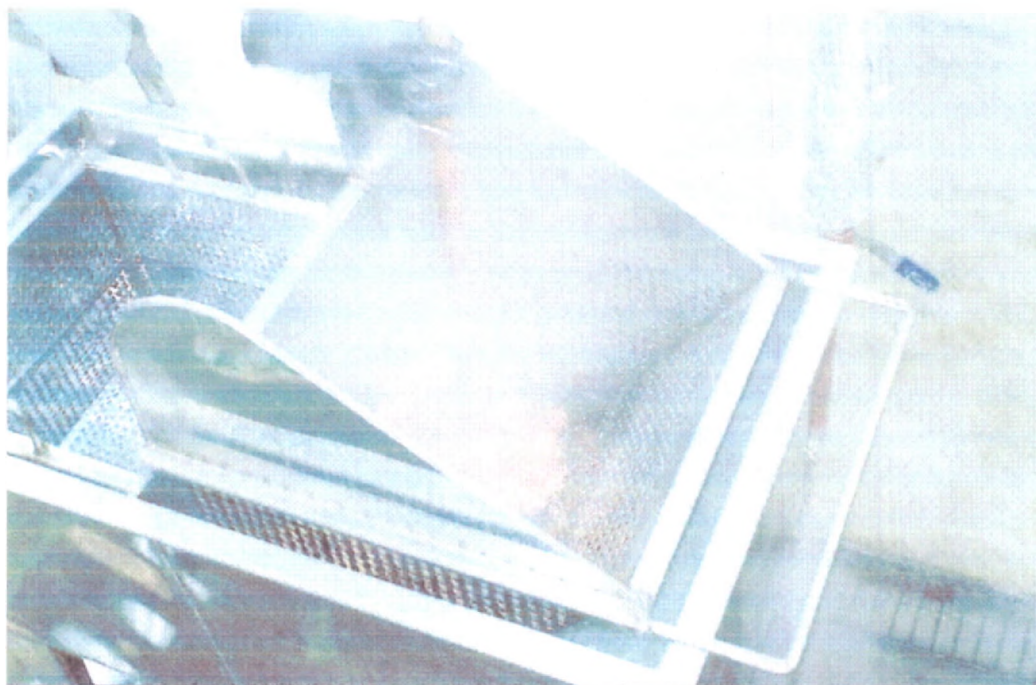
5. Escaldado de la Fruta

El proceso de escaldado consistió en sumergir por pocos minutos a las frutas en un baño de agua hirviendo (temperatura nominal de 96 - 100°C), con el objetivo de lograr el desprendimiento sencillo de la cáscara de la fruta debido al ablandamiento que sufren las sustancias pécticas que existen entre las capas de pulpa y cáscara, debido a un brusco calentamiento a nivel superficial.

También se obtiene durante este procedimiento, otro adicional denominado blanqueamiento, que consiste en la inactivación de enzimas

pécticas por calentamiento a nivel superficial, para evitar pardeamientos de la fruta durante los procesos previos a la pasteurización. Se realiza también un enfriamiento brusco en agua a temperatura ambiente después de terminado el calentamiento.

Se controló la efectividad de este procedimiento controlando la temperatura (que fluctuó entre 94 y 96 °C) y el tiempo hasta que se observe que en alguna fruta se rompe la piel, este tiempo tuvo un promedio de 6 minutos entre las tres cargas de tomates que se procesaron.



6. Pelado y Segmentación de la Fruta

Estos procedimientos se los realiza de inmediato después del escaldado para evitar alteraciones en la fruta.

El segmentado del tomate de árbol es la separación del pedúnculo, brácteas y receptáculo, partes que no son procesables en la transformación de la fruta en cremogenado.

El pelado se lo realizó manualmente debido a que la cantidad de fruta no es muy grande (Batch pequeño), pero se debe hacerlo mecánicamente en caso de manejarse grandes volúmenes de fruta. Este procedimiento debe ser rápido y eficiente puesto que se pueden producir pardeamientos superficiales de la fruta y también contaminación por contacto con el ambiente circundante.



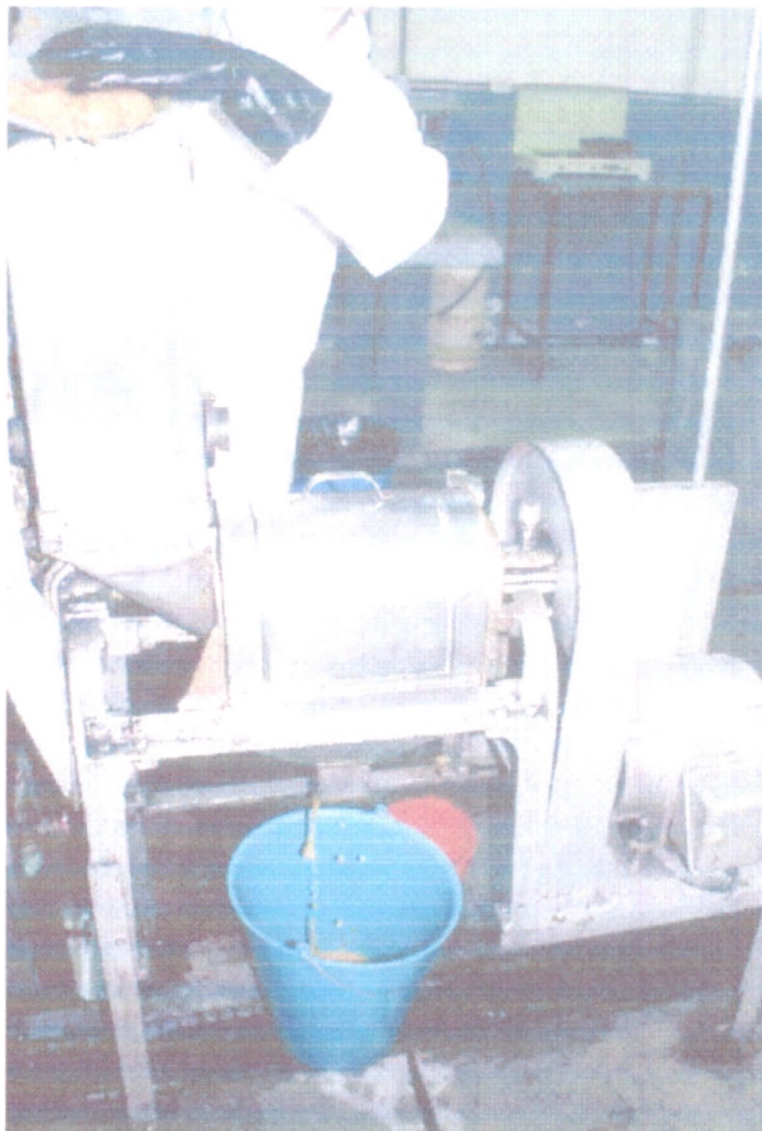
7. Trituración y Fluidificación

La trituración o fluidificado se lo realizó en una máquina fluidificadora cilíndrica, esta máquina posee dos paletas dentro de un cilindro tamiz, que tiene una luz de malla de 0.8mm en donde se cumplen simultáneamente las tres acciones de trituración, fluidificación y despepitado de la fruta.

La fruta ingresa por la boca alimentadora en la parte superior, en donde es empujada y pretriturada por dos paletas cortantes que se entrecruzan, una fija horizontal y una tipo paleta giratoria.

La fruta luego pasa internamente con ayuda de un tornillo sinfín al cilindro tamiz donde es triturada por las paletas de bronce que giran dentro del cilindro, la fluidificación se lleva a cabo cuando la fruta es presionada contra las paredes de tamiz del cilindro y sale al exterior del mismo pasando por la luz de malla, las pepas quedan retenidas en ese instante dentro del cilindro y son empujadas al final del mismo por el efecto de arrastre que tienen las paletas al estar dispuestas inclinadamente.

Al exterior del cilindro tamiz se tiene una cubierta protectora y el fluidificado cae por efecto de gravedad a la tobera de evacuado en la parte inferior donde es recogida en recipiente aséptico, mientras que las pepas son empujadas al final del cilindro y expulsadas por una salida lateral que tiene un control de flujo por placa, que sirve para balancear la cantidad de desperdicio y fluidificado que saldrá independientemente en cada salida de la máquina.



8. Tamizado final de la pasta

Es un proceso de verificación del grado de granulación de la pasta que favorece la estabilidad reológica del producto final. Se debe hacerlo muy rápidamente puesto que en este procedimiento y el anterior, es en donde se producen la mayoría de los pardeamientos. Esta operación se realizó en dos etapas.

En la primera, el producto se hizo pasar por un tamiz cernidor con un diámetro de orificio aproximado de 1mm, las partículas que no pasan a través del tamiz, fueron eliminadas como subproducto.

Para el acabado del producto se realizó un segundo tamizado a través de tamices cuya luz de malla fue de 0.8mm, (variará en cada caso, en función de la consistencia deseada para el producto final).

PROCEDIMENTOS TERMICOS

Debido a la inestabilidad del producto, las cantidades procesadas y los equipos que se tuvieron a disposición, se realizaron los tres procedimientos térmicos que requiere la pasta, conjuntamente en un solo proceso que combina lo siguiente:

- *Calentamiento inicial para Inactivación enzimática*
- *Pasteurización del Cremogenado*
- *Concentración del Cremogenado.*

Estos procedimientos están detallados a continuación:

9. Calentamiento inicial para Inactivación enzimática

Se realizó por tratamiento térmico de la pasta vegetal a unos 90-95°C durante 3 minutos en una marmita cilíndrica alimentada en su parte inferior por vapor vivo. Este tratamiento puede realizarse en intercambiadores de calor de carcasa y tubos, alimentados por vapor de agua sobrecalentado. El calentamiento de la pasta, además de inactivar las enzimas de la fruta, consigue una reducción muy importante de la microflora propia de la fruta. Es muy importante que esta etapa se realice inmediatamente después de la trituración y el despepitado para prevenir pardeamientos enzimáticos, que tienen lugar en intervalos cortos de tiempo.

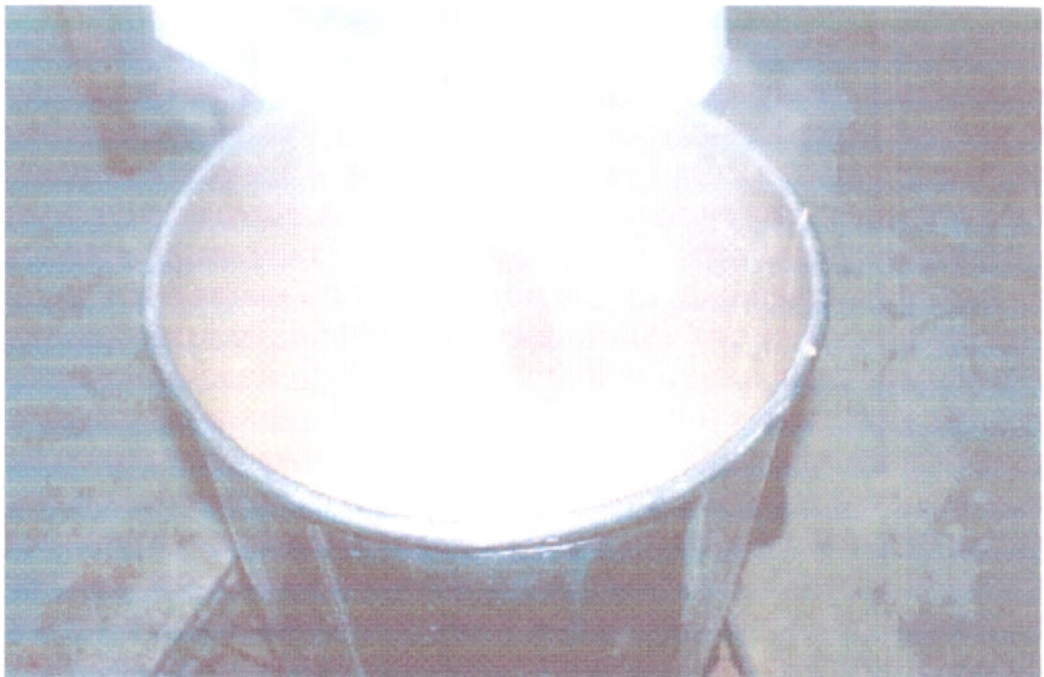
10. Pasteurización del Cremogenado

La pasteurización es un procedimiento universal aplicado en la efectiva destrucción térmica de los microorganismos patógenos en estado vegetativo que favorecen el deterioro del alimento y son nocivos para el ser humano. En nuestro caso y en el de los jugos de frutas y pastas se lo realiza llevando al producto a temperaturas de 80 – 92°C durante 30 segundos, en la misma marmita.

A niveles industriales se realiza en intercambiadores de placas utilizando como fluido calefactor vapor de agua sobrecalentado. Se realiza un tratamiento térmico de 45 segundos de duración a la temperatura de 95-97°C, o de 105-107°C, en función del pH del producto, se enfría hasta 23-25°C en otro intercambiador de placas alimentado con agua glicolada.

11. Concentración del Cremogenado

Este procedimiento se llevó a cabo debido a que las características reológicas y organolépticas del producto final no cumplían las condiciones deseadas de aspecto, consistencia, durabilidad y estabilidad. Se realizaron varias pruebas durante las tres cargas procesadas, incrementando la concentración la pasta por calentamiento a ebullición en la marmita (Evaporación abierta) a distintos grados Brix desde el rango de 10° a 13° Brix, probando el punto medio idóneo para el producto final, más adelante se estudiará con exactitud este parámetro de procedimiento, el cual se halla en un valor adecuado a 88° C durante 10 minutos. No se realizó estabilización térmica puesto que no se tenía a disposición los equipos adecuados.



12. Homogenización de la pasta

Se aplicó para repartir uniformemente ciertas propiedades físicas de la pasta como densidad, viscosidad y temperatura. Simplemente consiste en una agitación constante de la pasta durante los procedimientos térmicos hasta que se realice el envasado.

A nivel industrial se lo hace en tanques cilíndricos de gran capacidad provistos de un agitador lo suficientemente efectivo como para lograr una adecuada homogeneización de la pasta.

Estos tanques también sirven de tanques pulmón reguladores en proceso de desaireación que en nuestro caso no se pudo realizar por no disponer del equipo desaireador requerido.

Se adicionó ácido ascórbico (10mg/l) a un frasco de muestra que sería almacenado a temperatura ambiente a $12 \sim 18^{\circ} \text{C}$.

13. Envasado y Almacenamiento

El envasado se lo realizó en frascos esterilizados de vidrio de 500cc, con tapa metálica, debido a la facilidad de control visual del producto que ofrece este material. Se lo realizó en caliente directamente de la salida de la marmita a los frascos con el cerrado parcial inmediato para ser puestos en el túnel de evacuado por 3 minutos, para finalmente cerrarlos herméticamente y etiquetarlos. El rendimiento del producto fue el esperado según lo observado en otros procesos de elaboración de cremogenados, donde tiene que existir un proceso de pelado y despepitado de la fruta como es el caso de las peras, manzanas, naranjillas, duraznos, etc.



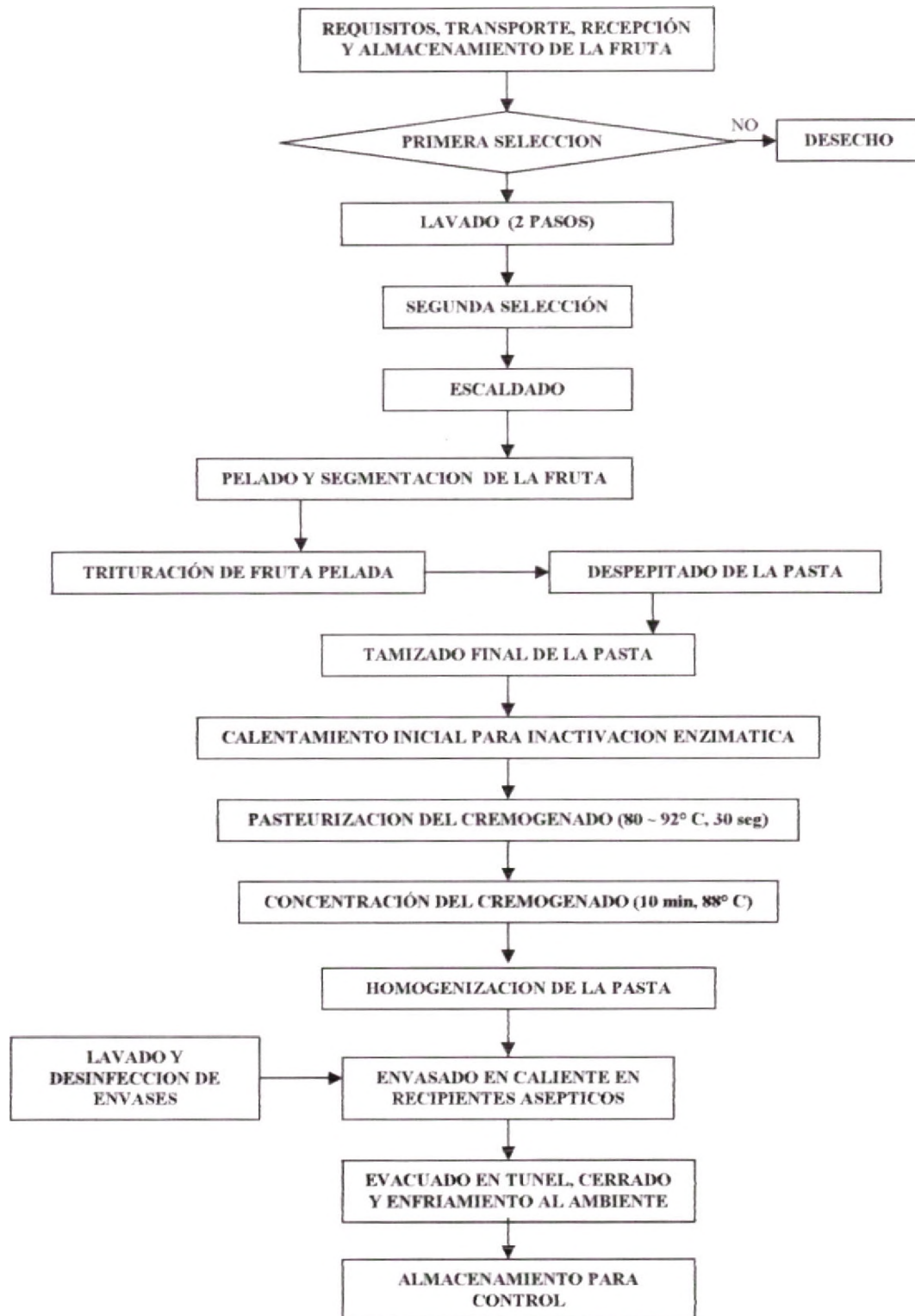
El almacenamiento para control del producto final en los frascos en cada batch mensual, fue el siguiente:

- Tres frascos almacenados en refrigeración a 2° C.
- Tres frascos almacenados en congelación a - 24° C.
- Dos frascos almacenados al ambiente (aprox. 12 ~ 18 °C).
- Un frasco de concentración a 11° Brix conservado en refrigeración
- Un frasco de concentración a 13° Brix conservado en refrigeración
- Un frasco de concentración a 15° Brix conservado en refrigeración

Antes y después de realizar toda la cadena de procedimientos anteriormente mencionados se realizó el lavado y desinfección de los equipos y limpieza general de la planta piloto.



A continuación se muestra el árbol de proceso completo de la elaboración de las muestras:



El control de los parámetros de procesamiento durante la elaboración del cremogenado fue muy preciso, evaluándose temperatura y concentración en grados Brix cada 3 minutos durante el proceso de concentración.

En la marcha del control de las muestras elaboradas cada mes, para realizar su análisis, se han clasificado por el método de conservación utilizado, en:

- Dos frascos de 400g de muestra de cremogenado para análisis y ensayos, más un frasco de control patrón, conservados en congelación a -24°C .
- Dos frascos de 400g de muestra de cremogenado para análisis y ensayos, más un frasco de control patrón, conservados en refrigeración a 2°C .
- Un frasco de 400g de muestra de cremogenado para análisis y ensayos, más un frasco de control patrón, conservados al ambiente a $12 \sim 18^{\circ}\text{C}$, y con adición de ácido ascórbico (10mg/litro).
- Un frasco de concentración a 11° Brix conservado en refrigeración
- Un frasco de concentración a 13° Brix conservado en refrigeración
- Un frasco de concentración a 15° Brix conservado en refrigeración

Al realizarse las tres cargas durante los tres meses, se obtuvieron los resultados que serán analizados a continuación.

5.1.2. Grados Brix

Sólidos solubles totales.

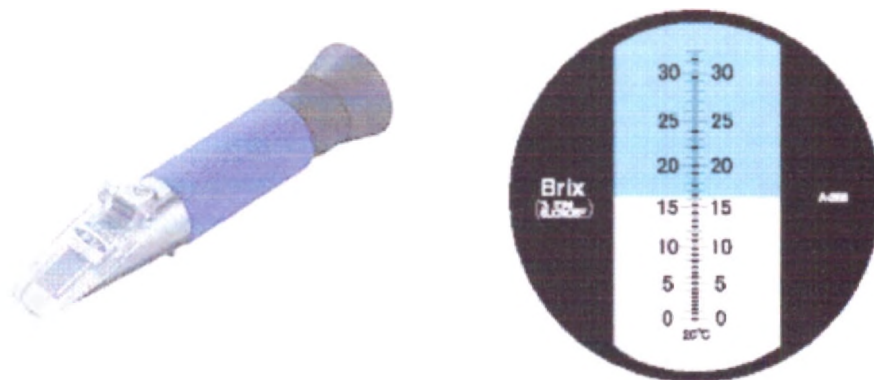
Se establece que para que un fruto pueda alcanzar un sabor agradable es necesaria la presencia de azúcares libres o combinados con otros constituyentes y se considera que durante la maduración de los frutos existe un incremento de azúcares asociado con un aumento de sólidos solubles totales y una disminución en almidón.

Por otra parte, entre los diversos factores que afectan el contenido de los sólidos solubles totales en los frutos están: la especie, el cultivar, la fertilización nitrogenada, la humedad del suelo, el estado de madurez del fruto, entre otras. También hay una relación directa entre sólidos solubles totales y el desarrollo del color.

La determinación del contenido en sólidos solubles en las muestras de control se realizó por medidas directas del índice de refracción y conversión en grados Brix en los siguientes aparatos de medida: Brixómetro portátil de la Planta piloto de Conservas Vegetales y un refractómetro de ABBE ATAGO del laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de CC.QQ., así como confrontados en los aparatos de los laboratorios de Análisis Bromatológico del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Inquieta Pérez” Regional Austro.

Las siguientes imágenes muestran a los dos aparatos con sus visores y escalas de medición:

Brixómetro de mano de uso industrial para control, escala de 0 a 30° Brix.



Refractómetro ABBE ATAGO de laboratorio, escala de 0 a 95° Brix en aumentos de 0,5°.



Las medidas se realizaron a 18 °C y arrojaron los siguientes resultados:

Muestras conservadas en Congelación a - 24°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Brix Inicial</i>	<i>Brix a los 30 días</i>	<i>Brix a los 60 días</i>	<i>Brix a los 90 días</i>
Muestra 1C – A	12,3°	12,3°	12,3°	12,3°
Muestra 1C – B	12,3°	12,3°	12,3°	12,3°
Muestra 2C – A	12,8°	12,8°	12,8°	-----
Muestra 2C – B	12,8°	12,8°	12,9°	-----
Muestra 3C – A	12,5°	12,5°	-----	-----
Muestra 3C – B	12,5°	12,5°	-----	-----

Muestras conservadas en Refrigeración a 2°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Brix Inicial</i>	<i>Brix a los 30 días</i>	<i>Brix a los 60 días</i>	<i>Brix a los 90 días</i>
Muestra 1R – A	12,3°	12,3°	12,2°	12,2°
Muestra 1R – B	12,3°	12,3°	12,3°	12,2°
Muestra 2R – A	12,8°	12,8°	12,7°	-----
Muestra 2R – B	12,8°	12,8°	12,8°	-----
Muestra 3R – A	12,5°	12,5°	-----	-----
Muestra 3R – B	12,5°	12,5°	-----	-----

Muestras conservadas al Ambiente entre 12 ~ 18°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Brix Inicial</i>	<i>Brix a los 30 días</i>	<i>Brix a los 60 días</i>	<i>Brix a los 90 días</i>
Muestra 1Am	12,3°	12,2°	12,0°	12,0°
Muestra 2Am	12,8°	12,7°	12,7°	-----
Muestra 3Am	12,5°	12,3°	-----	-----

5.1.3. pH

La medida del pH se lo realiza directamente con un pHmetro así como con el Grado Brix en un refractómetro, tiene una relación inversamente proporcional al porcentaje de acidez del alimento puesto que al aumentar este último, el pH descende. Las medidas se tomaron con un pHmetro marca HANNA Instruments.

Las mediciones se realizaron en los laboratorios de Análisis Bromatológico del CREA y de Físicoquímica de la Facultad de CC.QQ. y fueron confrontados con los resultados de los laboratorios de Análisis Bromatológico del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Inquieta Pérez” Regional Austro.

Los resultados se tabularon así:

Muestras conservadas en Congelación a - 24°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>pH Inicial</i>	<i>pH a los 30 días</i>	<i>pH a los 60 días</i>	<i>pH a los 90 días</i>
Muestra 1C – A	4,0	4,0	4,0	3,9
Muestra 1C – B	4,0	4,0	4,0	3,9
Muestra 2C – A	3,8	3,8	3,8	-----
Muestra 2C – B	3,8	3,8	3,7	-----
Muestra 3C – A	4,1	4,1	-----	-----
Muestra 3C – B	4,1	4,1	-----	-----

Muestras conservadas en Refrigeración a 2°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>pH Inicial</i>	<i>pH a los 30 días</i>	<i>pH a los 60 días</i>	<i>pH a los 90 días</i>
Muestra 1R – A	4,0	3,9	3,7	3,5
Muestra 1R – B	4,0	3,9	3,7	3,6
Muestra 2R – A	3,8	3,7	3,4	-----
Muestra 2R – B	3,8	3,7	3,4	-----
Muestra 3R – A	4,1	4,0	-----	-----
Muestra 3R – B	4,1	4,0	-----	-----

Muestras conservadas al Ambiente entre 12 ~ 18°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>pH Inicial</i>	<i>pH a los 30 días</i>	<i>pH a los 60 días</i>	<i>pH a los 90 días</i>
Muestra 1Am	4,0	3,8	3,6	3,1
Muestra 2Am	3,8	3,5	3,2	-----
Muestra 3Am	4,1	3,8	-----	-----

5.1.4. Acidez total

La acidez de un cremogenado de tomate de árbol es un parámetro de suma importancia en el control del producto final, puesto que nos indica directamente el grado de deterioro que sufre el alimento por la acción de las bacterias productoras de ácido que descomponen los azúcares y sólidos solubles en CO₂ y ácidos cítrico, málico, láctico, etc.

Los análisis de este parámetro fueron realizados en los laboratorios de Análisis Bromatológico del CREA y de la Facultad de CC.QQ. y confrontados con los resultados de los laboratorios de Análisis Bromatológico del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Inquieta Pérez” Regional Austro.

El método de análisis de este parámetro, es el de Acidez titulable seguido según la Norma INEN 381 y la Norma técnica de Métodos Físicos y Químicos para análisis de alimentos de la OFSANPAN No. (10.1.7), que indican lo siguiente:

PROCEDIMIENTO.-

Se pesó entre 4 y 5 gramos de muestra en una balanza analítica de precisión de 0.1mg en un Erlenmeyer de 100ml y se añadió 50ml de agua destilada mas 3 gotas de Fenolftaleína al 0.5%. Hecho esto por duplicado para cada muestra, se procedió a titular esta disolución con una solución de NaOH 0.1N y constante conocida. Con el volumen consumido de sosa y conociendo el mEq químico del ácido de referencia que para nuestro caso es el ácido cítrico (mEq = 0.06409), se procede a realizar los cálculos según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acido} = \frac{V_1 * N_1 * K_c * \text{mEq}_{(\text{Acido})} * 100}{P_{(\text{Muestra})}}$$

Siendo,

V_1 = Volumen de NaOH consumida en cm^3 .

N_1 = Normalidad de la NaOH.

K_c = Constante de Normalidad de la solución de NaOH.

$\text{mEq}_{(\text{Acido})}$ = Miliequivalente químico del ácido de referencia.

$P_{(\text{muestra})}$ = Peso de la muestra en gramos.

Ejemplo Acidez Inicial Muestra 1C - A:

$$\% \text{ Acido} = \frac{14,3\text{ml} \cdot 0,1\text{N} \cdot 0,94 \cdot 0,06409 \cdot 100}{4,0528\text{g}} = 2,12\%$$

Con este método, se obtuvieron los siguientes resultados:

Muestras conservadas en Congelación a - 24°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Acidez Inicial</i>	<i>Acidez a los 30 días</i>	<i>Acidez a los 60 días</i>	<i>Acidez a los 90 días</i>
Muestra 1C - A	2,12%	2,12%	2,14%	2,20%
Muestra 1C - B	2,12%	2,12%	2,14%	2,20%
Muestra 2C - A	2,20%	2,20%	2,25%	-----
Muestra 2C - B	2,20%	2,20%	2,25%	-----
Muestra 3C - A	2,14%	2,14%	-----	-----
Muestra 3C - B	2,14%	2,14%	-----	-----

Muestras conservadas en Refrigeración a 2°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Acidez Inicial</i>	<i>Acidez a los 30 días</i>	<i>Acidez a los 60 días</i>	<i>Acidez a los 90 días</i>
Muestra 1R - A	2,12%	2,16%	2,24%	2,30%
Muestra 1R - B	2,12%	2,16%	2,22%	2,30%
Muestra 2R - A	2,20%	2,26%	2,32%	-----
Muestra 2R - B	2,20%	2,28%	2,32%	-----
Muestra 3R - A	2,14%	2,20%	-----	-----
Muestra 3R - B	2,14%	2,21%	-----	-----

Muestras conservadas al Ambiente entre 12 ~ 18°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Acidez Inicial</i>	<i>Acidez a los 30 días</i>	<i>Acidez a los 60 días</i>	<i>Acidez a los 90 días</i>
Muestra 1Am	2,12%	2,51%	3,02%	3,60%
Muestra 2Am	2,20%	2,62%	3,21%	-----
Muestra 3Am	2,14%	2,40%	-----	-----

5.1.5. Actividad de agua (a_w)

En nuestro trabajo la actividad acuosa ha sido controlada únicamente en el producto terminado y envasado.

Al ser la actividad acuosa un factor que directamente controla el crecimiento bacteriano, es importante establecer su valor para asociarlo con los deterioros que se pudieran presentar a lo largo del periodo de control.

Matemáticamente la actividad del agua se vincula con ciertas propiedades fisicoquímicas, de la siguiente manera:

$$a_w = \frac{f}{f^\circ} = \frac{P}{P_o} = \frac{HR}{100} = \frac{Ma}{Ma + Ms}$$

En donde:

f	=	Fugacidad en un determinado estado a temperatura T
f°	=	Fugacidad en un estado estándar a T
HR	=	Humedad relativa
P	=	Presión de vapor del agua del alimento a T
P_o	=	Presión de vapor del agua pura a T
Ms	=	Moles de soluto (g/pm)
Ma	=	Moles de agua (g/18)

Las mediciones se realizaron en un Higroscopio de tipo Kaymont marca ro-tronic HygroskopDT, que da valores de humedad relativa porcentual, por lo que utilizando la siguiente fórmula, obtenemos el valor de la actividad de agua:

$$a_w = \frac{HR}{100} \quad ; \text{ Ejemplo: } a_w = \frac{96.2}{100} = 0.962$$

La siguiente tabla muestra los valores obtenidos de actividad de agua en las muestras:

<i>Muestras</i>	<i>Fecha de elaboración</i>	<i>Humedad Relativa (HR)</i>	<i>Actividad de Agua (aw)</i>	<i>Temperatura de la muestra (°C)</i>
<i>1er. Procesamiento</i>	21/05/2003	96,2 %	0,962	17,9° C
<i>2do. Procesamiento</i>	25/06/2003	95,9 %	0,959	18,4° C
<i>3er. Procesamiento</i>	23/07/2003	95,2 %	0,952	18,7° C

Se consideró que para la toma de las muestras la humedad relativa ambiental promedio fue de 59,9 % a una temperatura promedio de 17,9° C.

5.1.6. Fibra

La fibra en los cremogenados puede ser valorada mediante el residuo lavado y seco que resulta después de hervir el material con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio diluidos, en sucesivos lavados. Por el bajo porcentaje de grasa que posee el cremogenado no hay necesidad de desengrasado de la muestra. El procedimiento ha sido obtenido del Boletín Técnico #15 proveniente del Instituto de Investigaciones Tecnológicas de la Escuela Politécnica denominado "*Métodos Seleccionados para el Análisis de Alimentos*". (Según este documento y para nuestro caso, se han debido emplear reactivos de menor concentración y en menor cantidad de lo especificado en la Norma INEN NTE 0522 para la determinación de la Fibra cruda).

Después de digerida la muestra con solución de ácido y álcali, se lava con alcohol etílico, se seca y se pesa. Luego se calcina en una mufla hasta destrucción de la materia orgánica.

Así pues la pérdida de peso después de la calcinación, es el contenido de fibra cruda en la muestra.

Materiales y reactivos:

- Embudo Buchner
- Matraz de 250ml.
- Balanza analítica, sensibilidad 0.1mg
- Crisol de base porosa
- Mufla a 550° C
- Estufa a 100° C
- Bomba de Vacío
- Ácido Sulfúrico 0.1 N (Según Norma INEN debe ser 0.255 N)
- Hidróxido de sodio 0.1 N (Según Norma INEN debe ser 0.313 N)
- Alcohol amílico (antiespumante)
- Alcohol absoluto 95°
- Agua destilada

Procedimiento:

Se pesan de 5g de muestra con aproximación 0.1mg y se desecan en la estufa, se colocan en el matraz de 250ml., luego se agregan 50ml de H_2SO_4 0,1 N y se agita de manera que todo el material quede sumergido en el liquido, se pueden agregar unas gotas de alcohol amílico que actuará como antiespumante, se calienta de manera que la ebullición se inicie en 1 minuto y se hierve por 30 minutos evitando que las partículas del material se adhieran a las paredes del matraz quedando fuera del liquido.

Luego se filtra en caliente por un trozo de lino colocado en un embudo Buchner con una bomba de vacío.

El residuo sobre el lino se lava con agua destilada caliente, hasta cuando dé reacción ácida negativa, la que se comprueba con unas gotas de Naranja de Metilo.

Se arrastran las partículas al mismo matraz con un chorro de 50ml. de solución de NaOH 0,1 N, se agrega en caso necesario unas gotas de alcohol amílico, como antiespumante, y se hierve nuevamente por 30 minutos, evitando perder volumen de líquido, así como evitando que las partículas se peguen a las paredes del matraz.

Se filtra y se lava el residuo con agua caliente y luego con 20ml de H_2SO_4 0.1N en caliente, de nuevo con agua caliente hasta cuando dé reacción ácida negativa, luego se pasa a un crisol de base porosa se lava finalmente con 20ml de alcohol absoluto. Se lleva a la estufa durante 1 hora a $100^\circ C$, luego se enfría y se pesa y para finalizar se lleva a la mufla a $550^\circ C$ durante hora, se enfría la y se pesa nuevamente.

Cálculos:

$$\% \text{ Fibra Cruda P/P} = \frac{m1 - m2}{m} \times 100$$

m = Peso de la muestra

$m1$ = Peso del crisol + muestra seca procesada

$m2$ = Peso del crisol + muestra calcinada

Ejemplo:

$$\% \text{ Fibra Cruda P/P} = \frac{36,3504 \text{ g} - 36,2720 \text{ g}}{5,02 \text{ g}} \times 100 = 1,56\%$$

Se realizó el análisis por duplicado y los datos obtenidos de las muestras fueron:

<i>Muestras</i>	<i>Fecha de elaboración</i>	<i>Fibra Cruda porcentual (g /100g)</i>
<i>1er. Procesamiento</i>	21/05/2003	1,56
<i>2do. Procesamiento</i>	25/06/2003	1,23
<i>3er. Procesamiento</i>	23/07/2003	1,34

5.1.7. Pectinas

La pectina es un agente gelificante presente en las todos los frutos, especialmente los cítricos. La pectina se solubiliza por calentamiento con agua acidulada, evitando sobrecalentamientos que puedan provocar hidrólisis de la misma.

Adicionando alcohol absoluto, la pectina se precipita, luego se determina el porcentaje de pectina por diferencia de peso entre el papel filtro y el peso del papel filtro más la pectina precipitada, retenida en el filtro y desecada. Dividiendo esto para el peso de la muestra y multiplicando por 100 para expresar en porcentaje de masa. Este procedimiento fue realizado según la especificación de la Norma OFSANPAN No. (10.1.7).

Material es y reactivos:

- *Probeta de 50ml*
- *Pipetas de 1ml*
- *Vasos de precipitación de 250ml*
- *Estufa a 70 a 80° C*
- *Balanza analítica, sensibilidad 0.1mg*
- *Filtro con bomba de succión al vacío*
- *Papel filtro*
- *Baño María a 80° C*
- *Alcohol absoluto de 95°*
- *Nitrato de Plata al 1%*
- *Acido Clorhídrico al 25%*
- *Agua destilada.*

Procedimiento:

Se pesa exactamente 5 g. de fruta y se agitan junto con alrededor de 10ml de agua destilada y 1ml de HCl (diluido al 25%), esta mezcla se calienta por agitación a 80° C durante 10 minutos. En este proceso se disuelve la pectina

completamente, después se filtra por el embudo de succión y se lava con 100ml agua destilada y se enfría al ambiente.

Al filtrado se agrega aproximadamente 30ml de alcohol absoluto, con lo que la pectina se precipita. Dejamos el precipitado en reposo por 30 minutos entonces se filtra a través del embudo de succión por 30 minutos. El residuo se lava con alcohol absoluto hasta que el filtrado deje de dar reacción ácida debido al HCl y se prueba también con solución de AgNO_3 . Se seca luego el filtro por 3 horas en la estufa a $70 \sim 80^\circ \text{C}$, y se pesa.

Cálculos:

$$\% \text{ Pectina} = \frac{\text{Peso de pectina (g)}}{\text{Peso de la muestra (g)}} \times 100$$

Ejemplo:

$$\% \text{ Pectina} = \frac{0,0577 \text{ g}}{5,06 \text{ g}} \times 100 = 1,14\%$$

Se realizó el análisis por duplicado y los datos obtenidos de las muestras fueron:

<i>Muestras</i>	<i>Fecha de elaboración</i>	<i>Pectina porcentual (g /100g)</i>
<i>1er. Procesamiento</i>	21/05/2003	1,14
<i>2do. Procesamiento</i>	25/06/2003	1,36
<i>3er. Procesamiento</i>	23/07/2003	0,98

5.1.8. Pulpa

En el cremogenado de tomate de árbol, se obtuvo el porcentaje de la pulpa directamente por la diferencia que existe entre el 100% del peso de las muestras y la pérdida de humedad de las mismas por desecación en estufa a 80°C , es decir que la pulpa en los cremogenados de fruta constituye directamente los sólidos en suspensión, que están formados principalmente por tejido desintegrado, que contiene fibra celulósica, pectinas y partículas lipoides que contienen carotenoides y aceites esenciales, a su vez otra porción de pectinas se encuentra disuelta en el zumo.

Por lo anteriormente dicho el procedimiento es muy simple y constituye lo siguiente:

Se pesa 4 g de muestra con exactitud de 0,1mg en cápsula de vidrio y se lleva a la estufa a 80° C por tres horas. Luego se vuelve a pesar la cápsula y la muestra desecada y por diferencia de peso directa se tiene la humedad perdida, luego restando de la muestra total tenemos el extracto seco que es el contenido de pulpa en el cremogenado. Este procedimiento está especificado en la Norma INEN NTE 0382.

Los resultados fueron los siguientes:

<i>Muestras</i>	<i>Fecha de elaboración</i>	<i>Pulpa porcentual (g /100g)</i>
<i>1er. Procesamiento</i>	21/05/2003	14
<i>2do. Procesamiento</i>	25/06/2003	14,2
<i>3er. Procesamiento</i>	23/07/2003	13,8

Como un anexo a este estudio, se realizó un análisis dentro de los parámetros requeridos en el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Izquieta Pérez” Regional Austro, en uno de los procesamiento intermedios con el objetivo de evaluar si el producto era apto en el rango bromatológico para consumo humano. Los informes se los presentará en el apartado de anexos de esta tesis.

5.2. Caracterización Reológica

5.2.1. Obtención de las muestras

Las muestras estándar preparadas y almacenadas como se mencionó anteriormente, se utilizaron en todos los análisis que hemos realizado para la caracterización reológica y que se describirán a continuación.

5.2.2. Medidas reológicas

Como se mencionó en el Capítulo II, los datos reológicos pueden ser muy interesantes para modificar el proceso de elaboración o la formulación de un producto final de forma que los parámetros de textura

del alimento se encuentren dentro del rango considerado deseable por los consumidores, es por esto que hemos tratado de realizar un estudio lo más aproximado a los que se practican en la elaboración de salsas según “las instrucciones de la FDA de los EEUU obtenidas de bibliografía de Métodos de Calidad Total en el procesamiento de alimentos ”¹⁵.

Para nuestro estudio se tomarán métodos empíricos puesto que debido a la naturaleza del producto, sobretodo por su cualidad pseudoplástica, no permite el análisis por medio de los métodos fundamentales en toda su expresión, y también debido a que los instrumentos con los que se pudiera llevar a cabo una investigación más exacta, están fuera de nuestro alcance por no existir en nuestro país.

5.2.2.1. Evaluación sensorial

Clasificación de los Atributos Sensoriales

Los alimentos tienen una complejidad que está determinada no solo por el tipo de sustancias que los forman sino por las interacciones de éstas entre sí. Es por esto que resulta prácticamente imposible caracterizar un alimento tomando en cuenta solamente un aspecto específico en cuanto a composición o en cuanto a sus atributos sensoriales.

Los atributos sensoriales son, en general todo lo que se percibe a través de los sentidos. Se puede hacer una división de los atributos de acuerdo con los sentidos por los que son percibidos.

“Apariencia:

Generalmente se detecta a través de la vista que comprende el color, el brillo, la forma y puede dar una idea de textura, se asocia al término general de aspecto en la evaluación de características organolépticas.

¹⁵ (Ref. Wilbur A. and Ronald Gould, Total Quality Assurance for the Food Industries, 1993, Págs. 189-294)

Gusto:

El gusto se detecta en la cavidad oral, específicamente en la lengua, donde se perciben los 4 sabores básicos:



Cuatro sabores básicos:

- Dulce (Sweet)
- Salado (Salty)
- Amargo (Bitter)
- Agrio o Acido (Sour)

Textura:

La textura se detecta mediante el sentido del tacto, que está localizado prácticamente en todo el cuerpo. Mediante el tacto se pueden conocer las características mecánicas, geométricas y de composición de muchos materiales, incluidos los alimentos.

Aroma u Olor:

El aroma se percibe por medio del olfato, que se encuentra en la cavidad nasal, donde existe una membrana provista de células nerviosas que detectan los aromas producidos por compuestos volátiles.

Sonido:

Generalmente se detecta el sonido por medio del oído, y se le conoce por la intensidad, altura y timbre.

En la evaluación sensorial de los alimentos, cada sentido resulta ser el instrumento que proporciona una información valiosa y específica acerca de los mismos. Sin embargo, resulta muchas veces difícil el poder verbalizar y explicar la información que de éstas herramientas se obtiene, por lo que ha sido necesario, a través de diferentes técnicas de estudio, obtener información para clasificar éstos atributos de acuerdo con bases físicas y/o fisiológicas.

Existen algunos términos universales para la clasificación de los atributos sensoriales de los alimentos y otros particulares para áreas específicas.

Lo que se pretenderá es dar elementos para conocer y describir los atributos sensoriales de las muestras del producto que se presenta y analiza.”¹⁶

Características organolépticas

Se considera por estudio de las características organolépticas, aquel que se refiere a la respuesta sensible de nuestros sentidos cuando se ponen en contacto con el producto estudiado y se pudieran clasificar en:

- *Aspecto*
- *Color*
- *Olor*
- *Sabor*

Por ser este un estudio que no tiene una referencia técnica específica para cada alimento en particular, se tiene que ajustar los resultados empíricamente a lo que el tentativamente el mercado consumidor pudiera considerar como aceptable.

Cada parámetro se ha evaluado con ayuda de una encuesta a personas de diferente edad y sexo, sin experiencia en cata de alimentos y que fueron tomadas al azar entre personas que son conocidas por los autores de esta tesis. La experimentación fue realizada en su mayoría en horarios por la mañana y el cremogenado fue presentado al encuestado en un recipiente de plástico transparente de 50ml con una cuchara pequeña de 5ml, el producto estuvo a temperatura ambiente y homogenizado.

¹⁶ (Ref. Pedrero, Coutiño, Sasián, Sánchez; Evaluación Sensorial, Facultad de Química UNAM, México)

Resultados de las encuestas realizadas por degustación del producto

PUNTAJE DE CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS												
Encuestados por edades	ASPECTO			COLOR			OLOR			SABOR		
	Fluido	Esoso	Grumoso	Pálido	Normal	Oscuro	Picante	Agradable	Desagradable	Dulce	Natural	Acido / Astringente
8-15 años (10)	3	6	1	2	7	1	5	3	2	0	2	8
15-25 años (10)	2	7	1	1	9	0	2	7	1	3	4	3
25-40 años (10)	1	6	3	1	8	1	1	9	0	2	4	4
40 en adelante (10)	0	10	0	3	6	1	0	9	1	0	8	2
TOTAL	6	29	5	7	30	3	8	28	4	5	18	17
Porcentajes	15%	72,5%	12,5%	17,5%	75%	7,5%	20%	70%	10%	12,5%	45%	42,5%

Esta encuesta fue evaluada por un método matemático de proporciones:

Limites de confianza		
$L = p \pm Z_{\alpha/2} \cdot es(p)$		
es(p)= error del estimador o sea de la proporción		
$es(p)=RAIZ(p \cdot q/n) \cdot RAIZ((N-n)/(N-1))$		
$Z \cdot 0.05/2 = 1,96$		
p = proporción o probabilidad		
q = 1-p ; p = 1-q		

Los valores obtenidos para cada característica fueron:

• *Aspecto*

Edades	ASPECTO	probabilidad		probabilidad		probabilidad
Años	fluido		espeso		grumoso	
8 a 15	3	0,3	6	0,6	1	0,1
16 a 25	2	0,2	7	0,7	1	0,1
26 a 40	1	0,1	6	0,6	3	0,3
41 en adelante	0	0	10	1	0	0
Limites de confianza		95% confianza				
Años						
8 a 15				0.46 a 0.73		
16 a 25				0.6 a 0.8		
26 a 40				0.46 a 0.73		
41 en adelante				no hay duda de opinión		

• *Color*

Edades	COLOR	probabilidad		probabilidad		probabilidad
Años	Pálido		normal		oscuro	
8 a 15	2	0,2	7	0,7	1	0,1
16 a 25	1	0,1	9	0,9	0	0
26 a 40	1	0,1	8	0,8	1	0,1
41 en adelante	3	0,3	6	0,6	1	0,1
		95% confianza				
Limites de confianza						
Años						
8 a 15				0.6 a 0.8		
16 a 25				0.83 a 0.96		
26 a 40				0.73 a 0.87		
41 en adelante				0.46 a 0.73		

• **Olor**

Edades	OLOR	probabilidad		probabilidad		probabilidad
Años	picante		agradable		desagradable	
8 a 15	5	0,5	3	0,3	2	0,2
16 a 25	2	0,2	7	0,7	1	0,1
26 a 40	1	0,1	9	0,9	0	0
41 en adelante	0	0	9	0,9	1	0,1
Límites de confianza 95% confianza						
Años						
8 a 15				0.33 a 0.67		-0.067 a 0.46
16 a 25				0.6 a 0.8		
26 a 40				0.83 a 0.96		
41 en adelante				0.83 a 0.96		

• **Sabor**

Edades	SABOR	probabilidad		probabilidad		probabilidad
Años	dulce		natural		Acido/Astringente	
8 a 15	0	0	2	0,2	8	0,8
16 a 25	3	0,3	4	0,4	3	0,3
26 a 40	2	0,2	4	0,4	4	0,4
41 en adelante	0	0	8	0,8	2	0,2
Límites de confianza 95% confianza						
Años						
8 a 15				0.2 a 0.6		0.73 a 0.87
16 a 25				0.2 a 0.6		
26 a 40				0.73 a 0.87		0.2 a 0.6
41 en adelante						

De acuerdo a los cálculos con un nivel de confianza establecido en el 95%, se obtienen los siguientes resultados con respecto al producto:

- **8 a 15 años:** Espeso, color normal, olor picante, sabor ácido/astringente.
- **16 a 25 años:** Espeso, color normal, olor agradable y sabor natural.
- **26 a 40 años:** Espeso, color normal, olor agradable y sabor natural, ácido y astringente.
- **41 y adelante:** Espeso, color normal, olor agradable y sabor natural.

5.2.2.2. Estructura del alimento

Los estudios reológicos pueden aportarnos información que facilite una mejor comprensión de la estructura o de la distribución de los componentes moleculares de los alimentos, especialmente de los componentes macromoleculares, así como para predecir los cambios estructurales durante los procesos de acondicionamiento y elaboración a los que son sometidos.

5.2.2.3. Control de calidad

Las medidas de la viscosidad en continuo son cada vez más importantes en muchas industrias alimentarias con objeto de controlar el buen funcionamiento del proceso productivo, así como la calidad de las materias primas, productos intermedios y acabados.

Normas de calidad y características

1.- Características generales

Según las normas de INEN, OFSANPAN y CODEX ALIMENTARIUS nuestro producto se ha apegado a lo siguiente:

El producto deberá ser preparado con tomates de árbol maduros sanos, limpios, exentos de materia terrosa, de parásitos y de detritus animales o vegetales.

Deberá contener todos los sólidos insolubles de la parte comestible del tomate de árbol. No deberán contener sustancias extrañas a su composición normal, excepto las previstas en esta Norma.

Será tolerada la adición de sacarosa en la proporción declarada en el rótulo. Deberá estar exenta de levaduras, fermentaciones, parásitos, productos de descomposición y de otras sustancias que indiquen manipulación defectuosa en el producto.

2.- Aplicación del Control de Características Reológicas.

En el estudio de las características reológicas se deberá además de aplicar los todos los controles posibles de evaluación sensorial, el estudio completo de las características de viscosidad y/o consistencia que se pudiera aplicar en función a las condiciones posibles de medición y de los equipos

disponibles. Estos controles serán regidos según los métodos apropiados y sus valores límites estarán regidos de acuerdo a las normas nacionales o a falta de ellas de normas internacionales apropiadas.

Para nuestro caso estos métodos se rigen a la investigación de la consistencia que será tratada en los límites aprobados por la FDA de EE.UU. para la Salsa de Tomate (Ketchup) por no existir otra norma que se apegue al comportamiento de este producto.

5.2.2.4. Clasificación de los alimentos fluidos según su comportamiento reológico

Para clasificar a nuestro producto consideramos la bibliografía consultada previamente y ubicamos a los cremogenados de fruta en la categoría de los alimentos con *Comportamiento Seudoplástico* pues presenta un índice de consistencia que se manifiesta como una viscosidad aparente ($K > 0$) y un índice de comportamiento al flujo entre cero y uno ($0 < n < 1$), estos valores no han podido ser comprobados por no existir en nuestro medio los equipos necesarios para su medida.

5.2.2.5. Efecto de la Temperatura

La temperatura influye de una manera inversamente proporcional a la viscosidad, puesto que si se eleva la misma observamos una mayor fluidez del producto (baja la viscosidad y la densidad). Para efectos de este estudio, se investigó solo las muestras que fueron conservadas en refrigeración a 2° C y llevadas paulatinamente a temperaturas de 10°, 15° 20° y 25° C para observar los cambios de fluidez del producto cuando es presentado al consumidor.

Los resultados se tabularán a continuación, en el apartado de los métodos fundamentales.

5.2.2.6. Efecto de la Concentración

La concentración influye a su vez de una manera directamente proporcional a la viscosidad, puesto que si el producto es más concentrado va a presentar una mayor viscosidad y por ende una mayor densidad. Para efectos de este estudio, se investigó las siguientes muestras que fueron conservadas en refrigeración a 2° C y para su ensayo llevadas a 20° C:

- Un frasco de concentración a 11° Brix
- Un frasco de concentración a 13° Brix
- Un frasco de concentración a 15° Brix

Los resultados también se tabularán a continuación, en el apartado de los métodos fundamentales.

5.2.2.7. Métodos Empíricos

Cabe destacar que el título de este apartado ha sido modificado de “Métodos Fundamentales” a “Métodos Empíricos” puesto que no se utilizó estos métodos para la caracterización de nuestro producto, como se había propuesto en el diseño de esta Tesis.

Por tener nuestro producto un comportamiento Seudoplástico que define un parámetro de viscosidad aparente que no puede ser medido en viscosímetros convencionales como los que se tiene a disposición en nuestro país, se debe aplicar por lo tanto la medición empírica de la consistencia, considerando la norma INEN 1899 que también se aplica como requisito en la fabricación de salsas de tomate y derivados.

El método que se utilizó para medir la consistencia de nuestro producto fue con el Consistómetro de Bostwick, aplicándose la norma INEN 1899 para la Determinación de la Consistencia en Salsa de Tomate. Las pruebas con este aparato se realizaron en los laboratorios de la empresa de Desarrollo Agropecuario Cía. Anónima “DACA”, en Cuenca.

Igualmente, por no disponer de los límites de esta medición dedicados específicamente para un cremogenado de tomate de árbol, se tomarán los límites que indica la misma norma INEN y los de la FDA en el siguiente cuadro para la calificación de la calidad del producto:

Points	Consistometer Readings (cm)
U.S. Grade A	
25	4.0 - 7.0
24	7.1 - 9.0
23	9.1 - 11.0
22	11.1 - 12.0
U.S. Grade B	
21	3.8 - 3.9 or 12.1 - 13.0
20	3.6 - 3.7 or 13.1 - 13.7
19	3.4 - 3.5 or 13.8 - 14.4
18	3.0 - 3.3 or 14.5 - 15.0
Substandard	More than 15.0 less than 3.0

El procedimiento que indica la norma acoplado al método internacional será explicado a continuación:

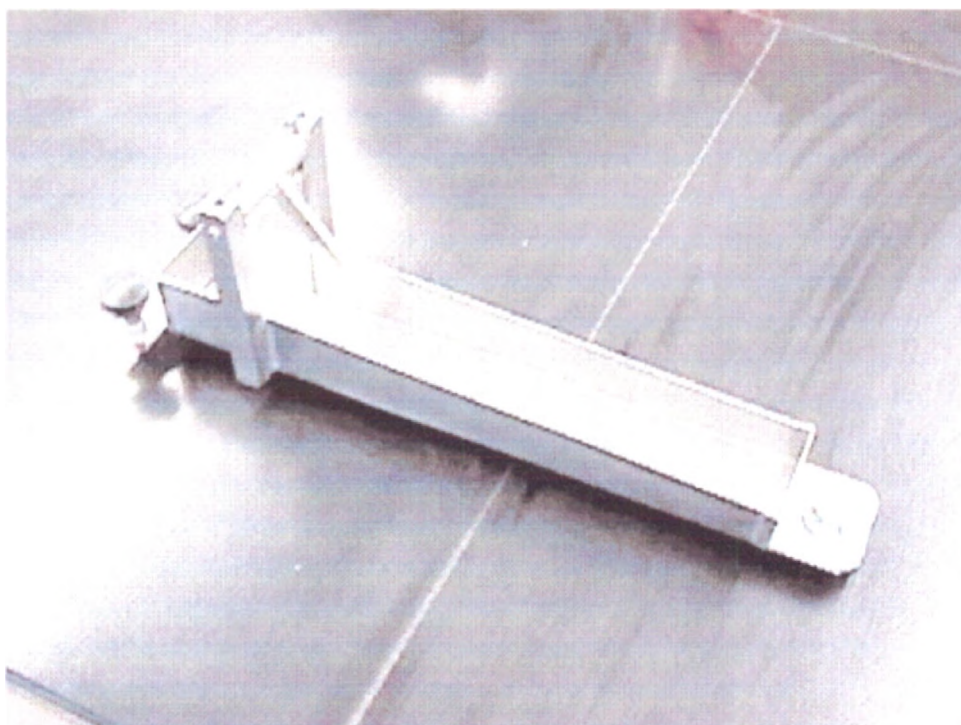
Consistencia.

“Es la capacidad que tiene una pulpa o cremogenado (material viscoso) de fluir libremente bajo su propio peso en una superficie plana en un periodo de tiempo dado.”¹⁷

Equipo.

Consistómetro de Bostwick.-

Es un instrumento usado para determinar la consistencia de materiales viscosos. Ver figura:



Descripción.

El Consistómetro de Bostwick consta de un canal de acero inoxidable bien limpio, pulido y libre de ondulaciones, provisto de una escala graduada en centímetros y cerrado en los extremos.

¹⁷ (Ref. Wilbur A. and Ronald Gould, Total Quality Assurance for the Food Industries, 1993, Pág. 332)

Uno de los extremos dispone de una cámara (reservorio) cerrada por una puerta la cual puede abrirse casi instantáneamente.

Las paredes del extremo cerrado por la puerta (cámara) deben ser cuidadosamente medidas y niveladas a lo largo de la cubierta de la cámara. El extremo más largo del instrumento es graduado en una escala de 0,5cm de paso, empezando en 1cm de la puerta; las graduaciones son numeradas en centímetros.

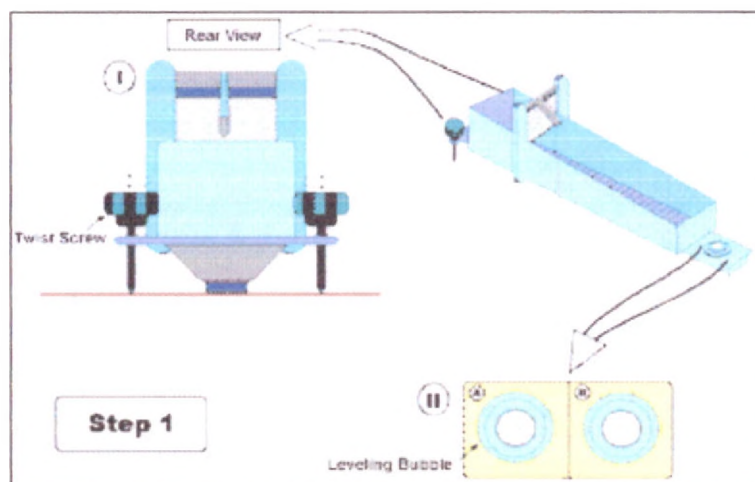
El instrumento dispone de burbujas de nivel y dos tornillos para ajustar el nivel en el extremo de la cámara; la puerta se desliza verticalmente entre los dos soportes acanalados.

Material es requeridos:

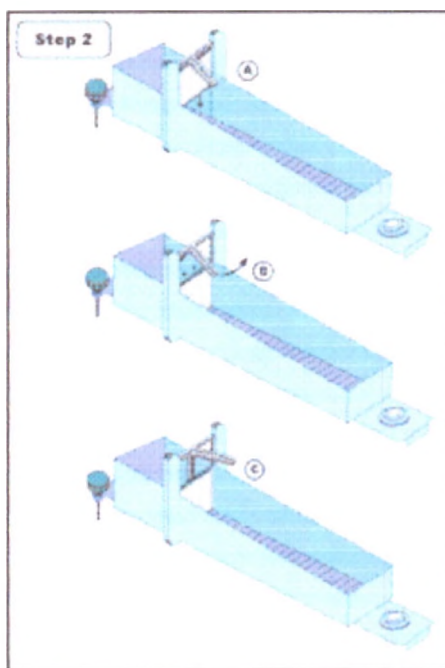
- **Consistómetro de Bostwick**
- **Cronómetro digital (0.01s)**
- **Espátula**
- **Termómetro (0 - 30°C)**

Procedimiento.

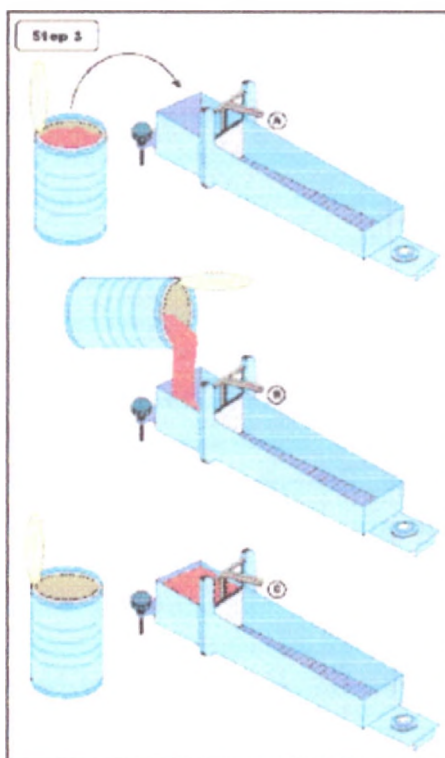
1. Se nivela el consistómetro con ayuda de los tornillos niveladores, aseguramos que éste no se mueva y se encuentre a la temperatura especificada por el ensayo:



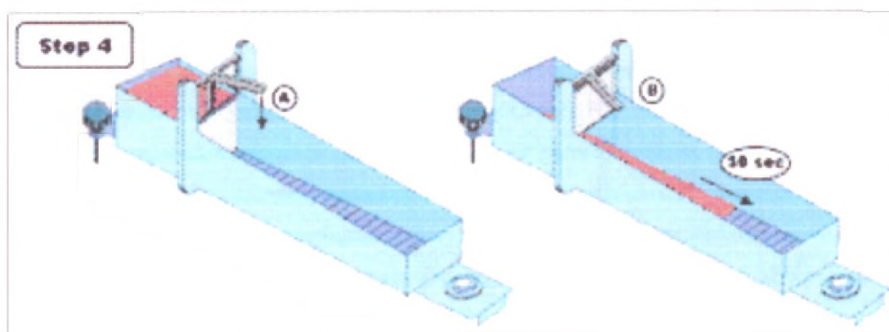
2. Se ajusta la temperatura de la muestra a $20 \pm 1^\circ \text{C}$ o a la temperatura que se desee, mezclamos cuidadosamente con ayuda de una espátula, procurando no incorporar burbujas de aire; Se empuja la compuerta hacia la parte inferior en oposición a la fuerza de los resortes como amartillándolo y se bloquea el sistema con el gatillo:



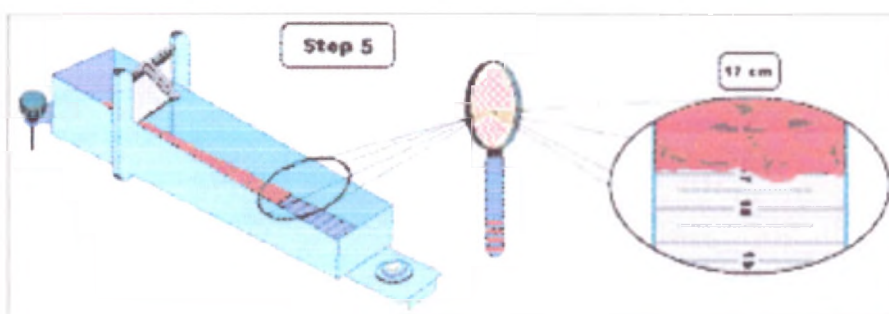
3. Cargamos la muestra (generalmente 75ml) en el reservorio de la parte superior del aparato, si se pasa la cantidad de muestra, con ayuda de la espátula enrasamos la parte superior de la masa del producto a ensayar, removiendo el exceso.



4. Se suelta súbitamente la puerta de la cámara, a la vez que se empieza a tomar el tiempo con el Cronómetro Digital y se deja que el producto fluya libremente por el canal, por un tiempo especificado de 30 segundos.



5. Treinta segundos después de abierta la puerta se lee en la escala marcada en el fondo del instrumento la distancia máxima en centímetros que alcanzó el producto y apuntamos este valor.



6. Limpiamos y secamos el instrumento antes de repetir, con otra porción de muestra, el procedimiento descrito.
No se lava con agua caliente, cuando el instrumento va a ser usado inmediatamente, ya que esto modificaría la temperatura especificada por el ensayo.
Se debe secar bien el instrumento antes de cada medición puesto que el agua, puede bajar el coeficiente de fricción en la superficie del instrumento y arrojar resultados falsos.
7. Si las lecturas varían en más de 0,2cm, repetimos la determinación una tercera vez o hasta que se obtenga un resultado satisfactorio.

Informe de resultados.

En el informe de resultados se debe indicar el promedio de dos o más determinaciones sin tomar en cuenta aquellas que hubieran dado un resultado anormal. Expresamos el resultado en centímetros con una cifra decimal.

5.2.3. Cálculo de los parámetros reológicos

Como se utilizó en nuestro caso un método empírico y por ser el único disponible, los datos obtenidos se interpretan de manera directa como una variación de las propiedades originales del producto apenas se encuentra elaborado y su variación a lo largo del tiempo, de igual manera con respecto a la temperatura y la concentración:

Los resultados obtenidos a lo largo del tiempo para cada batch fueron los siguientes (prueba durante 30 segundos y a 20° C):

<i>Muestras</i>	<i>Fecha de elaboración</i>	<i>Grado Brix</i>	<i>Consistencia inicial (cm)</i>	<i>Consistencia a los 30 días (cm)</i>	<i>Consistencia a los 60 días (cm)</i>	<i>Consistencia a los 90 días (cm)</i>
<i>1er. Procesamiento</i>	21/05/2003	12,3°	8,5	8,5	8,5	9
<i>2do. Procesamiento</i>	25/06/2003	12,8°	7,5	7,5	7,5	-
<i>3er. Procesamiento</i>	23/07/2003	12,5°	8	8	-	-

Los resultados obtenidos con variación de la temperatura en las muestras fueron (prueba a 30 segundos):

<i>Muestras</i>	<i>Grado Brix</i>	<i>Consistencia inicial a 2° C (cm)</i>	<i>Consistencia a 10° C (cm)</i>	<i>Consistencia a 15° C (cm)</i>	<i>Consistencia a 20° C (cm)</i>	<i>Consistencia a 25° C (cm)</i>
<i>1er. Procesamiento Muestra 1R - B</i>	12,3°	6	8	8,5	8,5	9,5
<i>2do. Procesamiento Muestra 2R - B</i>	12,8°	3	5	7	7,5	9
<i>3er. Procesamiento Muestra 3R - B</i>	12,5°	4	6,5	7	8	9

Los resultados obtenidos con variación de la concentración en las muestras fueron (prueba a 30 segundos y a 20°C):

<i>Muestras</i>	<i>Consistencia a 11° Brix (cm)</i>	<i>Consistencia a 13° Brix (cm)</i>	<i>Consistencia a 15° Brix (cm)</i>
<i>1er. Procesamiento</i>	9	7,5	4,5
<i>2do. Procesamiento</i>	9,5	7,5	4,5
<i>3er. Procesamiento</i>	9	7,5	4

Como un dato adicional a este estudio se obtuvo las densidades del producto en cada carga de proceso siguiendo el método del Picnómetro y balanza analítica, que indica la Norma INEN NTE 391:

$$D_{20^{\circ}C} = \frac{m3 - m2}{m1}$$

Siendo:

m1 = Masa de agua destilada

m2 = Masa del picnómetro vacío

m3 = Masa del picnómetro + muestra de cremogenado

D_{20° C} = Densidad relativa a 20° C

Ejemplo: (1er. Procedimiento)

$$D_{20^{\circ}C} = \frac{47,2248 \text{ g} - 21,2301 \text{ g}}{25,0778 \text{ g}} = 1,0365 \text{ g/cm}^3$$

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

<i>Muestras</i>	<i>Fecha de elaboración</i>	<i>Grado Brix</i>	<i>Densidad relativa (g/cm³)</i>
<i>1er. Procesamiento</i>	21/05/2003	12,3°	1,0365
<i>2do. Procesamiento</i>	25/06/2003	12,8°	1,0669
<i>3er. Procesamiento</i>	23/07/2003	12,5°	1,0455

5.3. Caracterización Microbiológica

El contenido de elementos nutritivos del cremogenado permite el crecimiento de hongos, levaduras y bacterias, su pH relativamente bajo y su elevada actividad acuosa, junto con su elevado potencial de oxido-reducción y escasa capacidad estabilizadora, favorece el crecimiento bacteriano.

En este producto, los principales contaminantes serán bacterias del género *Erwinia* de la familia *Enterobacteriaceae*, hongos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Botrytis*, *Rhizopus*, así como levaduras de tipo *Saccharomyces* y *Cándida*.

En la fruta como tal, se encuentran especialmente hongos de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Botrytis* y otros.

Se ha realizado el análisis microbiológico utilizando los métodos especificados para detección de los siguientes grupos de microorganismos:

- Aerobios Mesofílicos (Contaje Total)
- Mohos y levaduras
- Coliformes Totales y Fecales

Estos parámetros son los necesarios y suficientes para optar para un registro sanitario del producto, otorgado por el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Inquieta Pérez” Regional Austro.

Los análisis han sido realizados en los laboratorios de análisis microbiológico del Centro de Reconversión Económica del Azuay, Cañar y Morona Santiago “CREA” en la ciudad de Cuenca así como confrontados con los resultados obtenidos en análisis realizados en el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical “Leopoldo Inquieta Pérez” Regional Austro.

La mayoría de los resultados se presentan con unidades “ufc/g” (unidades formadoras de colonias/gramo).

5.3.1. Toma de muestras

Preparación de las Muestras:

Se analizaron las muestras elaboradas de cada proceso una vez por mes, para así verificar la estabilidad del producto.

El método preliminar a cada análisis es el siguiente:

Se realiza una dilución 1:100 adicionando 1ml del cremogenado a 99ml de agua peptonada estéril en condiciones ambientales, y de ahí se procede a tomar las diferentes muestras para cada método de identificación de microorganismos.

5.3.2. Identificación de microorganismos

Contaje Total (Aerobios Mesofílicos)

- Se inocula por duplicado 1ml de cada dilución en cajas Petri estériles.
- Se agrega 15ml de Agar papa recuento en placa (PCA) fundido y enfriado a 45°C.
- Homogenizamos cuidadosamente el contenido de las cajas.
- Incubamos las cajas invertidas a 32° C durante 3 días.
- Se hace el conteo de las colonias desarrolladas y se expresa los resultados como número de bacterias por gramo de muestra.

Los resultados obtenidos fueron:

Muestras conservadas en Congelación a - 24°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1C – B	1500	120	120	140	160
Muestra 2C – B	1800	150	150	160	-----
Muestra 3C – B	1300	150	140	-----	-----

Muestras conservadas en Refrigeración a 2°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1R – B	1500	120	320	580	650
Muestra 2R – B	1800	150	280	350	-----
Muestra 3R – B	1300	150	300	-----	-----

Muestras conservadas al Ambiente entre 12 ~ 18°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Recuento Inicial en Placa de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1Am	1500	120	1300	3560	5600
Muestra 2Am	1800	150	1520	4520	-----
Muestra 3Am	1300	150	960	-----	-----

El límite de tolerancia dado por el INHMT “LIP” de Guayaquil indica un número máximo de 10000 ufc/g, para este parámetro microbiológico.

Hongos y Levaduras

- Se coloca 1ml de cada dilución en cada una de dos cajas Petri estériles.

- Se añade 15ml de Agar dextrosa acidificado fundido y enfriado a 45° C.
- Se homogeniza el contenido de las cajas e incubarlas a 23° C durante 3 - 5 días.
- Se cuenta por separado los hongos y levaduras desarrollados y se presenta como número de hongos o levaduras por gramo de muestra.

Los resultados obtenidos fueron:

Muestras conservadas en Congelación a - 24°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1C – B	28	0	0	0	0
Muestra 2C – B	32	0	0	0	-----
Muestra 3C – B	20	0	0	-----	-----

Muestras conservadas en Refrigeración a 2°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1R – B	28	0	0	5	8
Muestra 2R – B	32	0	2	5	-----
Muestra 3R – B	20	0	0	-----	-----

Muestras conservadas al Ambiente entre 12 ~ 18°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Mohos y Levaduras de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1Am	28	0	4	10	19
Muestra 2Am	32	0	9	12	-----
Muestra 3Am	20	0	8	-----	-----

El límite de tolerancia dado por el INHMT "LIP" de Guayaquil indica un número máximo de 50ufc/g. para este parámetro microbiológico.

Coliformes Totales y Fecales (E. Coli)

- Añadimos 1ml de la dilución en cada una de dos cajas de Petri.
- Se agrega Agar Rojo Violeta Bilis fundido y enfriado a 45° C.
- Homogenizamos y dejar solidificar completamente el agar.
- Se añade 5ml de agar para formación de una segunda capa.
- Dejamos enfriar e incubamos las placas invertidas a 35°C durante 24 horas.
- Contamos las colonias rojas de 0.5mm. de diámetro desarrolladas en la superficie.
- Se presentan los resultados como coliformes por gramo de producto.
- Incubamos la mitad de los tubos a 35° C por 24 horas.
- La otra mitad de los tubos, incubar a 44° C durante 24 horas.

- La formación de gas en los tubos incubados a 35° C, confirman la presencia del grupo coliforme.
- La formación de gas en los tubos incubados a 44° C, confirman la presencia de coliformes fecales.

Los resultados obtenidos del análisis de Coliformes Totales fueron:

Muestras conservadas en Congelación a - 24°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Coliformes Totales de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1C – B	12	0	0	0	0
Muestra 2C – B	14	0	0	0	-----
Muestra 3C – B	8	0	0	-----	-----

Muestras conservadas en Refrigeración a 2°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Coliformes Totales de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1R – B	12	0	0	0	0
Muestra 2R – B	14	0	0	0	-----
Muestra 3R – B	8	0	0	-----	-----

Muestras conservadas al Ambiente entre 12 ~ 18°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Coliformes Totales de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1Am	12	0	0	0	2
Muestra 2Am	14	0	0	2	-----
Muestra 3Am	8	0	0	-----	-----

El límite de tolerancia para coliformes totales dado por el INHMT “LIP” de Guayaquil indica que debe haber absoluta ausencia de unidades formadoras de colonias para este parámetro microbiológico.

Los resultados obtenidos del análisis de Coliformes Fecales fueron:

Muestras conservadas en Congelación a - 24°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Coliformes Totales de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1C – B	0	0	0	0	0
Muestra 2C – B	0	0	0	0	-----
Muestra 3C – B	0	0	0	-----	-----

Muestras conservadas en Refrigeración a 2°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Coliformes Totales de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1R – B	0	0	0	0	0
Muestra 2R – B	0	0	0	0	-----
Muestra 3R – B	0	0	0	-----	-----

Muestras conservadas al Ambiente entre 12 ~ 18°C.

<i>No. de Muestra</i>	<i>Coliformes Totales de muestra sin pasteurizar (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra recién procesada (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 30 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 60 días (ufc/g)</i>	<i>Coliformes Totales de muestra a los 90 días (ufc/g)</i>
Muestra 1Am	0	0	0	0	0
Muestra 2Am	0	0	0	0	-----
Muestra 3Am	0	0	0	-----	-----

El límite de tolerancia para coliformes fecales (E. Coli) dado por el INHMT "LIP" de Guayaquil indica que debe haber absoluta ausencia de unidades formadoras de colonias de para este parámetro microbiológico.

5.3.3. Determinación del carácter potencialmente alterante de los microorganismos encontrados

Al encontrarse un número máximo de 19ufc/g de levaduras y mohos en una de las muestras conservadas al ambiente, después de un periodo de 90 días, se considera que este valor está por debajo del límite máximo permitido por el INHMT "LIP" de Guayaquil y por ende serían estos microorganismos los únicos potencialmente alterantes en el cremogenado. Por ello se considera que el estudio del comportamiento de las levaduras durante el almacenamiento será el más indicado para evaluar este parámetro.

5.3.4. Seguimiento del comportamiento de las levaduras durante el almacenamiento del cremogenado de tomate de árbol

El crecimiento de microorganismos, como las levaduras, en cremogenados de tomate de árbol, produce alteraciones en su composición y características organolépticas que deprecian su calidad. Una de las principales alteraciones que tienen lugar como consecuencia del desarrollo de levaduras es la producción de CO₂ y alcohol como resultado de la fermentación de los azúcares.

Con el fin de evaluar el alcance de estas alteraciones y de establecer una relación entre la dinámica poblacional de las levaduras y el consumo de los azúcares por parte de éstas, se ha estudiado la forma y los parámetros de las curvas de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, y también se ha realizado un seguimiento de la evolución del contenido en sólidos solubles y del pH del cremogenado.

Con este fin, se han llevado a cabo experiencias inoculando cultivos puros de *Saccharomyces cerevisiae* en cremogenado de tomate de árbol y, simultáneamente a algunos recuentos microbianos iniciales y finales, se han tomado medidas del pH y del contenido de azúcares.

Los resultados obtenidos se reflejarán en las figuras que se incluyen el apartado de resultados y conclusiones, donde se representa la evolución de la población microbiana, del pH y del contenido en azúcares frente al tiempo. Estas experiencias se han llevado a cabo bajo una idéntica condición de temperatura y de concentración inicial de microorganismos.

El contenido en sólidos solubles o azúcares presenta, en todos los casos, una evolución que se encuentra directamente relacionada con la curva de crecimiento de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* correspondiente. Así, cuanto más rápido es el aumento de la población de levaduras, tanto más rápido es el consumo de azúcares.

Al estar, pues, el contenido de azúcares ligado al crecimiento de las levaduras, resulta evidente que las variables temperatura y concentración inicial de microorganismos influirán sobre la evolución del contenido en azúcares de una forma similar a como lo hace sobre la población microbiana.

Cultivo de las levaduras y preparación de los inóculos para curva de crecimiento referencial

La propagación de las cepas de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* se realizó por siembra superficial en placas Petri con medio Agar Extracto de malta, este último está preparado de la siguiente manera:

Agar extracto de malta (MEA)

Composición:

Extracto de malta	30 g
Peptona micológica	5 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 litro
Ajustar pH del medio a 5,4.	

Las placas se incubaron en estufa a 28° C durante 48-72 horas, hasta que se observó un desarrollo adecuado de las colonias. A partir de las colonias crecidas se prepararon suspensiones de levaduras en agua destilada estéril.

Con la ayuda de una cámara de recuento se obtuvo cada vez la concentración de las suspensiones preparadas.

Finalmente, una vez conocida la concentración de la suspensión se realizaron las diluciones correspondientes hasta obtener la concentración de inóculo deseada que para nuestro caso fue de una concentración de 10pfc/ml.

Los datos de crecimiento de las levaduras en Agar extracto de malta, obtenida de esta manera a lo largo de 90 días y conservada a 2° C (temperatura de refrigeración) en los laboratorios de Análisis Microbiológico del CREA, son los siguientes:

Tiempo (Días)	Número de Muestras y Valor del Recuento (pfc/ml)			
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>
<i>0</i>	10	10	10	10
<i>7</i>	10	10	11	11
<i>14</i>	11	20	70	90
<i>21</i>	90	95	100	100
<i>28</i>	220	350	710	800
<i>35</i>	1200	1202	1500	2100
<i>42</i>	9200	9660	10030	10006
<i>49</i>	25040	32300	50320	49630
<i>56</i>	56890	45562	63040	123010
<i>63</i>	92400	290060	550014	620000
<i>70</i>	622100	630290	1600200	1680000
<i>77</i>	1020060	2036000	2156000	3900800
<i>84</i>	1863000	2000530	2290500	2635000
<i>91</i>	1235000	1140000	1520000	1760020

Se extrajo el valor de Log10 para graficar la curva en el Capítulo de conclusiones:

Tiempo (Días)	Número de Muestras y Valor del Recuento (Log10 pfc/ml)				Puntos según la Regresión
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	
<i>0</i>	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
<i>7</i>	1,000	1,000	1,041	1,041	1,021
<i>14</i>	1,041	1,301	1,845	1,954	1,535
<i>21</i>	1,954	1,978	2,000	2,000	1,983
<i>28</i>	2,342	2,544	2,851	2,903	2,660
<i>35</i>	3,079	3,080	3,176	3,322	3,164
<i>42</i>	3,964	3,985	4,001	4,000	3,988
<i>49</i>	4,399	4,509	4,702	4,696	4,576
<i>56</i>	4,755	4,659	4,800	5,090	4,826
<i>63</i>	4,966	5,462	5,740	5,792	5,490
<i>70</i>	5,794	5,800	6,204	6,225	6,006
<i>77</i>	6,009	6,309	6,334	6,591	6,311
<i>84</i>	6,270	6,301	6,360	6,421	6,338
<i>91</i>	6,092	6,057	6,182	6,246	6,144

Se realizaron análisis cada 7 días a lo largo de un total de 90 días, para dar un total de 14 análisis.

Tomando una medida de 1ml de suspensión de levaduras de concentración 10pfc/ml y llevando a tubos con 9ml de cremogenado de tomate de árbol que

fueron conservados a 2° C, se obtuvieron los datos de recuento de levaduras que se combina con los resultados de la investigación del grado Brix y pH de las muestras, la tabla es la siguiente:

<u>Tiempo (Días)</u>	<u>Recuento de levaduras (pfc/ml)</u>	<u>Grado Brix</u>	<u>pH</u>
0	10	12.2°	4.0
7	10	11.9°	4.0
14	60	12.0°	4.2
21	102	11.7°	4.0
28	460	11.5°	4.0
35	1940	11.7°	3.9
42	8700	11.7°	3.9
49	51030	12.1°	3.8
56	56600	12.0°	3.7
63	412080	11.8°	3.9
70	1012000	11.8°	3.9
77	1830500	11.8°	3.8
84	2055550	10.8°	3.8
91	1520070	11.0°	3.9

Se extrajo también el valor de Log10 para graficar la curva en el Capítulo de conclusiones:

<u>Tiempo (Días)</u>	<u>Recuento de levaduras (Log10 pfc/ml)</u>	<u>Grado Brix</u>	<u>pH</u>
0	1,000	12.2	4.0
7	1,000	11.9	4.0
14	1,778	12.0	4.2
21	2,009	11.7	4.0
28	2,663	11.5	4.0
35	3,288	11.7	3.9
42	3,940	11.7	3.9
49	4,708	12.1	3.8
56	4,753	12.0	3.7
63	5,615	11.8	3.9
70	6,005	11.8	3.9
77	6,263	11.8	3.8
84	6,313	10.8	3.8
91	6,182	11,0	3.9

El crecimiento de las levaduras puede ser evaluado en su mecanismo por medio de modelos matemáticos variados, el más utilizado en la actualidad es el Modelo de Gompertz, que se describe a continuación:

Modelo de Gompertz

“El modelo más ampliamente utilizado para describir el crecimiento microbiano es la función de Gompertz”.¹⁸

Se trata de una ecuación sigmoideal asimétrica de cuatro parámetros que viene dada por la expresión:

$$L(t) = A + C \exp (\exp(B(t - M)))$$

Siendo:

L(t)= logaritmo decimal del recuento de microorganismos a un tiempo t log(pfc/ml).

A = logaritmo decimal del recuento inicial de microorganismo log(pfc/ml).

C = logaritmo decimal del incremento final de microorganismos log(pfc/ml).

M = tiempo al cual el cultivo alcanza su máximo ratio de crecimiento (h).

B = ratio de crecimiento relativo a M log(pfc/ml)/h.

t = tiempo (h)

A partir de los parámetros A, B, C y M de la ecuación de Gompertz es posible calcular otros parámetros de crecimiento derivados como son:

RCE = Ratio de crecimiento exponencial

TG = Tiempo de generación

FL = Fase de latencia

DMP = Densidad máxima de población

El modelo se lo aplica mediante las siguientes ecuaciones asociadas:

$$RCE = \frac{BC}{e} \left[\log(pfc/ml)/h \right]$$

$$TG = \frac{(\log 2)e}{BC} \left[(h) \right]$$

$$FL = M - \frac{1}{B} \left[(h) \right]$$

¹⁸ (Ref. Cayré, Maria E., Validación y comparación de modelos de crecimiento microbiano. 2001)

$$\text{DMP} = A + C [\log(\text{pfc/ml})]$$

Este modelo ha sido muy utilizado últimamente por varios autores para describir la cinética de crecimiento en diversas especies bacterianas aisladas de alimentos, entre ellas tenemos: *Salmonella* y *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*. Sin embargo la bibliografía existente sobre modelización de poblaciones de mohos y levaduras es mucho más escasa.

La aplicación de este modelo en nuestro trabajo servirá para obtener datos del crecimiento de las levaduras en ambos medios de cultivo y compararlos.

5.4. Caracterización Cinética en el Deterioro

La caracterización cinética del deterioro de las muestras debe ser evaluada desde el punto de vista de la pérdida del color original de la muestra estandarizado de acuerdo a un tono de color anaranjado específico.

La cuantificación de la variación del color se lo realiza por medida de la absorbancia en un espectrofotocolorímetro, evaluando la curvas de absorbancia en rangos de entre 400 ~ 490nm.

5.4.1. Preparación de las muestras

Para estudiar el pardeamiento no enzimático en el cremogenado de tomate de árbol se utilizaron muestras con concentración de sólidos solubles de 12,3° Brix provenientes de la primera carga de proceso, así pues, se han evaluado las muestras que han sido conservadas en refrigeración durante los 90 días de almacenamiento, puesto que presentan un deterioro mas uniforme a lo largo del tiempo, no muy influenciado por los microorganismos y su grado Brix es de 12,3° que es el más idóneo para la dilución que debió ser llevada acabo.

Las muestras se diluyeron en una relación 10:1 en una solución de sacarosa con un grado Brix de 12,3°, igual que la muestra original para que no haya una reducción del contenido de azúcares por dilución. Luego se resto el valor de medida del blanco aportado por esta solución a las medidas que presentaban las muestras.

Luego se filtró las disoluciones para obtener un liquido clarificado que pueda ser analizado sin turbidez en el espectrofotocolorímetro.

Se tomó la medida de color cada 10 días para observar la evolución del color a lo largo del tiempo.

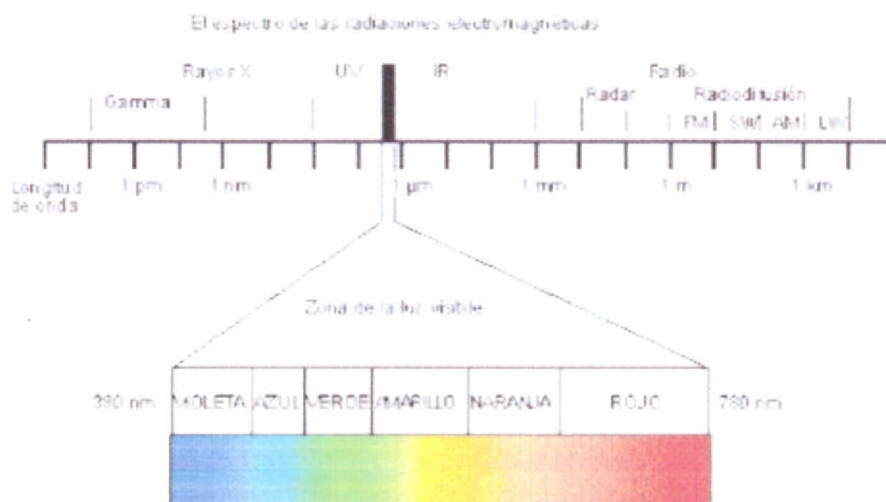
5.4.2. Tratamiento térmico

Las muestras antes de ser diluidas, y filtradas se sometieron a un tratamiento térmico a 92° por pocos segundos para inactivar cualquier posible reacción de pardeamiento enzimático remanente cuando se pongan en contacto con el oxígeno del aire en su dilución, esto tiene como objetivo el asegurar que la medición de la evolución del color sea referida a pardeamientos no enzimáticos.

5.4.3. Medida del color por reflectometría

La medida de la absorbancia que fue aplicado utiliza el aparato denominado “Espectrofotocolorímetro” y trabaja cuantificando valores de absorbancia y porcentaje de transmitancia en los rangos de luz del espectro visible.

El rango de medida de absorbancia que puede leer este aparato está especificado en el siguiente cuadro de los espectros de radiaciones electromagnéticas, los valores comprendidos entre 380 y 780m son los colores que el ojo humano puede ver, y el intervalo de 400 ~ 490 que van desde los colores Amarillo verdoso - Amarillo – Naranja – Rojo aseguran una medición dentro de lo esperado. Luego se establecerá la medida más adecuada de absorbancia para nuestro caso.



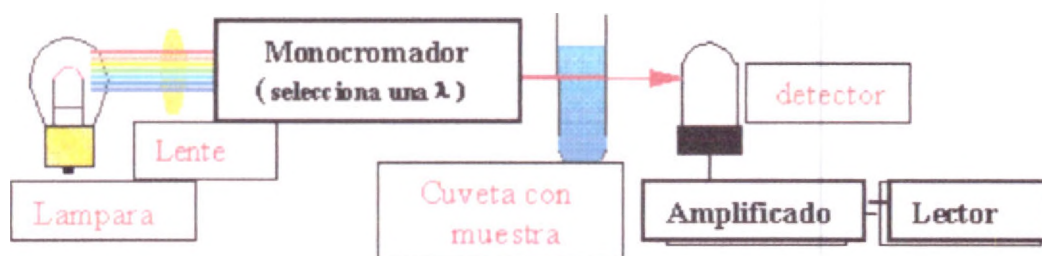
A su vez, las longitudes de onda de estos colores se distribuyen de la siguiente manera:

<i>LONGITUD DE ONDA DE LA ABSORCIÓN MÁXIMA (nm)</i>	<i>COLOR ABSORBIDO</i>	<i>COLOR OBSERVADO</i>
380-420	Violeta	Amarillo-verdoso
420-440	Azul-violeta	Amarillo
440-470	Azul	Naranja
470-500	Verde-azuloso	Rojo
500-520	Verde	Púrpura
520-550	Verde-amarillento	Violeta
550-580	Amarillo	Azul-violeta
580-620	Naranja	Azul
620-680	Rojo	Verde-azuloso
680-780	Púrpura	Verde

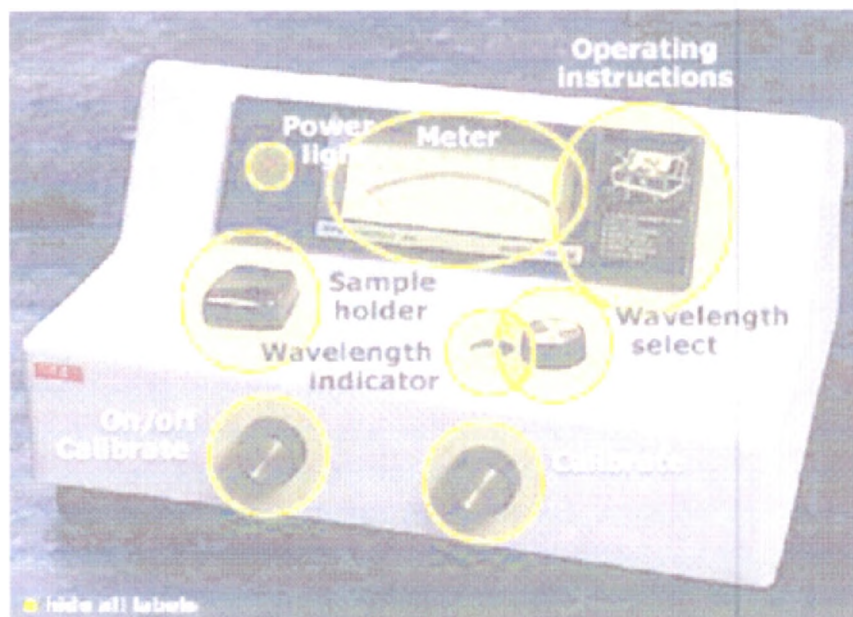
Procedimiento de Medida de la Absorbancia

El Espectrofotocolorímetro.-

Es un aparato ampliamente utilizado en casi todos los laboratorios donde se requiere una cuantificación de medidas del espectro de luz visible que puedan ser referidas a variables de tipo concentración, turbidez, etc. Su principio de funcionamiento está esquematizado en el siguiente gráfico con gran sencillez para su rápida comprensión:



La figura a continuación da una descripción de las partes y controles del espectrofotocolorímetro utilizado que es el SPECTRONIC 20 de la casa MILTON ROY COMPAÑY:



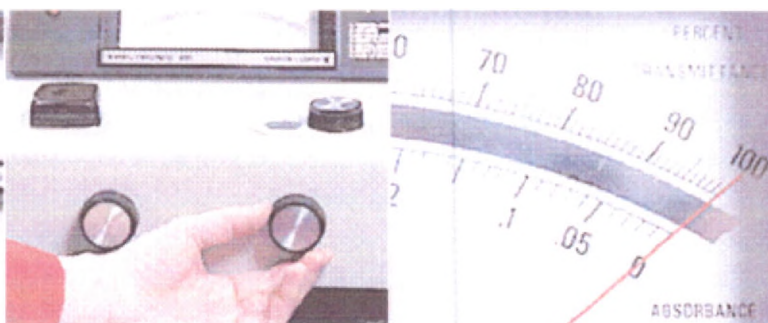
Método de medición:



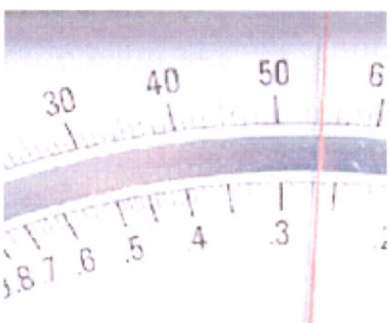
1. Se enciende el aparato con la perilla inferior izquierda y se lo deja cantar por 10 minutos.
2. Ajustamos con la perilla superior derecha el valor de absorbancia deseado para realizar la medición.
3. Elegimos con la perilla inferior izquierda si hacemos la medición de absorbancia o % de transmitancia. Se debe corregir el error de paralelismo con el tornillo al lado de la escala



4. Para realizar el encendido del aparato se utiliza una solución de agua destilada en la celda de medida, esta debe ser limpiada muy prolijamente antes de colocarlo en la cámara de medición. Luego con la perilla inferior derecha se lleva la aguja al 100% de transmitancia.



5. Después de calibrado el aparato podemos colocar las muestras en el mismo y tomar las medidas necesarias, limpiando las celdas de medida cada vez que se van a introducir en la cámara de medición.



Resultados obtenidos de la medición de las muestras preparadas

Los resultados obtenidos son los siguientes, se han tabulado ya restando el respectivo valor del blanco a cada valor:

<i>Longitud de Onda 400nm</i>	
<i>Muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
Blanco (Sacarosa 12,3° Brix)	0,01
Muestra inicial de proceso	0,29
Muestra a los 10 días	0,29
Muestra a los 20 días	0,3
Muestra a los 30 días	0,3
Muestra a los 40 días	0,3
Muestra a los 50 días	0,3
Muestra a los 60 días	0,3
Muestra a los 70 días	0,35
Muestra a los 80 días	0,38
Muestra a los 90 días	0,42

<i>Longitud de Onda 420nm</i>	
<i>Muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
Blanco (Sacarosa 12,3° Brix)	0,01
Muestra inicial de proceso	0,38
Muestra a los 10 días	0,38
Muestra a los 20 días	0,4
Muestra a los 30 días	0,42
Muestra a los 40 días	0,43
Muestra a los 50 días	0,45
Muestra a los 60 días	0,46
Muestra a los 70 días	0,5
Muestra a los 80 días	0,5
Muestra a los 90 días	0,52

<i>Longitud de Onda 450nm</i>	
<i>Muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
Blanco (Sacarosa 12,3° Brix)	0,01
Muestra inicial de proceso	0,39
Muestra a los 10 días	0,39
Muestra a los 20 días	0,41
Muestra a los 30 días	0,43
Muestra a los 40 días	0,46
Muestra a los 50 días	0,47
Muestra a los 60 días	0,48
Muestra a los 70 días	0,51
Muestra a los 80 días	0,52
Muestra a los 90 días	0,53

<i>Longitud de Onda 470nm</i>	
<i>Muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
Blanco (Sacarosa 12,3° Brix)	0,02
Muestra inicial de proceso	0,34
Muestra a los 10 días	0,34
Muestra a los 20 días	0,35
Muestra a los 30 días	0,36
Muestra a los 40 días	0,4
Muestra a los 50 días	0,41
Muestra a los 60 días	0,43
Muestra a los 70 días	0,47
Muestra a los 80 días	0,49
Muestra a los 90 días	0,51

<i>Longitud de Onda 490nm</i>	
<i>Muestra</i>	<i>Absorbancia</i>
Blanco (Sacarosa 12,3° Brix)	0,02
Muestra inicial de proceso	0,3
Muestra a los 10 días	0,3
Muestra a los 20 días	0,32
Muestra a los 30 días	0,32
Muestra a los 40 días	0,36
Muestra a los 50 días	0,38
Muestra a los 60 días	0,39
Muestra a los 70 días	0,42
Muestra a los 80 días	0,42
Muestra a los 90 días	0,43

Los valores tabulados en conjunto necesarios para la elaboración de un gráfico comparativo son:

Valores de Absorción en las Lecturas					
Longitudes de Onda	400	420	450	470	490
Muestra inicial de proceso	0,29	0,38	0,39	0,34	0,3
Muestra a los 10 días	0,29	0,38	0,39	0,34	0,3
Muestra a los 20 días	0,3	0,4	0,41	0,35	0,32
Muestra a los 30 días	0,3	0,42	0,43	0,36	0,32
Muestra a los 40 días	0,3	0,43	0,46	0,4	0,36
Muestra a los 50 días	0,3	0,45	0,47	0,41	0,38
Muestra a los 60 días	0,3	0,46	0,48	0,43	0,39
Muestra a los 70 días	0,35	0,5	0,51	0,47	0,42
Muestra a los 80 días	0,38	0,5	0,52	0,49	0,42
Muestra a los 90 días	0,42	0,52	0,53	0,51	0,43

En el Capítulo VI serán evaluados estos resultados graficando las respectivas curvas y obteniendo los órdenes de reacción y parámetros cinéticos que correspondan a la curva que tenga la longitud de onda más representativa en el deterioro del cremogenado de tomate de árbol.

Capítulo VI

“Resultados obtenidos y estudio de factibilidad de elaboración del producto a nivel Industrial”

“Resultados obtenidos y estudio de factibilidad de elaboración del producto a nivel Industrial”

6.1. Resultados de la caracterización físico-química, del comportamiento reológico, estudio microbiológico, y modelos cinéticos de deterioro en el cremogenado de tomate de árbol

6.1.1. RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA EN EL CREMOGENADO DE TOMATE DE ARBOL.

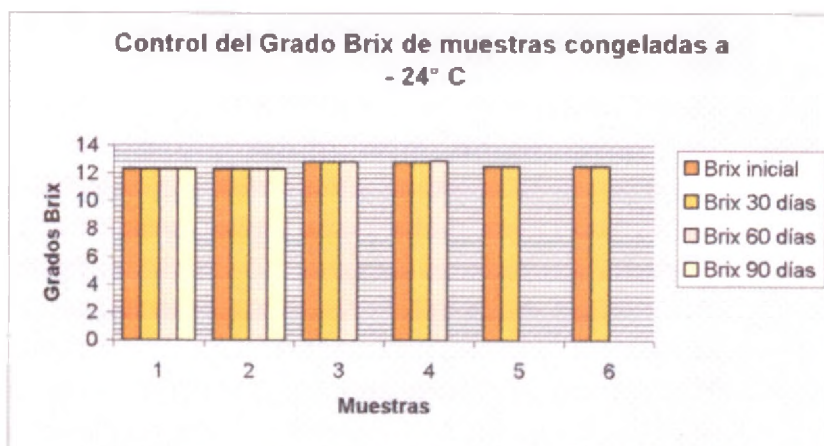
Grados Brix. (Sólidos solubles totales)

El análisis del Grado Brix es uno de los procedimientos más notables para estandarizar el producto en una línea de procesamiento, puesto que será uno de los indicadores que asociarán las características organolépticas y las reológicas.

Los resultados obtenidos fueron:

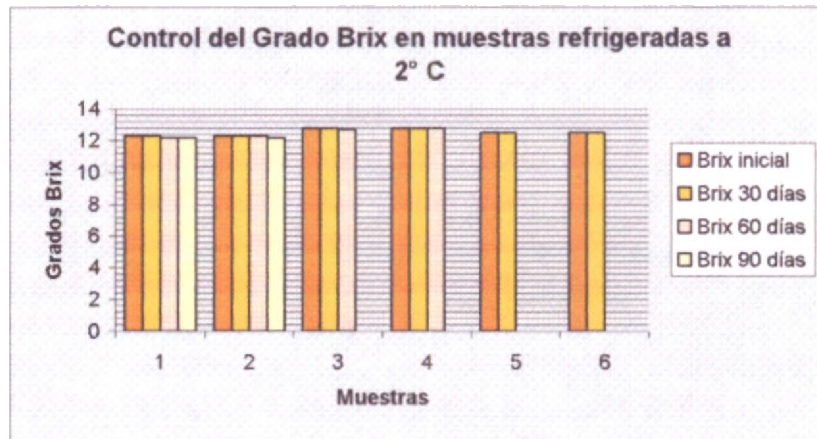
Muestras en Congelación:

En las muestras congeladas no se nota una variación del grado Brix a lo largo del tiempo, debido a que no hay cambios físico-químicos ni microbiológicos que afecten al producto por la baja temperatura.



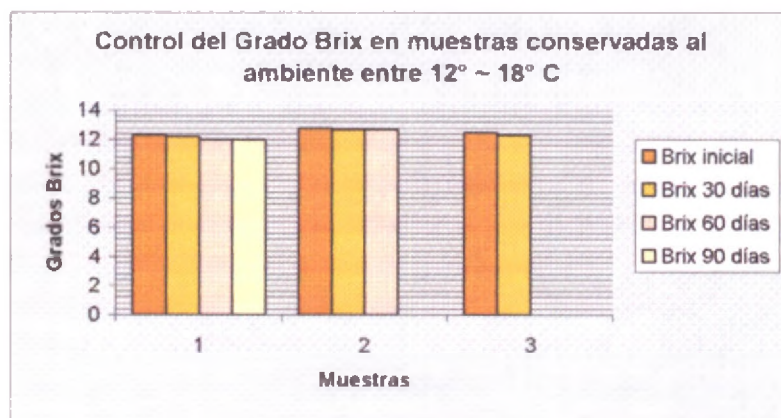
En Refrigeración:

Se observa un mínimo descenso del grado Brix a partir de los 60 días de conservación.



Al Ambiente:

Se observa un descenso del grado Brix a partir de los 30 días de conservación y continúa a lo largo del tiempo, esto se debe a que las bacterias, hongos y levaduras consumen los azúcares y sólidos solubles, generando gases y subproductos, tales como alcoholes.



pH

El pH, así como el grado Brix, es un indicador de sencilla obtención que nos muestra el deterioro del producto a lo largo del tiempo, es inversamente proporcional al parámetro de la acidez.

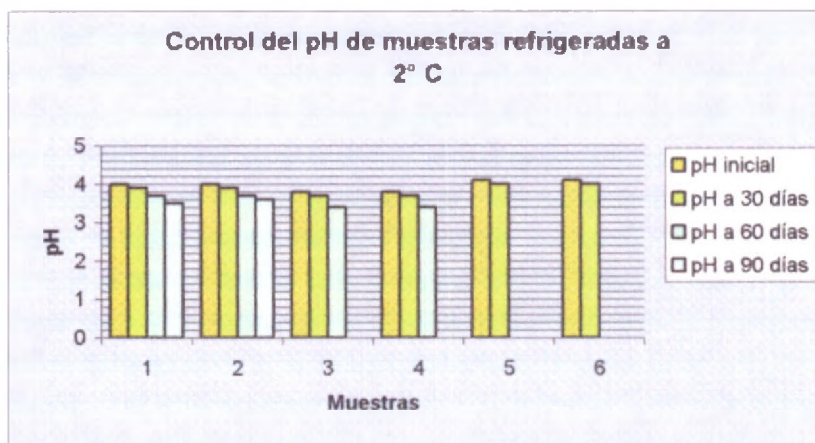
En congelación:

No hay un cambio del pH hasta los 90 días y es ínfimo.



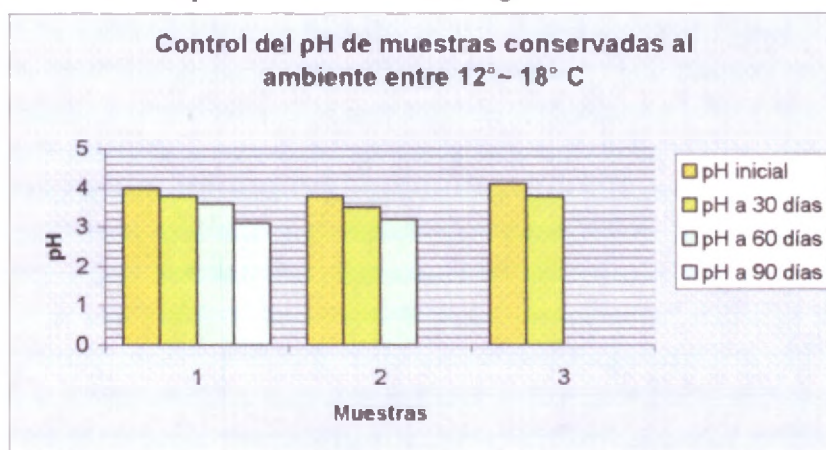
En refrigeración:

Se observa un descenso del pH a partir de los treinta días de conservación y se descende linealmente en pequeña proporción.



Al Ambiente:

Se observa un descenso notable progresivo del pH debido a la acidificación del medio por acción microbiológica.

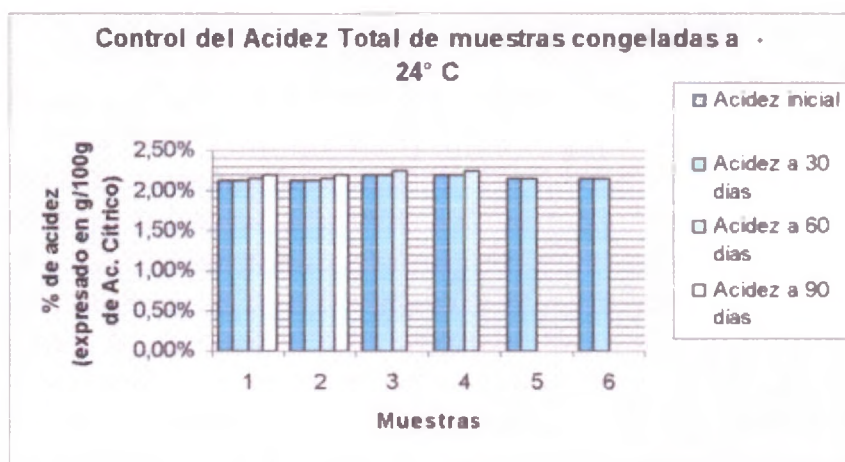


Acidez Total

La acidez total expresada en g/100g de Acido Cítrico, es un factor de control muy importante aunque de obtención más compleja que los anteriores parámetros, puesto que requiere un análisis por titulación. Está directamente vinculado con un incremento de actividad microbiana.

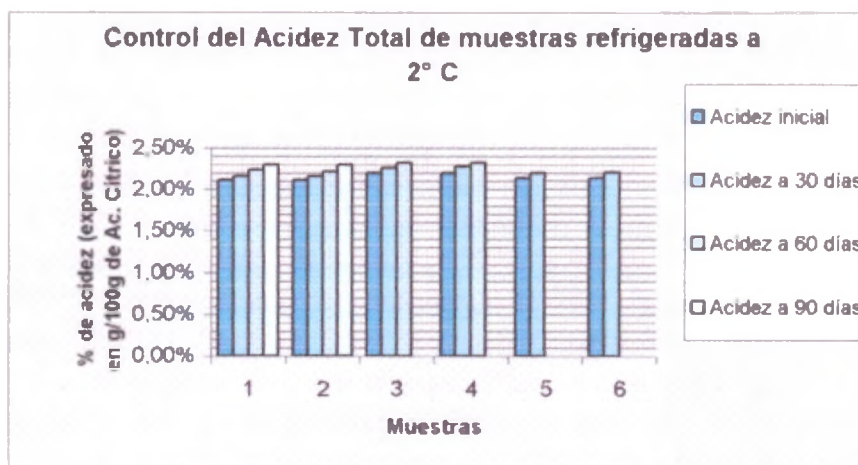
En congelación:

No se observa un mayor incremento de este factor, por ser las condiciones de conservación muy buenas. A los 90 días se observó un incremento de tan solo 0,08%.



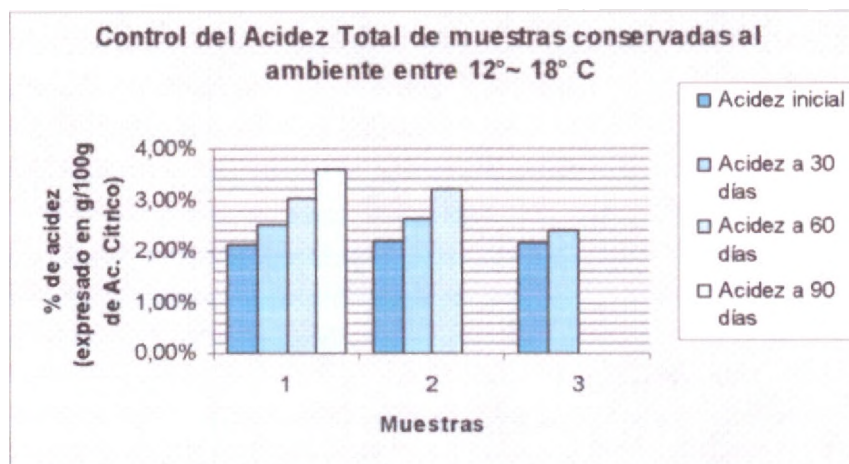
En refrigeración:

El incremento de la Acidez es ligeramente más notorio y a lo largo de 90 días presenta un aumento de 0,18%.



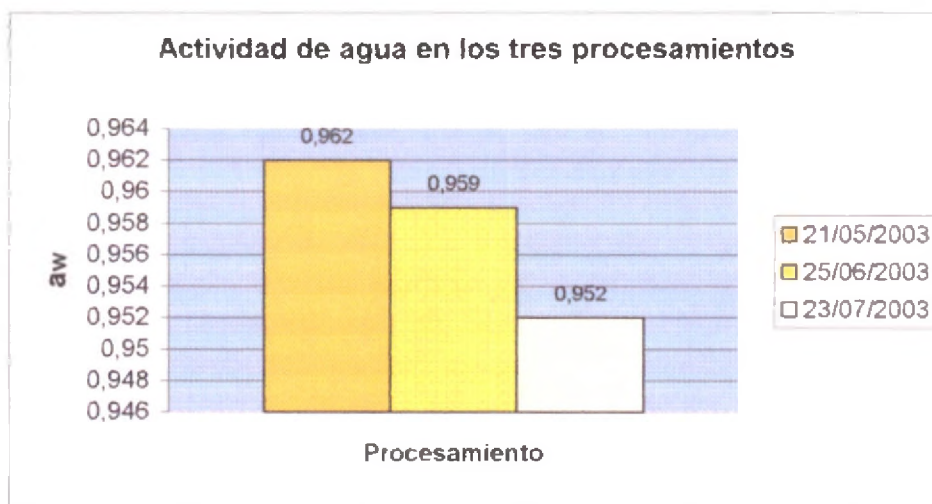
Al Ambiente:

En estas condiciones se observa un aumento pronunciado y lineal de la acidez, pues se tiene una diferencia de 1,48% en 90 días de conservación.



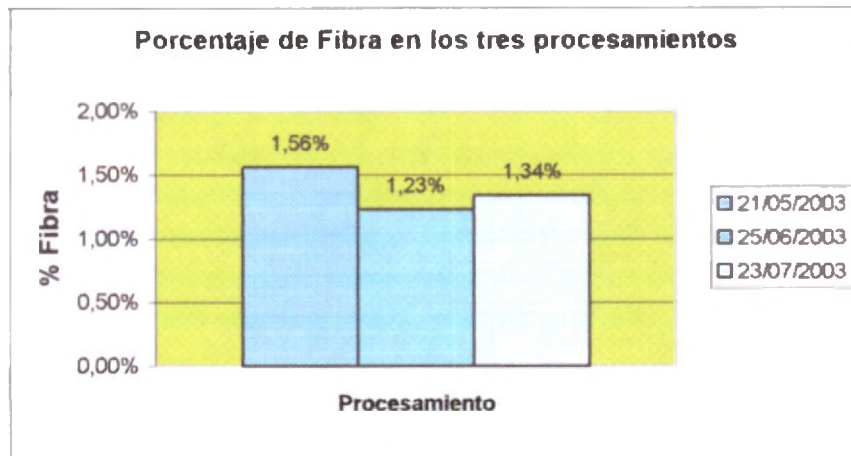
Actividad de agua (aw)

La actividad del agua es una propiedad físico-química de los alimentos muy importante pues define el comportamiento del producto frente al deterioro por acción enzimática y microbiológica, a mayor actividad acuosa en un producto, mayor probabilidad de descomposición. Se obtuvo el dato individual en cada batch producido.



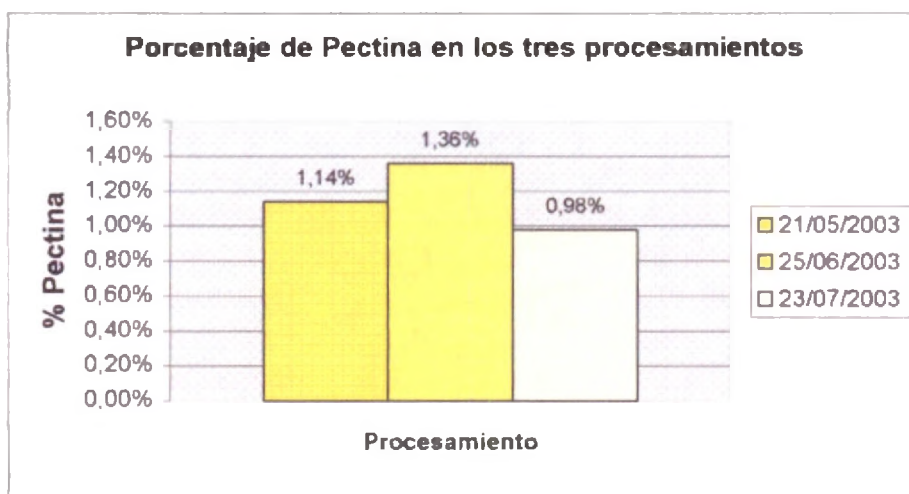
Fibra

Como un parámetro de obtención por análisis bromatológico es un dato aislado de cualquier cambio físico-químico y/o microbiológico. Es válido para tablas nutricionales.



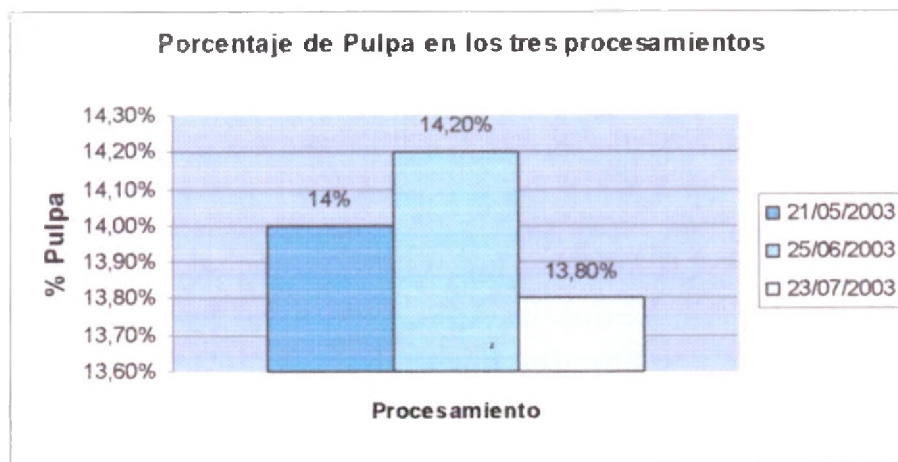
Pectina

La pectina presente en el Cremogenado de tomate de árbol es al igual que el dato de la fibra, un valor de la tabla de composición química/nutricional del producto. Puede asociarse con las características de dureza y unión de la cáscara en la materia prima, que se presentarán durante el proceso de escaldado.



Pulpa

Básicamente la pulpa es el extracto seco del producto, es el conjunto de pectinas, fibras, carbohidratos, minerales, etc. que queda después de la desecación. Es un valor que pudiera servir para obtener un estimado del rendimiento de la materia prima antes de su procesamiento.



6.1.2 RESULTADOS DEL ESTUDIO DE EVALUACIÓN SENSORIAL DEL CREMOGENADO DE TOMATE DE ÁRBOL.

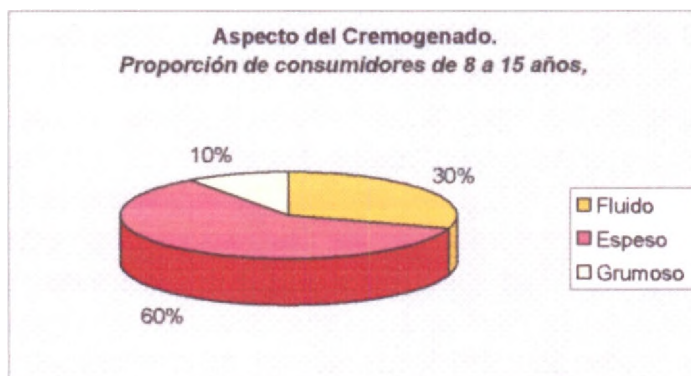
Los resultados se han expresado graficando porcentualmente las proporciones resultantes en cada característica sensorial y dividiéndolas por edades de los encuestados.

ASPECTO

La característica de aspecto del producto es una interesante fuente de datos de consideración de la consistencia y cualidades de fluidez del producto que se presenta al consumidor.

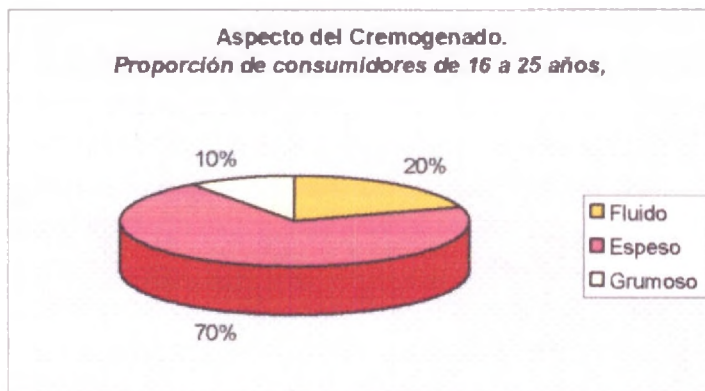
8 a 15 años:

Un buen porcentaje de personas de corta edad opinan que el producto presenta una característica de aspecto espeso y denso, algo fluido y poco grumoso.



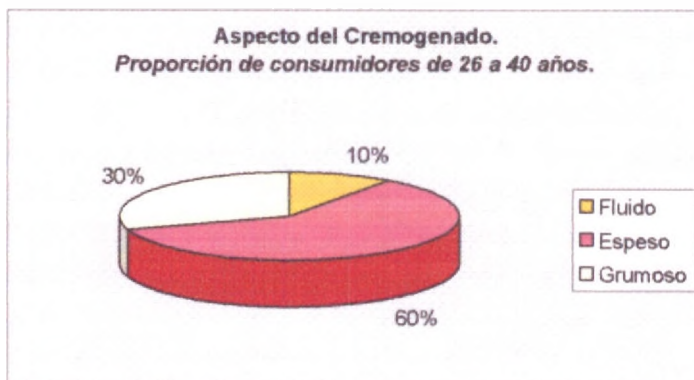
16 a 25 años:

Al igual que el caso anterior la opinión de las personas jóvenes encuestadas coincide en que el producto tiene una apariencia espesa, medianamente fluida y poco grumosa.



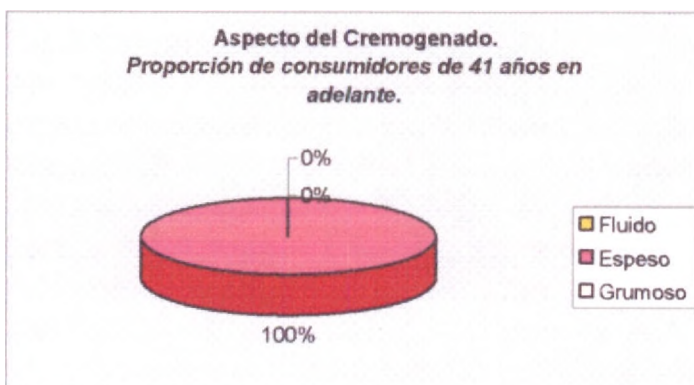
26 a 40 años:

El producto según la población encuestada tiene un aspecto espeso, poco fluido y relativamente grumoso.



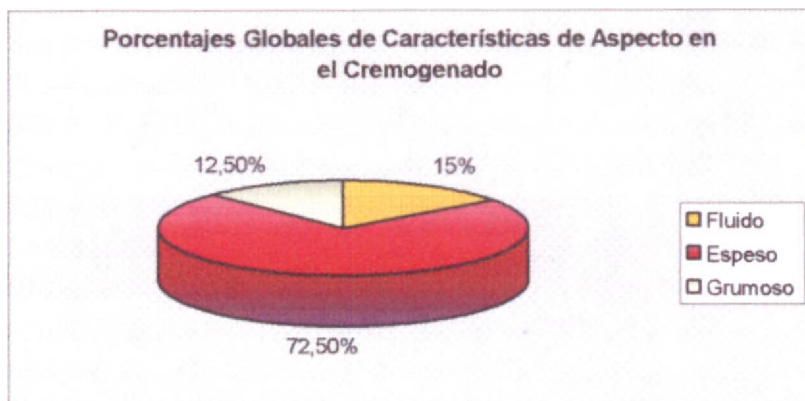
41 años en adelante:

La población de personas mayores encuestadas coincide absolutamente en que el producto tiene una calidad espesa.



Global:

El resultado global de toda la población encuestada define la característica del producto como espeso, ligeramente fluido y poco grumoso.

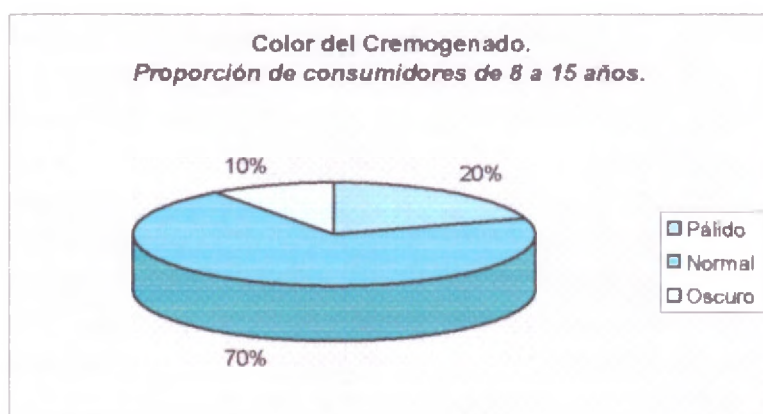


COLOR

El color es una característica organoléptica de gran sensibilidad y que es muy importante por ser lo que primero observa el consumidor al momento de la compra del producto, puede transmitir cualidades de frescura, estabilidad y agrado visual (producto apetecible) inmediatamente, si el envase lo permite.

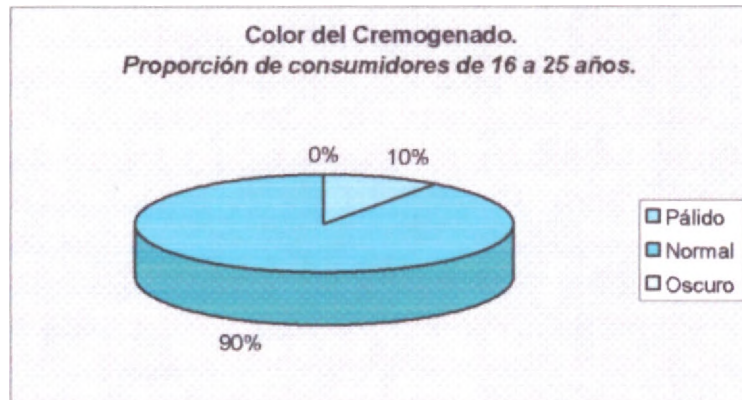
8 a 15 años:

En la población infantil encuestada se obtiene un resultado positivo de observación de color mayoritariamente natural, algo pálido y muy pocos tienden a sugerir que es oscuro.



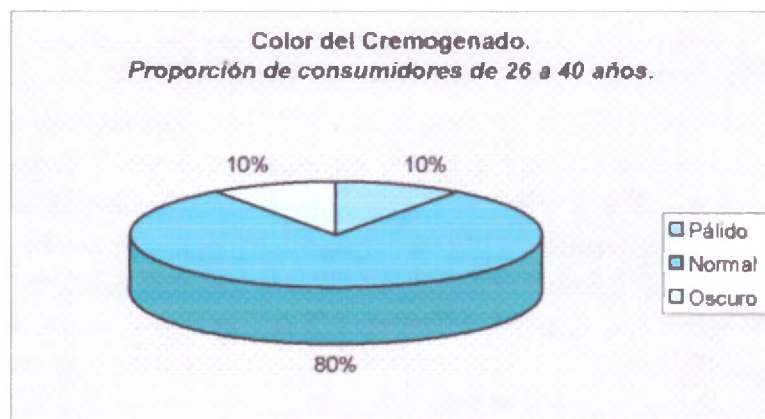
16 a 25 años:

Entre los jóvenes la opinión deriva a un color natural del producto casi absoluta y pocos piensan que es pálido.



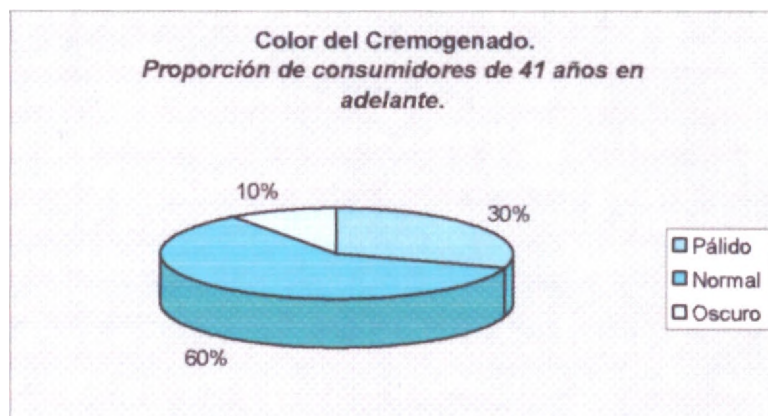
26 a 40 años:

En la opinión de adultos se observa una tendencia casi total a expresar que el producto tiene un color normal y una minoría se divide equitativamente a que es pálido u oscuro.



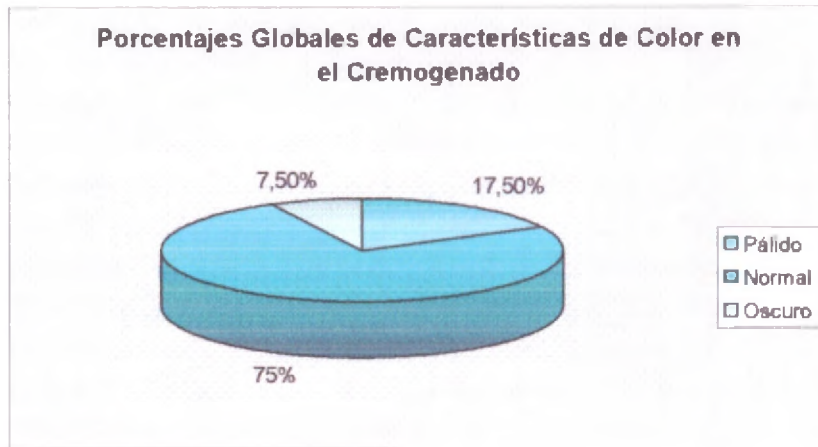
41 años en adelante:

La población mayor de edad se divide en que el color del cremogenado es normal, algo pálido y muy poco oscuro.



Global:

El resultado global indica que la población encuestada mayoritariamente cree que el producto tiene un color normal, pocos piensan que es pálido y una mínima cantidad aprecia al producto como oscuro.

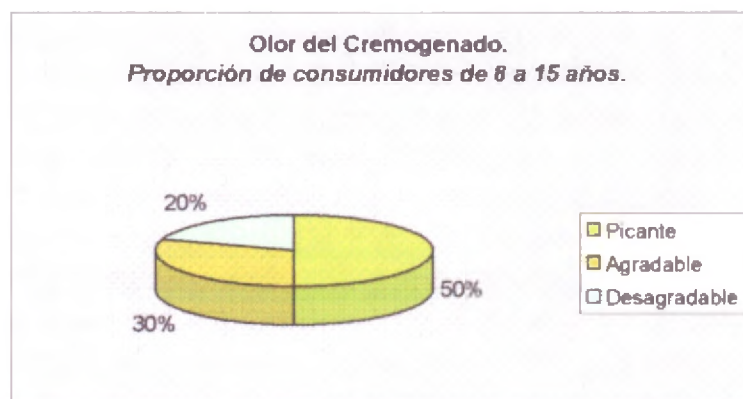


OLOR

Es quizá la característica más importante que otorga un indicio de estado de frescura del producto al consumidor, pues cualquier cambio bioquímico o microbiológico en el alimento se manifestará con una alteración del olor natural del producto.

8 a 15 años:

La mitad de los encuestados cree que el producto tiene una característica olfativa picante, mientras que la otra mitad se divide que tiene un olor agradable mayormente y algunos piensan que es desagradable.



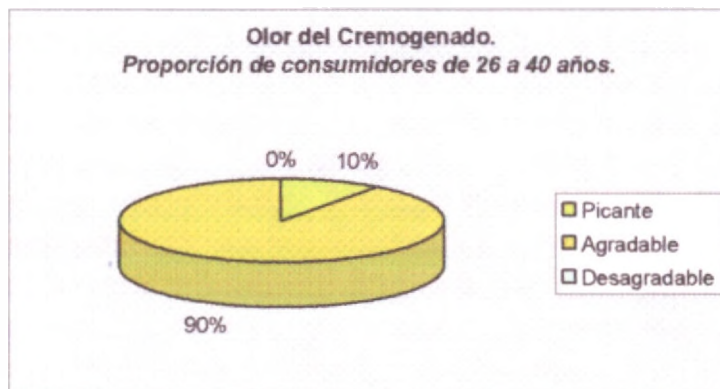
16 a 25 años:

La población juvenil opina mayoritariamente que el producto posee un olor agradable, algo picante y muy poco desagradable.



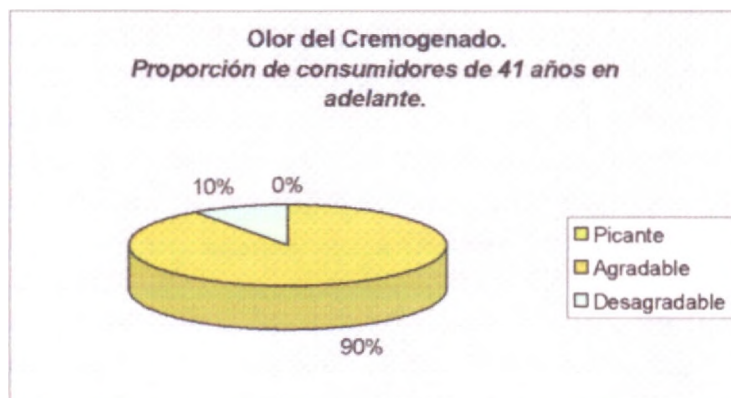
26 a 40 años:

La población adulta opina casi en su totalidad que el producto tiene un olor muy agradable, ligeramente picante.



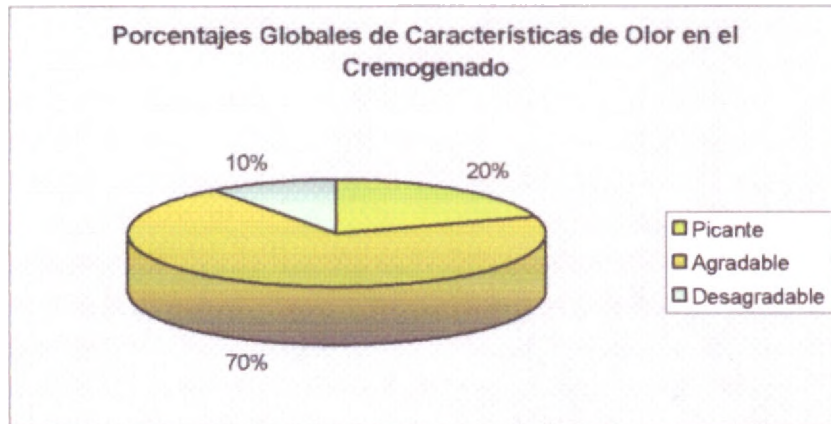
41 años en adelante:

Finalmente, la población encuestada adulta mayor, piensa que el producto tiene una fragancia agradable, y muy poco desagradable para algunos.



Global:

Un alto porcentaje de la totalidad de los encuestados cree que el producto posee un agradable olor, que se inclina por algo picante y muy poco desagradable.

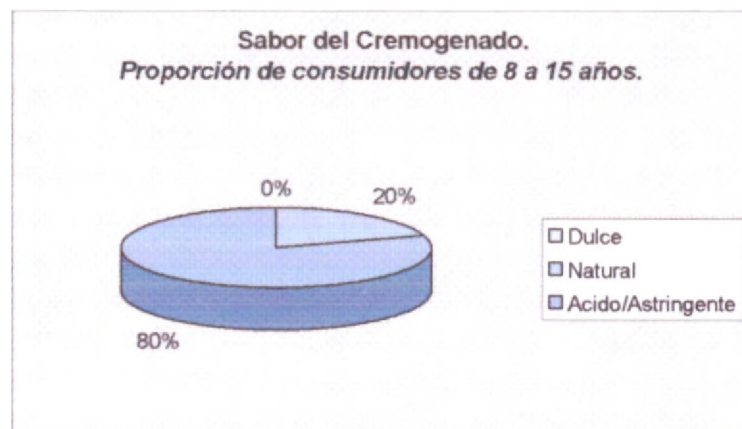


SABOR

El sabor es la propiedad organoléptica más importante en un alimento, pues es la que definirá si un producto es apetecible de ser consumido a menudo. También definirá la frescura del producto, sensibilizando cualquier cambio físico-químico en el mismo.

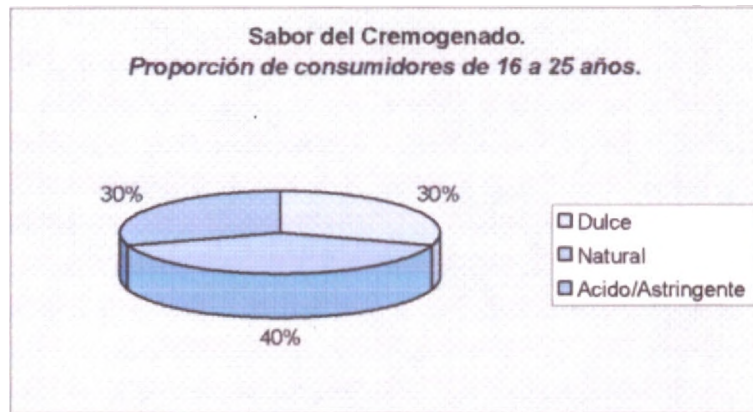
8 a 15 años:

La población infantil mayoritariamente opina que el producto tiene un sabor ácido/astringente con un sabor a tomate de árbol natural.



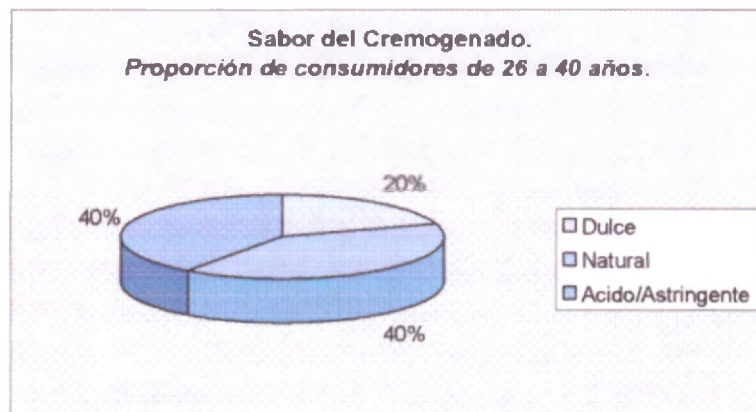
16 a 25 años:

Entre los jóvenes encuestados se cree que el sabor del producto es relativamente natural, dividiéndose las opiniones entre una inclinación hacia lo dulce y a lo ácido/astringente.



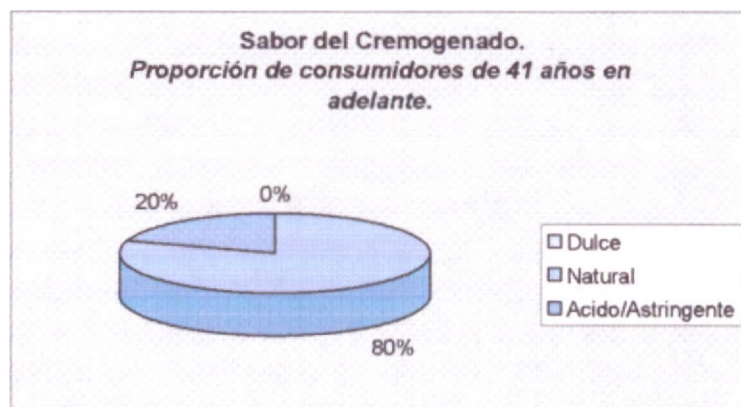
26 a 40 años:

La población adulta se manifiesta dividida entre una caracterización que define al producto por un lado como natural y por otro ácido/astringente, otra minoría opina que el sabor es dulce.



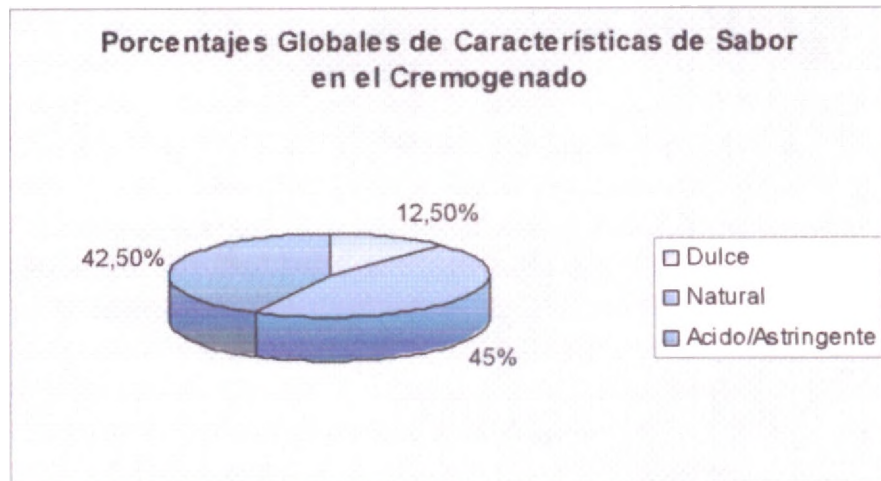
41 años en adelante:

La población mayor adulta cree que el sabor del cremogenado es natural con una inclinación ligera por lo ácido/astringente.



Global:

El resultado en conjunto de todos los encuestados se divide entre la creencia que el producto tiene un sabor natural y ácido/astringente y una minoría opina que el dulce.



Como se pudo observar en el capítulo anterior, los resultados se engloban finalmente en:

- **8 a 15 años:** Espeso, color normal, olor picante, sabor ácido/astringente.
- **16 a 25 años:** Espeso, color normal, olor agradable y sabor natural.
- **26 a 40 años:** Espeso, color normal, olor agradable y sabor natural, ácido y astringente.
- **41 años en adelante:** Espeso, color normal, olor agradable y sabor natural.

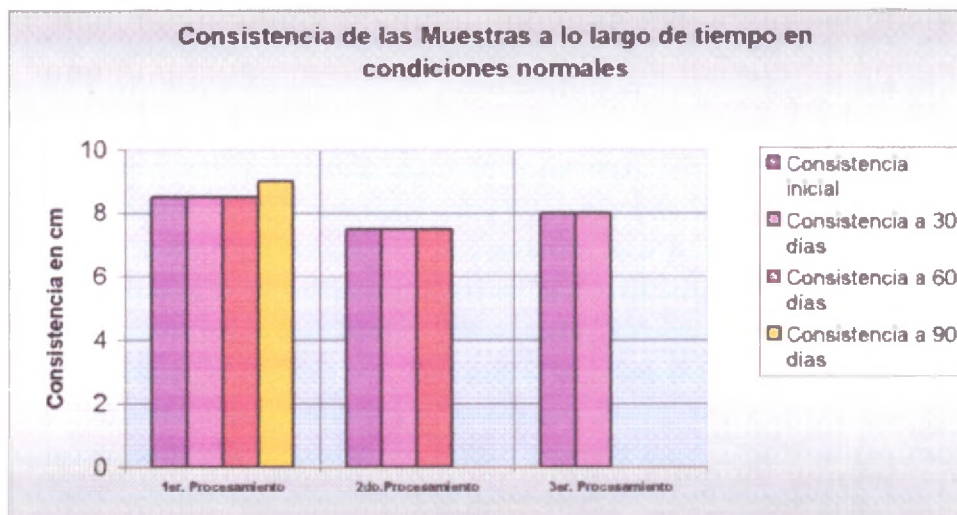
6.1.3. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DEL COMPORTAMIENTO REOLÓGICO EN EL CREMOGENADO DE TOMATE DE ARBOL.

El análisis de la consistencia en nuestro producto estará controlado dentro de los valores que sugiere las normas de la FDA de los EE.UU. y que en la siguiente tabla clasifica a las pulpas y cremogenados en categorías de calidad, calificando al producto por puntajes:

Points	Consistometer Readings (cm)
U.S. Grade A	
25	4.0 - 7.0
24	7.1 - 9.0
23	9.1 - 11.0
22	11.1 - 12.0
U.S. Grade B	
21	3.8 - 3.9 or 12.1 - 13.0
20	3.6 - 3.7 or 13.1 - 13.7
19	3.4 - 3.5 or 13.8 - 14.4
18	3.0 - 3.3 or 14.5 - 15.0
Substandard	More than 15.0 less than 3.0

Consistencia en Condiciones Normales

La consistencia evaluada en condiciones normales de temperatura (20° C), tiempo de prueba (30 segundos) y en concentración relativamente estándar (12,3°~12,8° Brix), muestra los siguientes resultados:



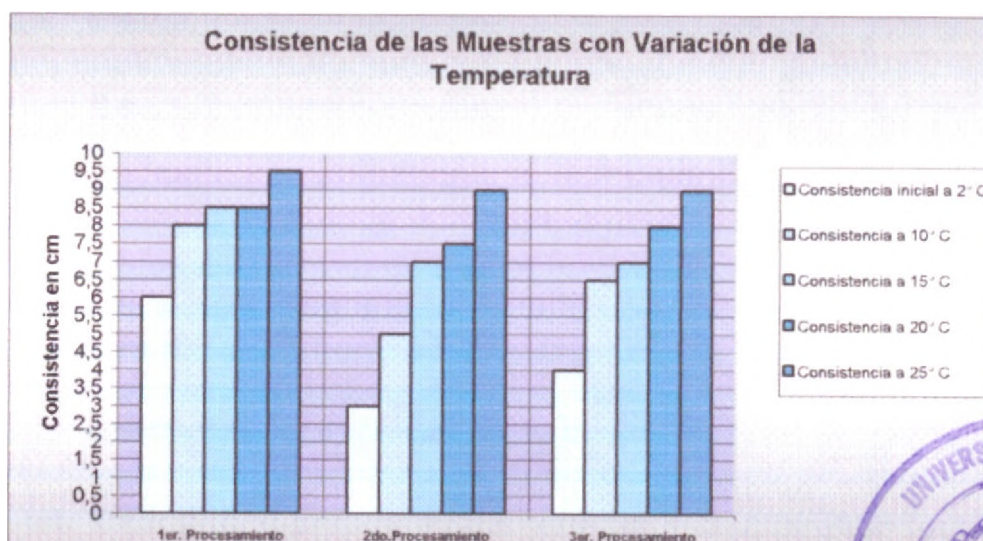
Se puede apreciar que la variación de la consistencia a lo largo del tiempo es imperceptible, y se ve alterada a partir de los 60 ~ 90 días debido a una ligera fluidificación del producto posiblemente dada por alteración debida a cambios

microbiológicos. El producto según la tabla de la FDA se clasifica en todos los casos en un *U.S Grade A con 24 puntos*, pues su consistencia fluctúa entre los 7,5 a 9,0 cm que está dentro del rango de puntaje 24 equivalente a 7,1 a 9,0 cm.

Consistencia con Variación de la Temperatura

En condiciones con variación de la temperatura hay una variación muy notable de las características de consistencia del producto, así pues, se tiene los siguientes resultados:

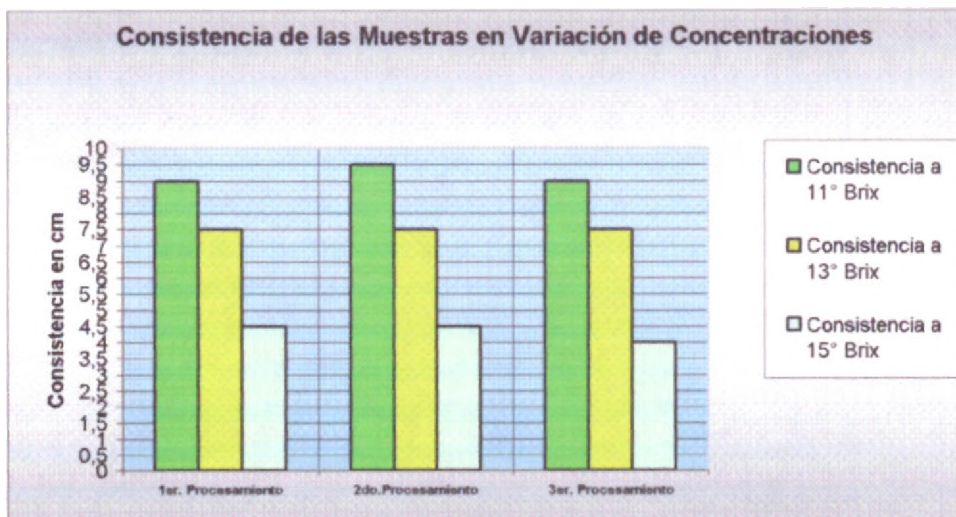
- Con un producto refrigerado a 2°C se tiene una consistencia alta que fluctúa entre 3,0 y 6,0cm, que quizá beneficia al producto pues eleva su categoría U.S. Grade A hacia los 25 puntos para las consistencias intermedias entre 4,0 y 6,0, pero lo perjudica con la consistencia de 3,0cm pues cae en clasificación Subestándar.
- Al elevarse la temperatura a 10° C el producto se fluidifica más y adquiere una consistencia entre 5,0 y 8,0cm, beneficiando al producto.
- En los 15° C que se considera dentro de una temperatura ambiental, se tiene una consistencia más fluida de 7,0 a 8,5cm, de categoría A en 24 puntos.
- En una temperatura de 20° C que es la nominal de pruebas, se tiene los mismos resultados que en la evaluación anterior, fluctuando el valor de consistencia entre 7,5 a 8,5cm, de absoluta categoría A con 24 puntos.
- Finalmente a un temperatura de 25° C si hay un cambio notable de la fluidez del producto teniéndose un valor de entre 9,0 a 9,5cm de consistencia, lo que perjudica al producto bajando su puntaje en la misma categoría U.S. Grade A, a 23 puntos.



Consistencia en Variación de las Concentraciones

Cuando se da una variación en la concentración final del producto manteniéndose las demás propiedades, se observan cambios muy notorios la respuesta de la consistencia, así pues:

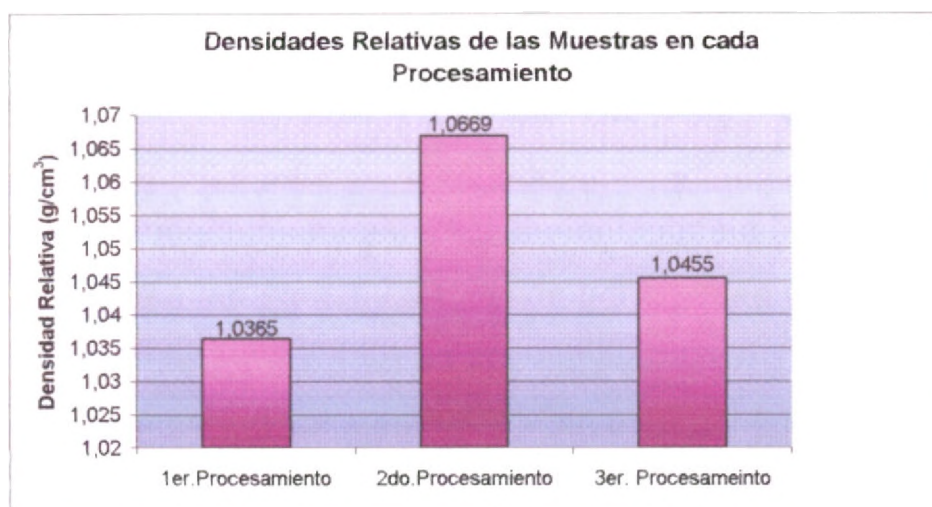
- En concentraciones de 11° Brix hay una variación de la consistencia que fluctúa entre 9,0 a 9,5cm lo que baja la categoría A del producto a 23 puntos.
- En concentraciones de 13° Brix se tiene un valor estándar de 7,5cm de consistencia lo que mantiene al producto en su categoría U.S. Grade A con 24 puntos.
- Cuando la concentración del producto se eleva a 15° Brix hay un descenso de la consistencia a valores de 4,0 ~ 4,5cm lo que eleva la categoría A del producto a 25 puntos beneficiando al producto.



Densidad Relativa de las Muestras

La densidad de las muestras en un indicio que se puede asociar con lo resultados de análisis de la consistencia pues tiene una relación directamente proporcional con la viscosidad e inversamente proporcional a la medida directa que arroja el consistómetro (en cm).

Comparando este cuadro, con el de Consistencia de las muestras en condiciones normales queda claramente demostrado este fenómeno.



6.1.4. RESULTADOS DEL ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DEL CREMOGENADO DE TOMATE DE ÁRBOL.

Identificación de microorganismos

La identificación completa de los microorganismos presentes en el producto, es un trabajo de mayor extensión y es afín a estudios de Bioquímica y Farmacia por lo cual, debido a nuestra especialidad como Ingenieros Químicos, no tenemos un absoluto conocimiento, quedando esta investigación extensiva para trabajos a futuro.

Nuestra investigación ha tratado de englobar a un grupo de microorganismos que pueden ser identificados de manera casi inmediata y que serán igualmente observados y vigilados a menudo en una cadena productiva de este Cremogenado de tomate de árbol.

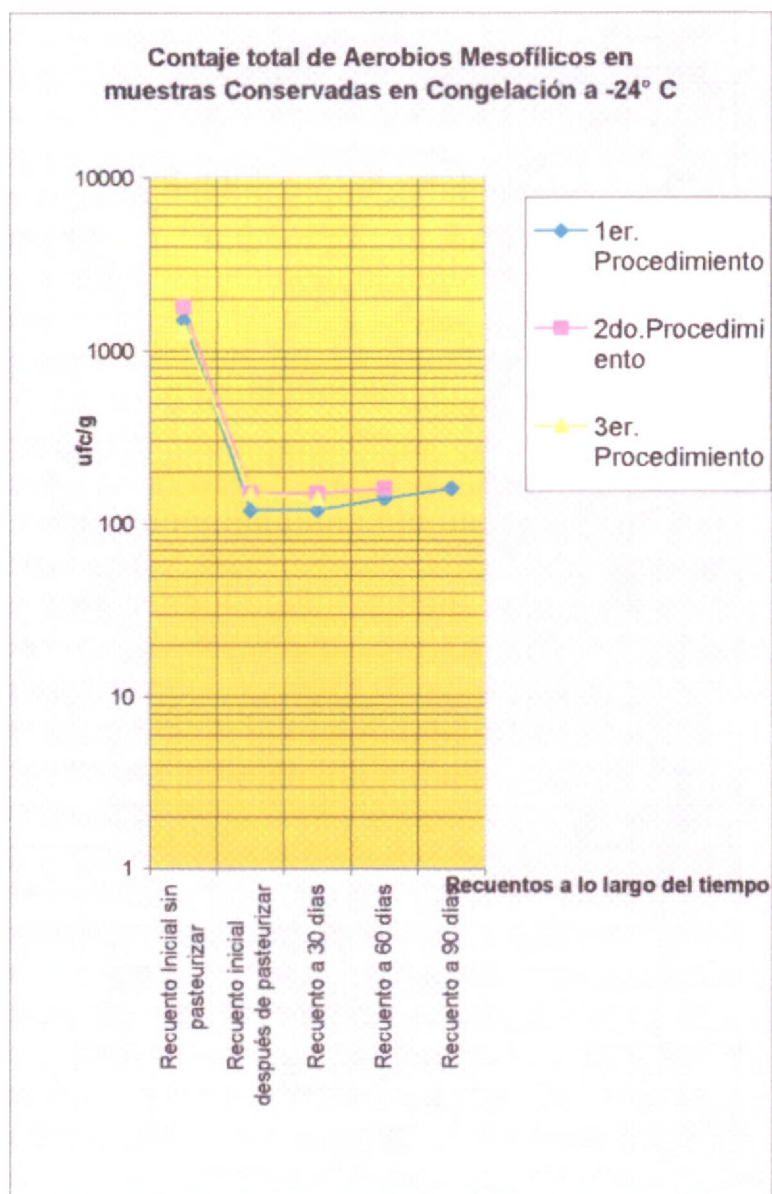
CONTAJE TOTAL DE AEROBIOS MESOFILICOS

El recuento total en placa de este grupo de microorganismos en un análisis que manifiesta la actividad microbiana completa de un producto de una manera muy efectiva y puede advertir a futuro, potenciales alteraciones en el mismo.

A continuación mostramos los gráficos que se han obtenido al dibujar las curvas de crecimiento microbiológico con los datos obtenidos:

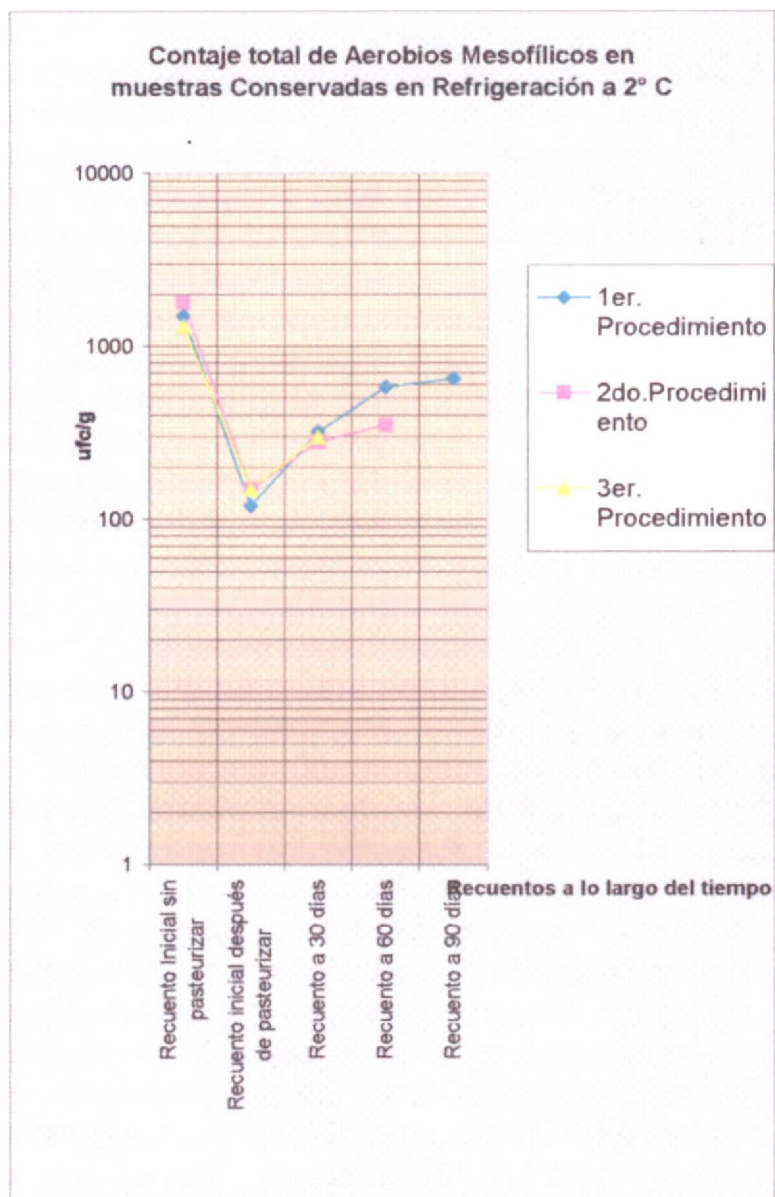
Muestras en Congelación:

Las muestras sometidas a congelación tienen una vida más estable y el crecimiento de microorganismos en este estado de conservación es mínimo con apenas un aumento máximo de 40 ufc/g después de 90 días.



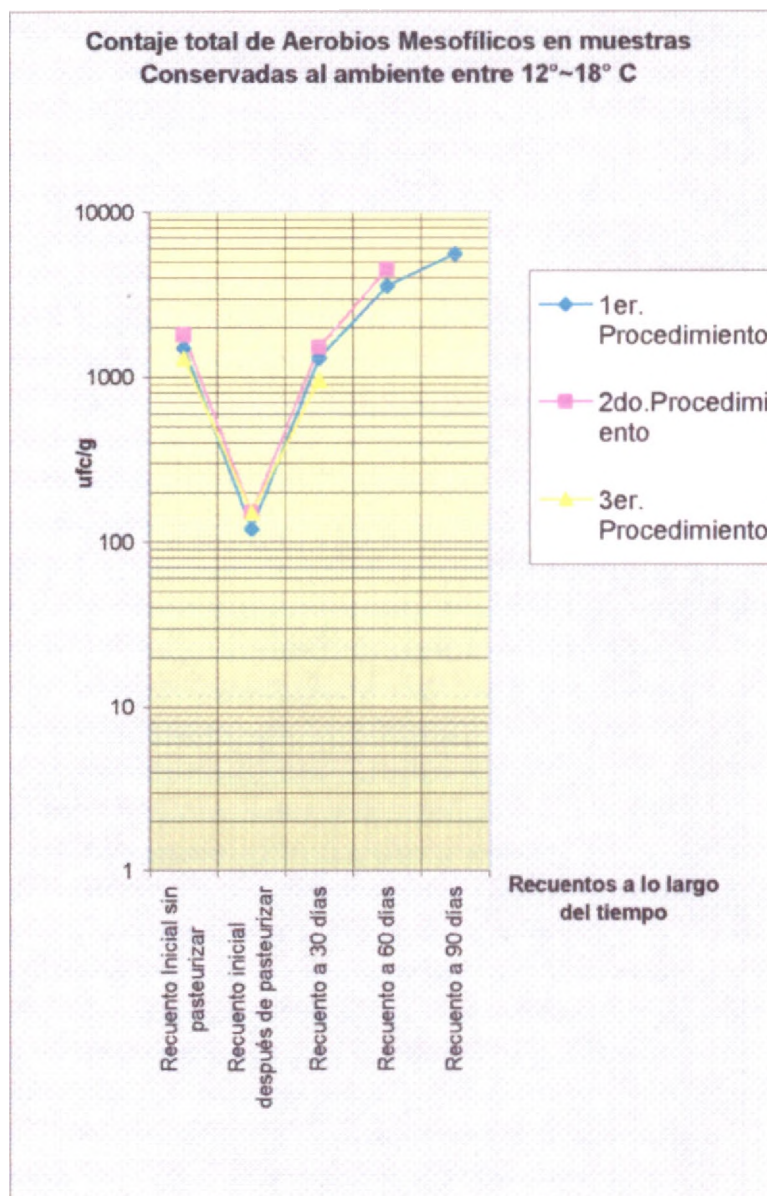
Muestras Refrigeradas:

En las muestras refrigeradas si se observa un aumento gradual de la flora microbiana con un incremento máximo de 530 ufc/g después de 90 días.



Muestras Conservadas al Ambiente:

En muestras conservadas al ambiente si hay una elevación notable del recuento de microorganismos, presentándose resultados de crecimiento que rebasan el valor original de recuento de las muestras antes de pasteurizar en apenas 30 días después de procesado, por lo que estos valores son considerados perjudiciales para el producto en esta condición de almacenamiento. A los 90 días se cuadruplica este valor llegando a 5600 ufc/g.



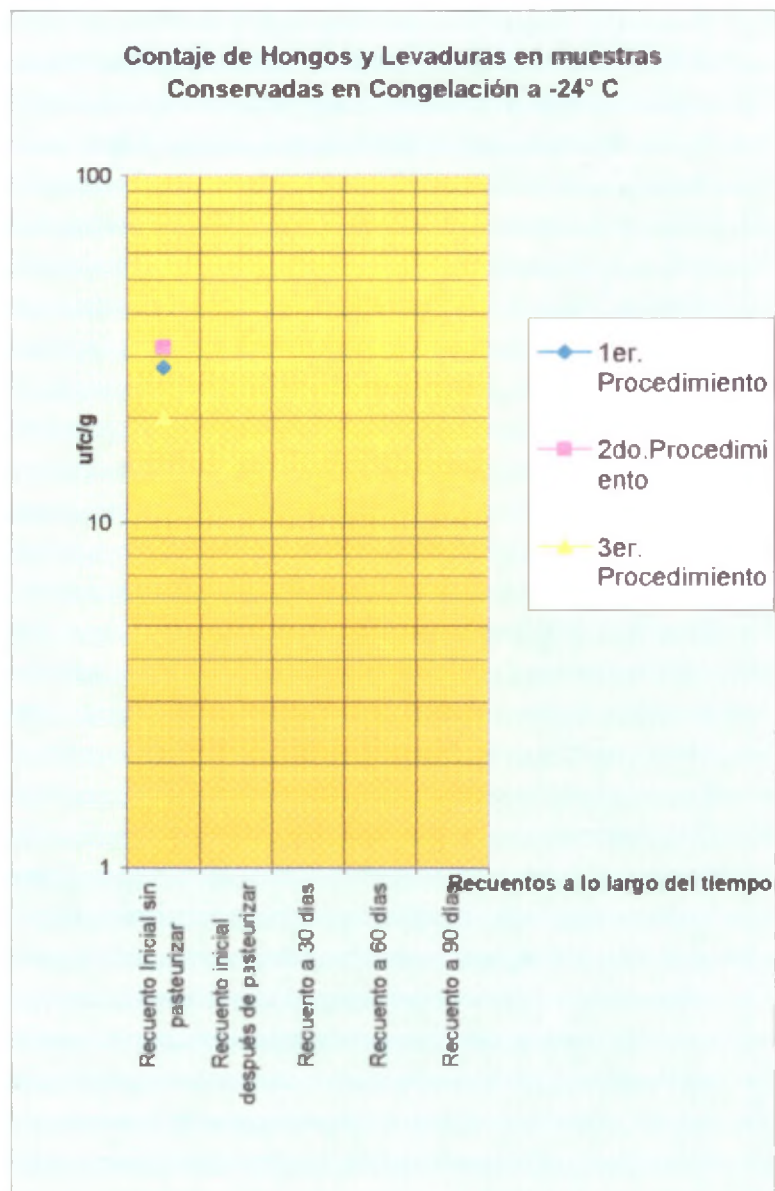
Hay que considerar que el limite de tolerancia que indica el *INHMT* "LIP" de Guayaquil es de 10000 ufc/g por lo que nuestro producto se mantiene dentro del rango permitido, proyectándose muy bien a tiempos mayores de conservación cuando es conservado en congelación y en refrigeración pero no al ambiente cuando el periodo es mayor a 90 días de almacenamiento.

HONGOS Y LEVADURAS

En los productos provenientes de frutos y vegetales la presencia de hongos y levaduras es la que más daños provoca inicialmente al mismo pues se manifiesta como micelios algodonosos de diversos colores y formas en el caso de los mohos y como fermentaciones diversas en el caso de las levaduras. El control que se ha hecho de estos parámetros es el siguiente:

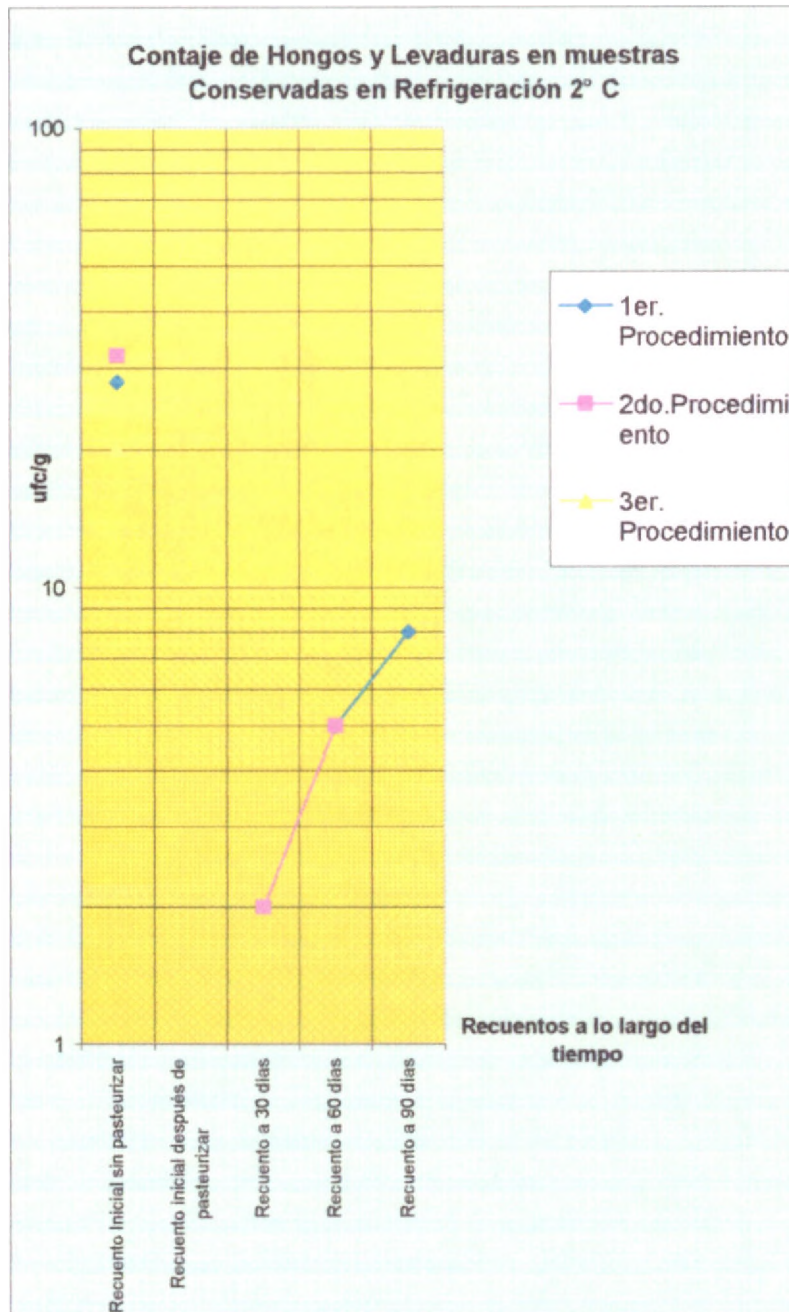
Muestras en Congelación:

El conteo inicial de las muestras sin pasteurizar arrojó resultados elevados de estos microorganismos con un valor máximo de 32ufc/g. Luego de la pasteurización hay desaparición completa de estos, que se mantiene durante el almacenamiento en congelación a lo largo de 90 días, por lo que se considera que este medio de conservación es perfecto para evitar el aumento de estos microorganismos.



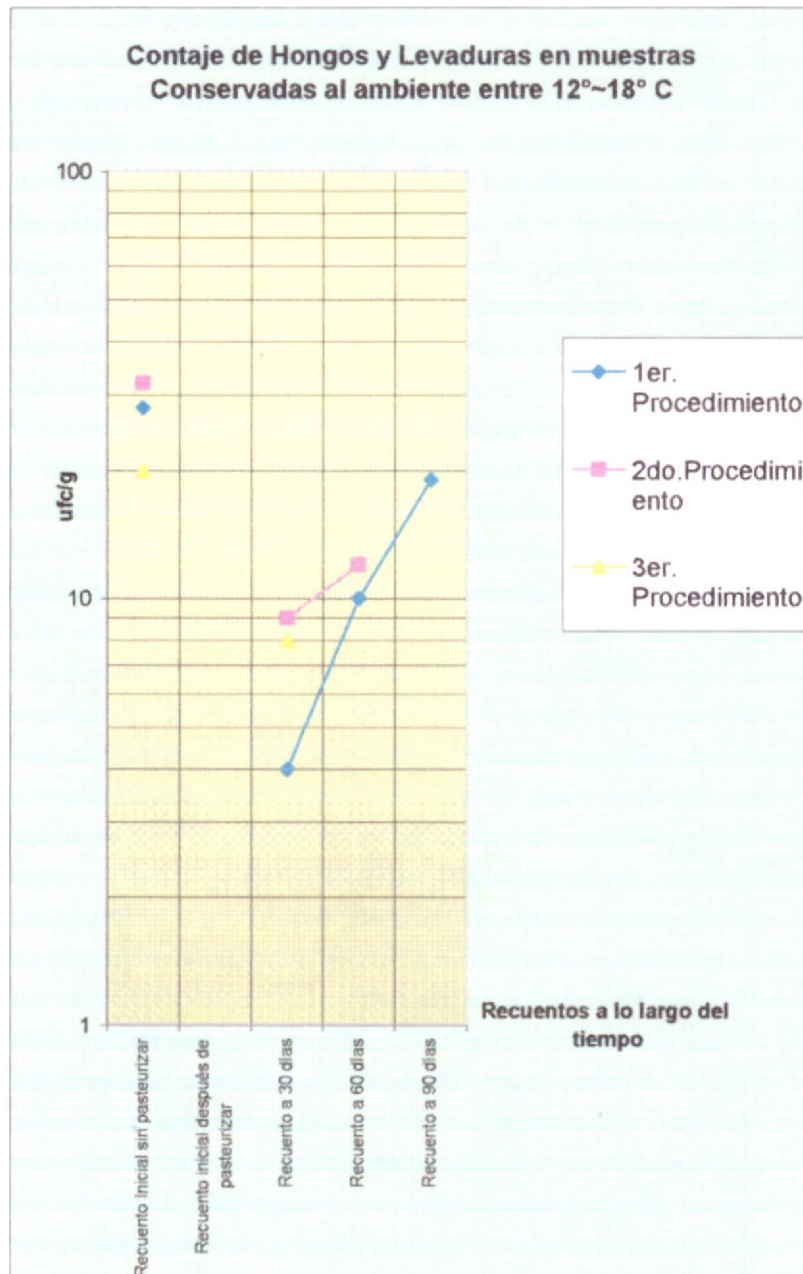
Muestras Refrigeradas:

Se puede observar una aparición de estos microorganismos a partir de 30 a 60 días en una mínima cantidad que se incrementará a un ritmo no muy elevado, por el método de conservación utilizado.



Muestras Conservadas al Ambiente:

Se puede observar una aparición notable de los microorganismos a partir de los 30 días de conservación, y un incremento relativamente alto ya que en los 90 días se puede verificar la presencia de un 70% de microorganismos originales antes de pasteurización.



A pesar de los valores hallados en nuestro producto, el conteo de Hongos y levaduras permanece por debajo de los niveles que especifica el INHMT "LIP" de Guayaquil, el que indica un número máximo de 50 ufc/g de estos microorganismos.

La presencia de hongos en las muestras conservadas al ambiente se manifestó visualmente como un ennegrecimiento en la parte superior del producto envasado y el apareamiento de micelios de mohos de color blanco-verdoso pertenecientes al género *Penicillium* sp. Es lógico deducir que estos microorganismos son los principales y primeros causantes de alteraciones del producto pues la actividad acuosa del mismo, en nuestro caso es muy alta.

COLIFORMES TOTALES

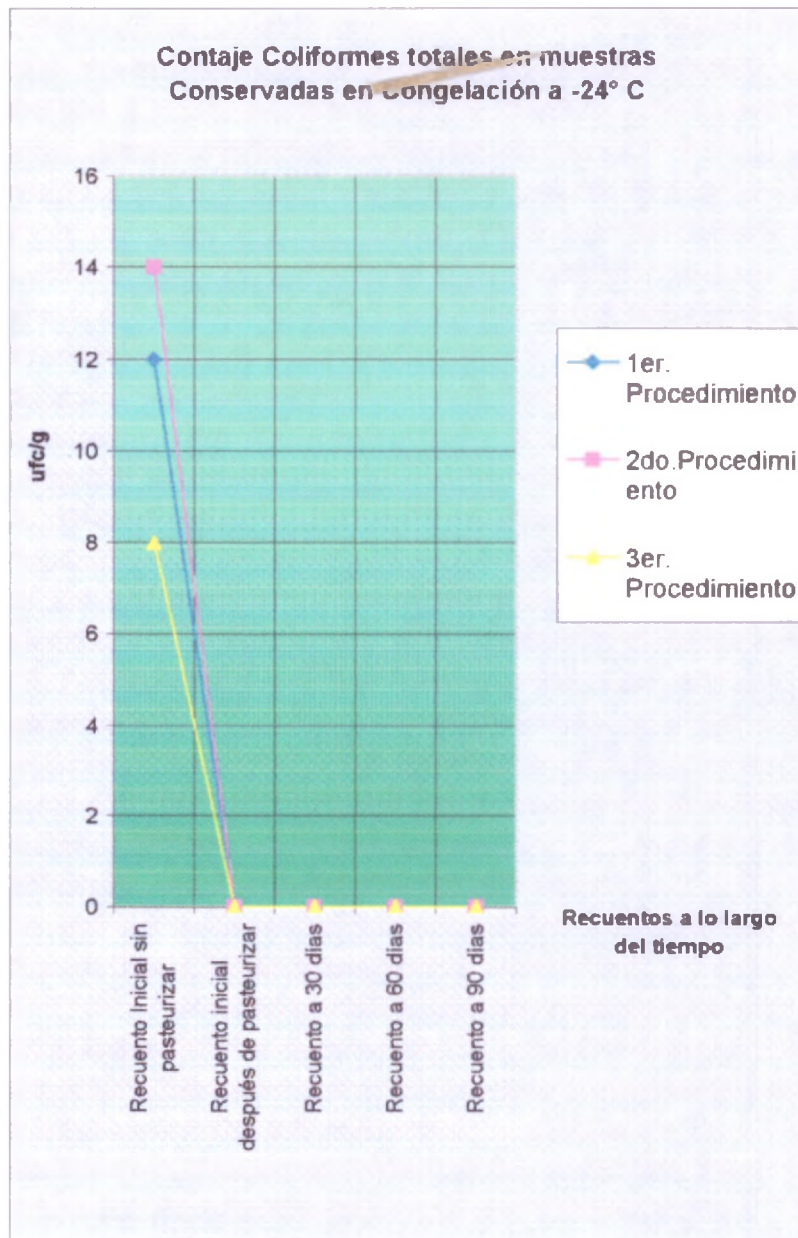
Por ser las bacterias coliformes las más controladas en la industria alimentaria su control se lo realiza en base total y en la detección específica del *Escherichia Coli*.

Su presencia indica contaminación del producto con aguas residuales o ambientes contaminados que pudieran contener otros microorganismos de géneros patógenos, tales como *Salmonella*, *Clostridium*, *Streptococcus* y *Pseudomona* que son muy perjudiciales para el ser humano, por ello su investigación es requisito obligatorio en la elaboración de un producto de consumo masivo, y que posee una actividad acuosa tan elevada.

A continuación mostramos los cuadros que se han graficado con los valores obtenidos del análisis:

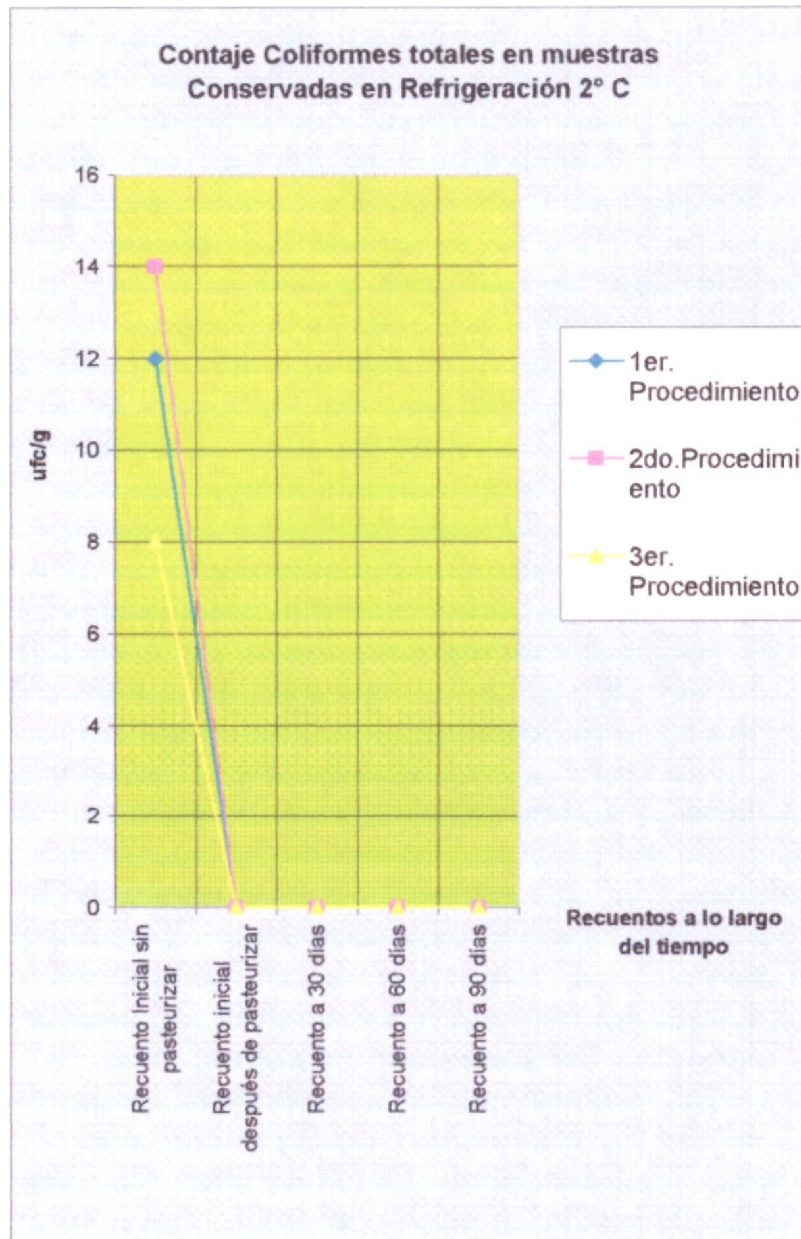
Muestras en Congelación:

En el producto antes de ser pasteurizado, se pudo observar un conteo muy bajo de estos microorganismos con valores de entre 8 a 14 ufc/g que fueron eliminados después del proceso de pasteurización y concentración. Su ausencia se mantuvo durante los 90 días de control de las muestras conservadas en congelación, lo que está dentro de los límites requeridos.



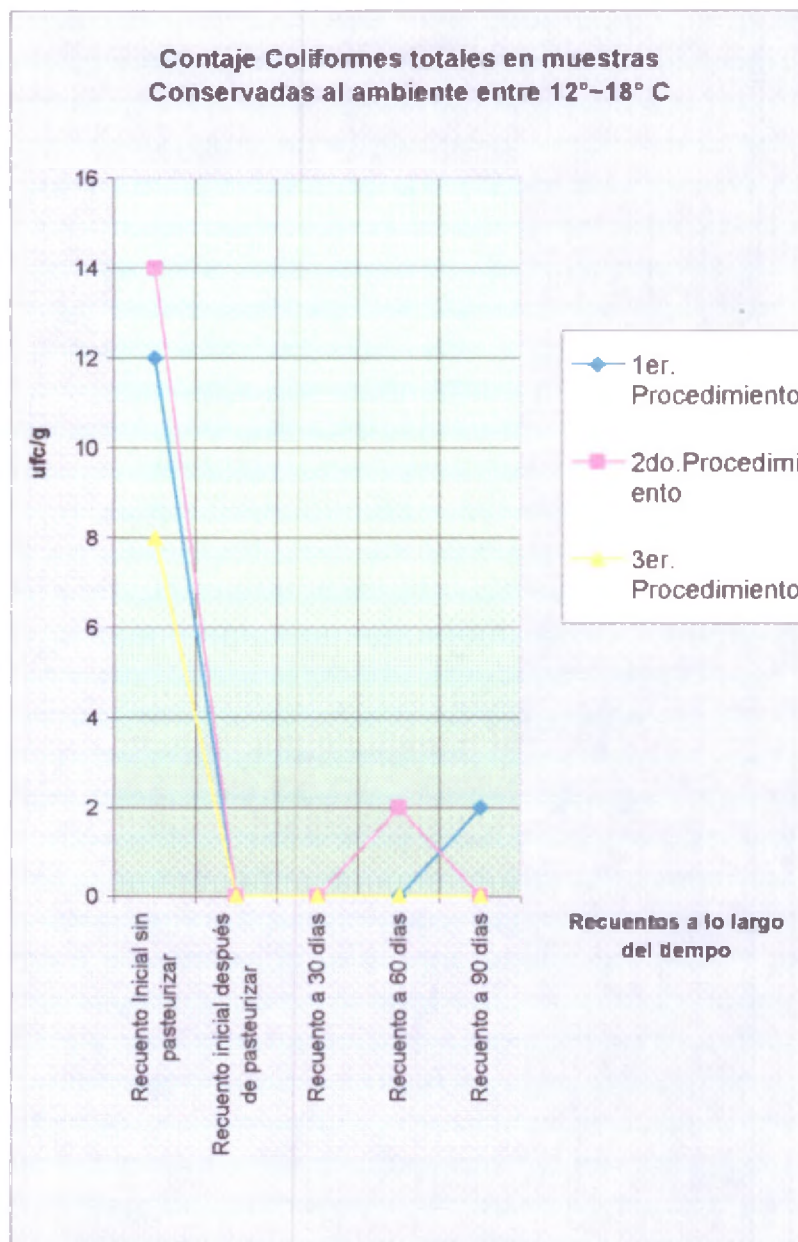
Muestras Refrigeradas:

En muestras refrigeradas se dio el mismo fenómeno que con muestras conservadas en congelación, con una ausencia absoluta de estos microorganismos durante 90 días de control.



Muestras Conservadas al Ambiente:

En muestras conservadas al ambiente se presenta una aparición de estas bacterias a partir de los 60 a 90 días de almacenamiento, en proporciones de 2 ufc/g, por lo que esto ya es un problema de control sanitario, y el método de conservación se considera inapropiado.



Se considera que el límite de tolerancia para coliformes totales dado por el INHMT "LIP" de Guayaquil es de absoluta ausencia de unidades formadoras de colonias para este parámetro microbiológico, por lo que los métodos de conservación de congelación y refrigeración son los apropiados, pero el de almacenamiento a temperatura ambiente no cumple con este requisito.

COLIFORMES FECALES

Su presencia se considera perjudicial para cualquier producto alimenticio, y para que un producto obtenga un registro sanitario debe presentar absoluta ausencia de estos microorganismos, en especial del E. Coli.

En las muestras conservadas por lo tres medios (congelación, refrigeración y al ambiente) no hubo aparición de estos microorganismos, por lo que su análisis en apartados individuales es innecesaria.

Muestras en Congelación: Ausencia absoluta.

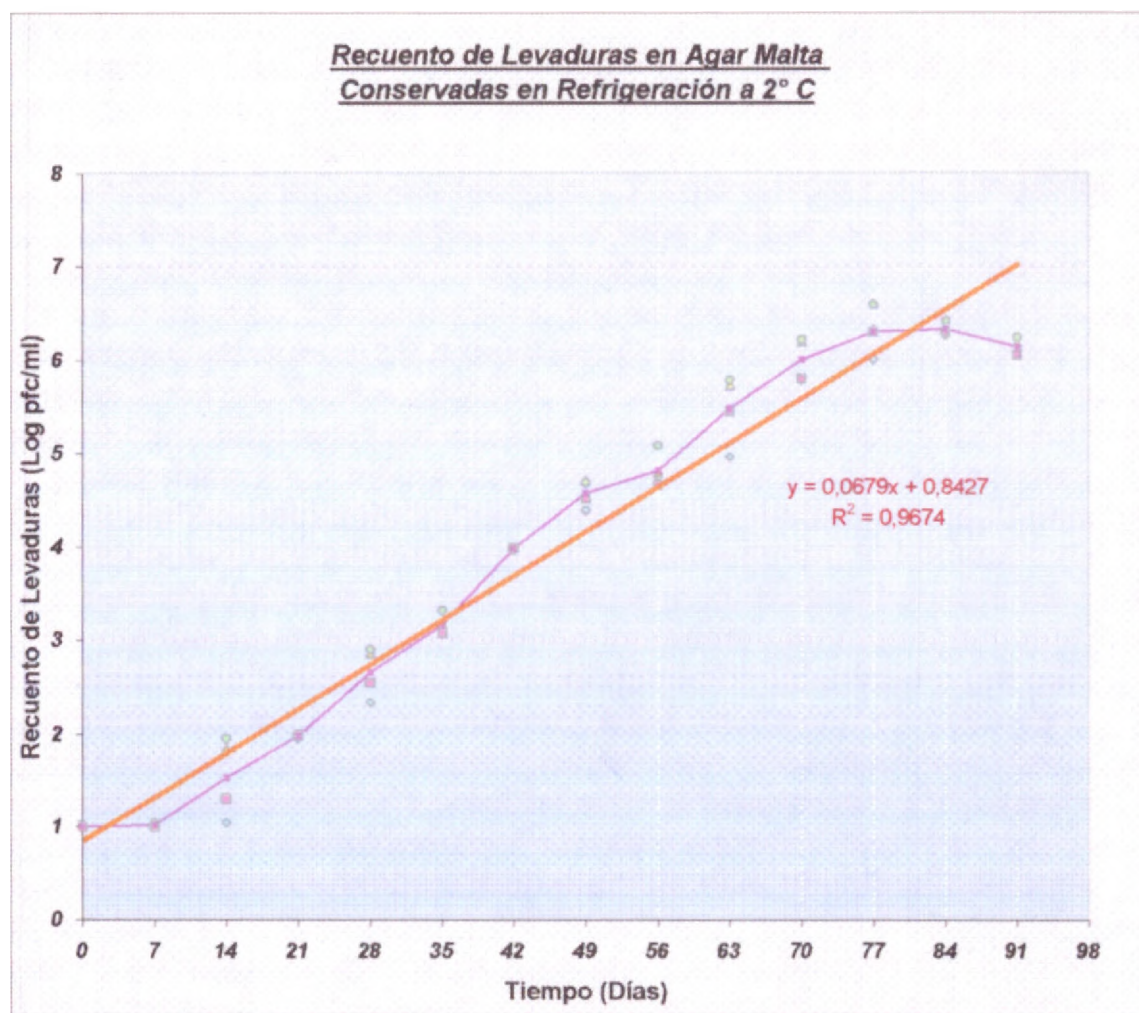
Muestras Refrigeradas: Ausencia absoluta.

Muestras Conservadas al Ambiente: Ausencia absoluta.

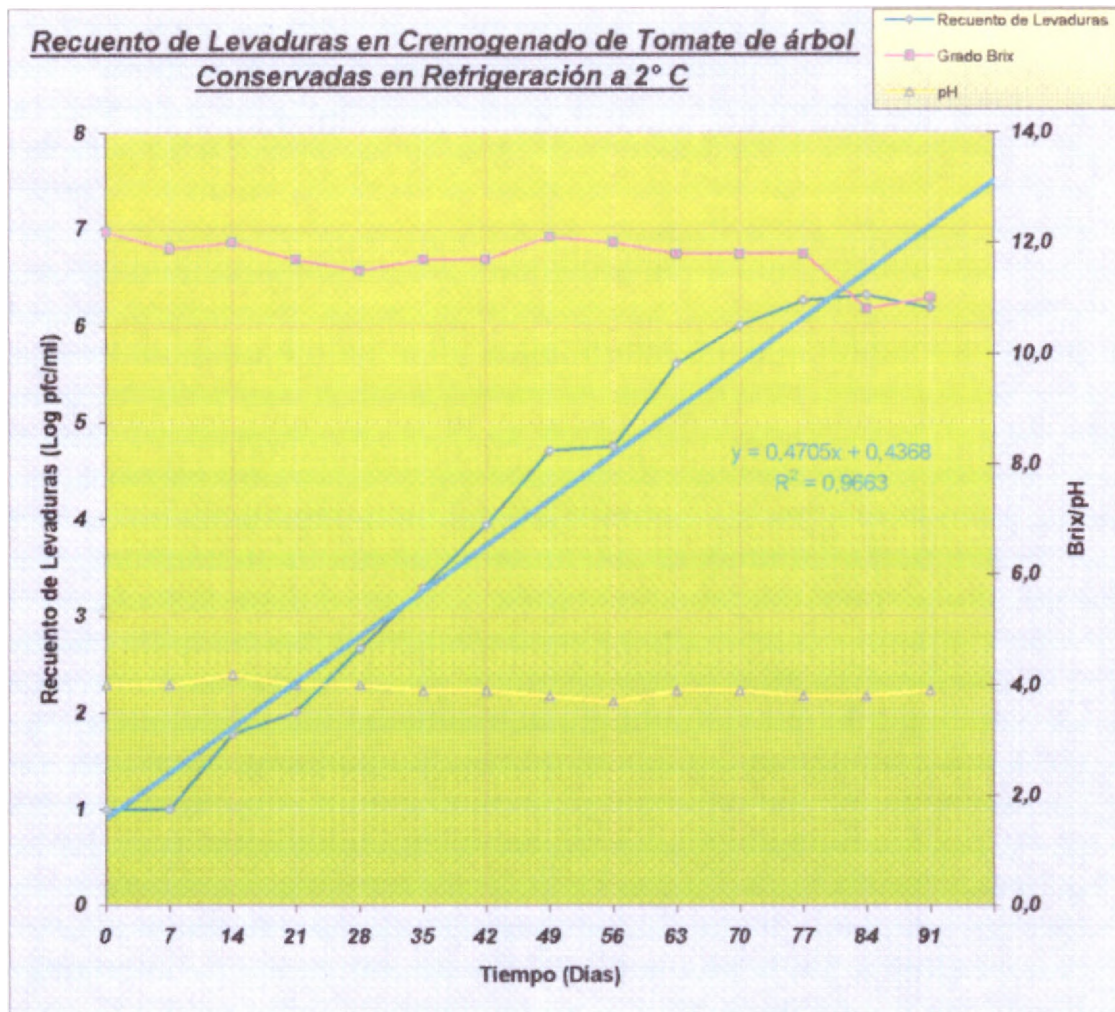
El límite de tolerancia para coliformes fecales (E. Coli) dado por el INHMT "LIP" de Guayaquil indica que debe haber absoluta ausencia de unidades formadoras de colonias de para este parámetro microbiológico, por ello nuestro producto cumple con este requisito.

6.1.5. RESULTADOS OBTENIDOS EN EL SEGUIMIENTO DEL COMPORTAMIENTO DE LAS LEVADURAS DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL CREMOGENADO DE TOMATE DE ÁRBOL:

En el estudio del comportamiento de estos microorganismos en Agar Extracto de Malta se obtuvo una tabla de datos, los mismos que han sido llevados a un gráfico para comprender mejor sus fases de crecimiento:



A su vez la tabla de datos de crecimiento de levaduras en nuestro producto ha arrojado valores que han sido graficados en combinación con valores de Grado Brix y pH:



Se ha elaborado las líneas de tendencia en las curvas de crecimiento de las levaduras en cada caso para observar su coeficiente de correlación y verificar si tienen una similitud en su crecimiento, lo cual se comprueba positivamente al tener un valor de $R^2 = 0,9674$ para el crecimiento de las levaduras en Agar MEA y un valor $R^2 = 0,9663$ para el crecimiento de las levaduras en Cremogenado.

Aplicación del Modelo de Gompertz:

La fórmula es:

$$L(t) = A + C \exp(\exp(B(t - M)))$$

Siendo:

L(t)= logaritmo decimal del recuento de microorganismos a un tiempo t log(pfc/ml).

A = logaritmo decimal del recuento inicial de microorganismos log(pfc/ml).

- C** = logaritmo decimal del incremento final de microorganismos $\log(\text{pfc/ml})$.
M = tiempo al cual el cultivo alcanza su máximo ratio (velocidad) de crecimiento (h).
B = ratio (velocidad) de crecimiento relativo a $M \log(\text{pfc/ml})/\text{h}$.
t = tiempo (h)

Datos del Crecimiento de Levaduras en Agar MEA.-

El valor de recuento inicial es el mismo que el de inoculación, es decir, **A = 10pfc/ml**. El valor de incremento final **C**, se obtiene del punto más alto de la cresta de crecimiento de la curva y es **C = 6,338pfc/ml**. El valor **M** que representa el punto donde se da la mayor velocidad de crecimiento de la levaduras, se lo obtiene observando la mayor pendiente entre cada par de puntos, así pues, este punto **M** para nuestro caso se ubica a los 42 días de experimentación por tenerse ahí la máxima pendiente ($m = 0,1176$), **M = 1008h**. Finalmente el valor de ratio o velocidad se lo obtiene de las coordenadas del punto **M** (1008h ; 3,988pfc/h) y es **B = 0,00395 (pfc/ml)/h**.

$$\begin{aligned} \mathbf{A} &= 10\text{pfc/ml} \\ \mathbf{C} &= 6,338\text{pfc/ml} \\ \mathbf{M} &= 1008\text{h} \quad (\text{Día } 42, m=0,1176) \\ \mathbf{B} &= 0,00395(\text{pfc/ml})/\text{h} \end{aligned}$$

Datos del Crecimiento de Levaduras en Cremogenado de Tomate de Arbol.-

Los datos se obtienen de la misma manera que para el caso anterior:

$$\begin{aligned} \mathbf{A} &= 10\text{pfc/ml} \\ \mathbf{C} &= 6,313\text{pfc/ml} \\ \mathbf{M} &= 1512\text{h} \quad (\text{Día } 63, m=0,1231) \\ \mathbf{B} &= 0,00371(\text{pfc/ml})/\text{h} \end{aligned}$$

A partir de los parámetros **A**, **B**, **C** y **M** de la ecuación, calculamos los parámetros de crecimiento buscados para obtener las conclusiones por una comparación entre estas dos curvas de crecimiento, estos parámetros son:

- RCE** = Ratio de crecimiento exponencial
TG = Tiempo de generación
FL = Fase de latencia
DMP = Densidad máxima de población

$$\mathbf{RCE} = \frac{\mathbf{BC}}{e} \quad \{ \log(\text{pfc/ml})/\text{h} \}$$

$$TG = \frac{(\log 2)e}{BC} \quad [(h)]$$

$$FL = M - \frac{1}{B} \quad [(h)]$$

$$DMP = A + C \quad [\log(pfc/ml)]$$

Luego de los cálculos respectivos tabulamos los resultados para cada curva de crecimiento:

	Crecimiento de Levaduras en Agar MEA	Crecimiento de Levaduras en Cremogenado
<i>Ratio de Crecimiento Exponencial (RCE)</i>	0,00921 (log/ml)/h	0,00861 (pfc/ml)/h
<i>Tiempo de Generación (TG)</i>	32,684 h	34,930 h
<i>Fase de Latencia (FL)</i>	754,83 h	1242,45 h
<i>Densidad Máxima de Población (DMP)</i>	16,338 pfc/ml	16,313 pfc/ml

Las comparaciones entre estos datos obtenidos, las veremos en el apartado de Resultados en Conjunto y Discusión.

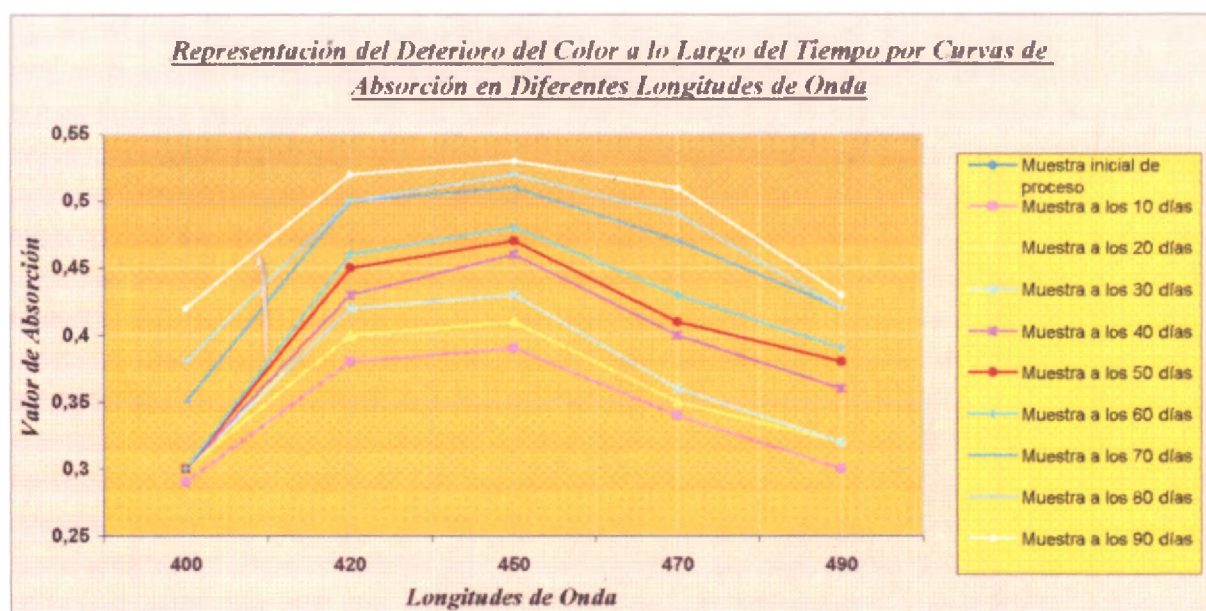
El pH del Cremogenado de Tomate de Árbol apenas sufre modificación por el efecto del crecimiento de las levaduras, manteniéndose prácticamente constante durante todo el periodo de almacenamiento, con pequeñas oscilaciones en torno al valor inicial.

El contenido en sólidos solubles o azúcares presenta, en todos los casos, una evolución que se encuentra directamente relacionada con la curva de crecimiento de la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* correspondiente. Así, cuanto más rápido es el aumento de la población de levaduras, tanto más rápido es el consumo de azúcares.

6.1.6. RESULTADOS OBTENIDOS EN LA CARACTERIZACIÓN CINÉTICA DEL DETERIORO DEL CREMOGENADO DE TOMATE DE ÁRBOL

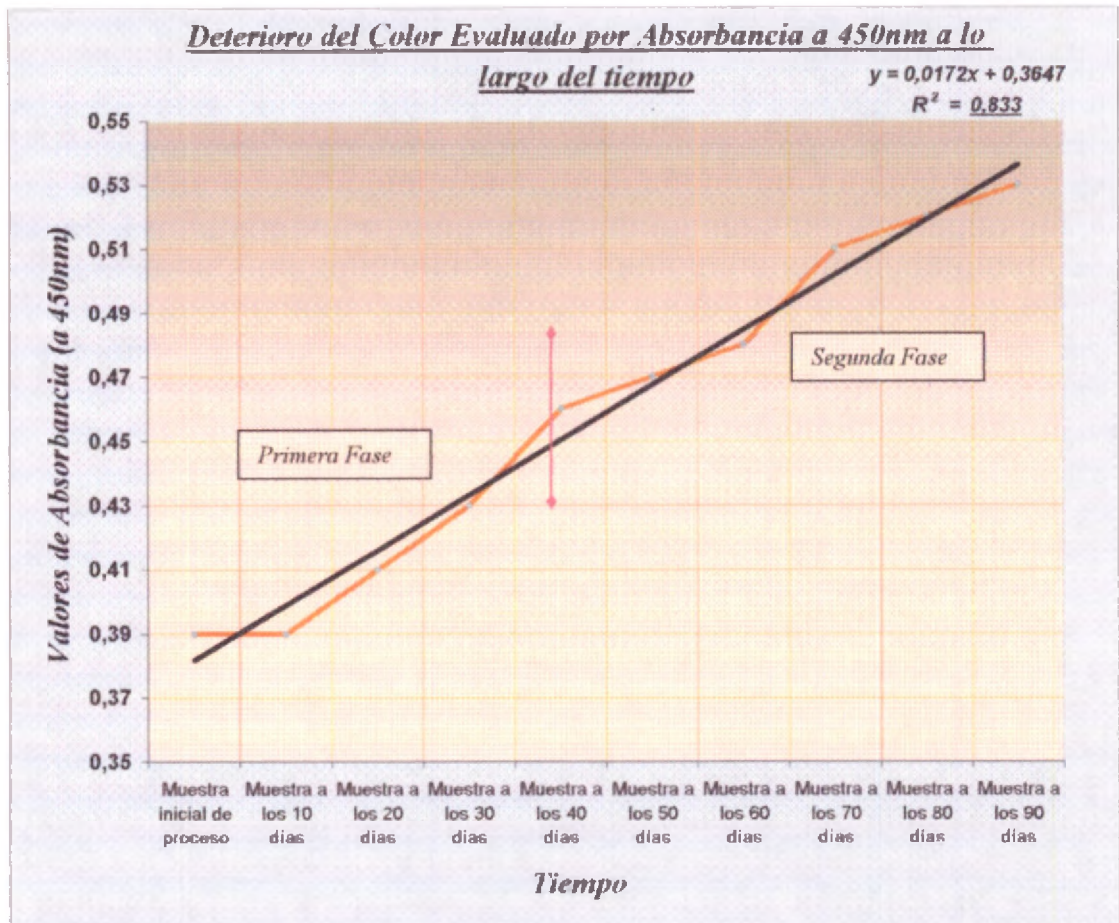
Los resultados obtenidos por espectrofotocolorimetría por la medida de la absorbancia, están tabulados en el capítulo anterior y podemos representarlos en un gráfico que haga de variables a las diferentes Longitudes de Onda y los Valores de absorbancia en función del tiempo.

El gráfico es el siguiente:



Se obtienen conclusiones de la evolución del color del cremogenado de tomate de árbol a lo largo del tiempo, que son las siguientes:

- Se puede observar que los valores de absorción más elevados son aquellos obtenidos a una absorción de 450nm y varían en valores de entre 0,39 y 0,53.
- Por ello se considera que la longitud de onda de 450nm es la más representativa de este estudio, y será la que defina el comportamiento cinético del Cremogenado de Tomate de árbol.
- Graficando los valores de la tabla de absorbancia a 450nm obtenemos la siguiente curva:



- Realizando el estudio cinético de la curva de absorbancia frente al tiempo a 450nm y obteniendo el coeficiente $R^2 = 0,833$ muy bajo, se demuestra que puede presentar dos tipos de orden cinético de reacción, así por la obtención de pendientes en la misma se observa que se divide en dos periodos, uno que va desde su inicio hasta los 40 días donde se observa un cambio de la gama de color anaranjado de las muestras con un ligero oscurecimiento, y otro pasado los 40 hasta los 90 días, donde en la práctica se pudo observar un aceleración del pardeamiento no enzimático identificado por oscurecimiento progresivo del cremogenado:

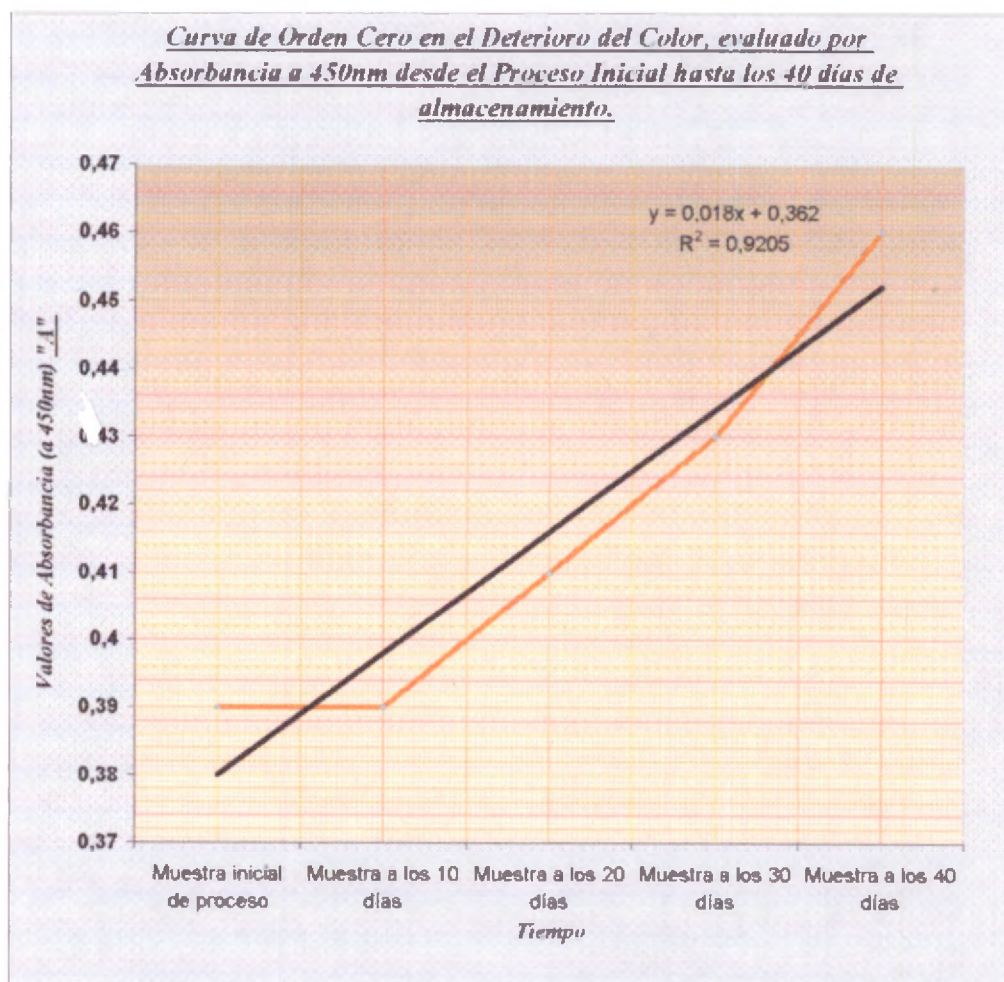
	Pendientes
Muestra inicial de proceso	0,000
Muestra a los 10 días	0,020
Muestra a los 20 días	0,020
Muestra a los 30 días	0,030
Muestra a los 40 días	0,010
Muestra a los 50 días	0,010
Muestra a los 60 días	0,030
Muestra a los 70 días	0,010
Muestra a los 80 días	0,010
Muestra a los 90 días	0,010

- La elección de estos órdenes cinéticos ha sido realizado después de observar el comportamiento de los índices de correlación en un procedimiento de tanteo con diferentes órdenes de reacción, es decir, de orden cero, orden primero y orden n.
- Esto se debió analizar buscando el orden cinético mas apegado a cada curva en estos dos periodos.

Por ello se ha dividido a la curva en dos fases:

1. Fase de Incremento en la coloración:

La curva en esta primera fase se presenta de esta forma:

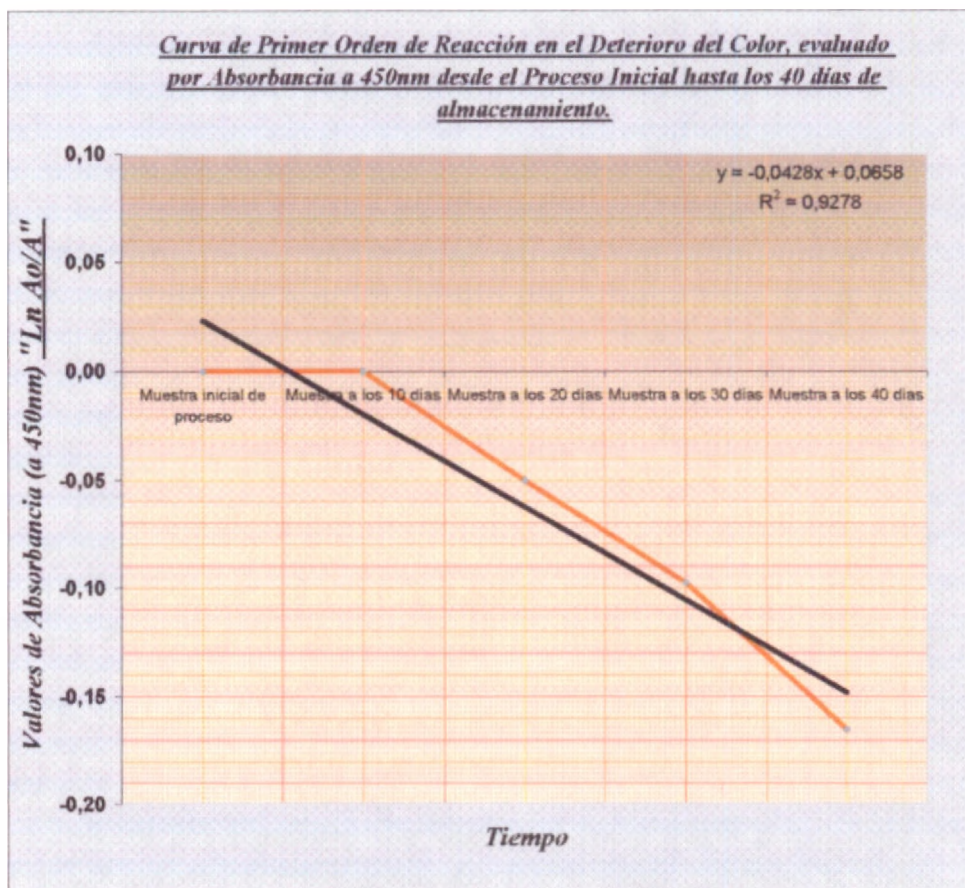


En esta curva se ha probado el orden cero de reacción y en su índice de correlación es de $R^2 = 0,9205$.

A continuación se tabulan los datos de $\ln(A_0/A)$ para obtener la curva de orden primero:

Tabla de Datos de Logaritmo de (Ao / A)	
	<i>Ln(Ao/A)</i>
Muestra inicial de proceso	0,000000
Muestra a los 10 días	0,000000
Muestra a los 20 días	-0,050010
Muestra a los 30 días	-0,097638
Muestra a los 40 días	-0,165080

Graficando estos datos:



Realizando una comparación en la búsqueda del orden cinético más apropiado que se adapte a esta curva se encontró que usando un Primer Orden de reacción ($-r_A = k (A_o)^1$), se obtiene un mejor coeficiente de correlación ($R^2 = 0.9278$) por ser mayor al del orden de reacción cero ($R^2 = 0.9205$).

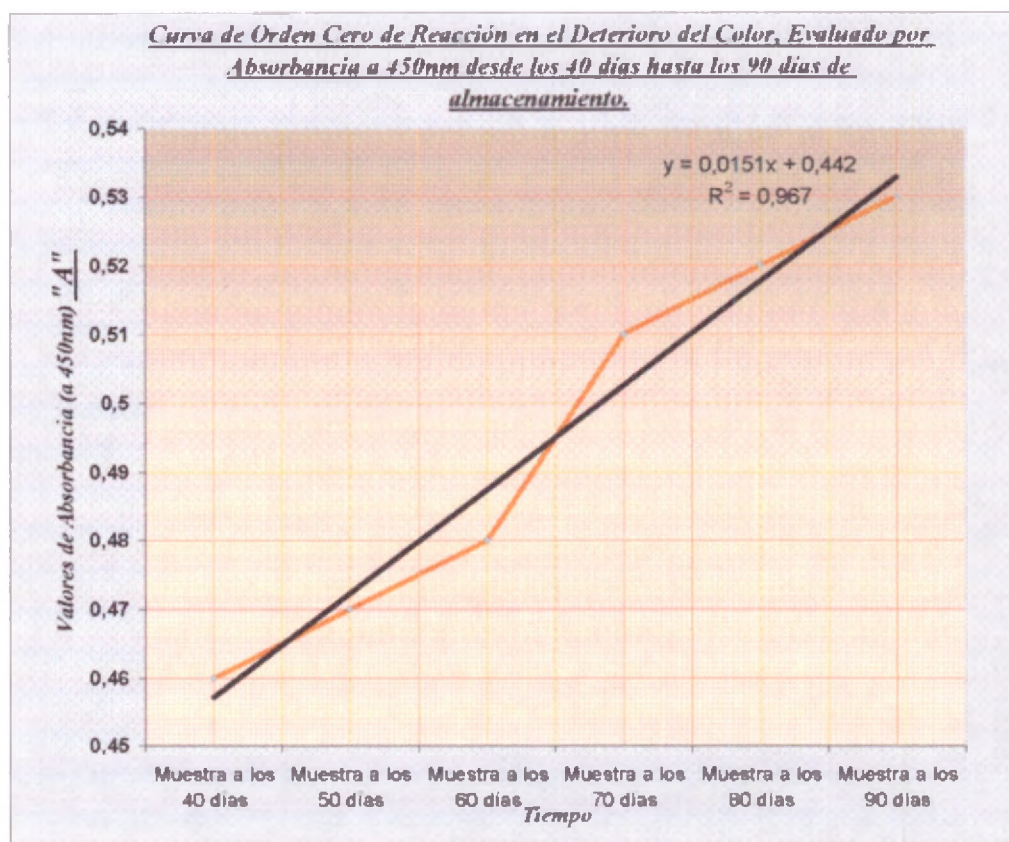
Y finalmente para obtener el valor de la velocidad de reacción ($-r_A = k (A_o)^1$), extraemos el valor de k de la ecuación de la línea de tendencia por ser el valor m de una ecuación de tipo $y = mx + b$, por lo que la velocidad de reacción para este orden de reacción es:

$$\begin{aligned}
 -r_A &= k (A_o)^1 ; k = -0,0428 \\
 -r_A &= -0,0428 * (0.39)^1 \\
 \underline{-r_A} &= \underline{-0,01669}
 \end{aligned}$$

Como resultado definitivo tenemos que, para la primera fase de pardeamiento no enzimático en donde solo hay un incremento en la coloración, se tiene un Primer Orden de Reacción.

2. Fase de oscurecimiento del cremogenado:

En esta fase se observó un incremento sorpresivo en el oscurecimiento del cremogenado, el mismo que se presentó a partir de los 40 días hasta los 90 días de almacenamiento, la curva en este periodo evaluada en orden cero es:

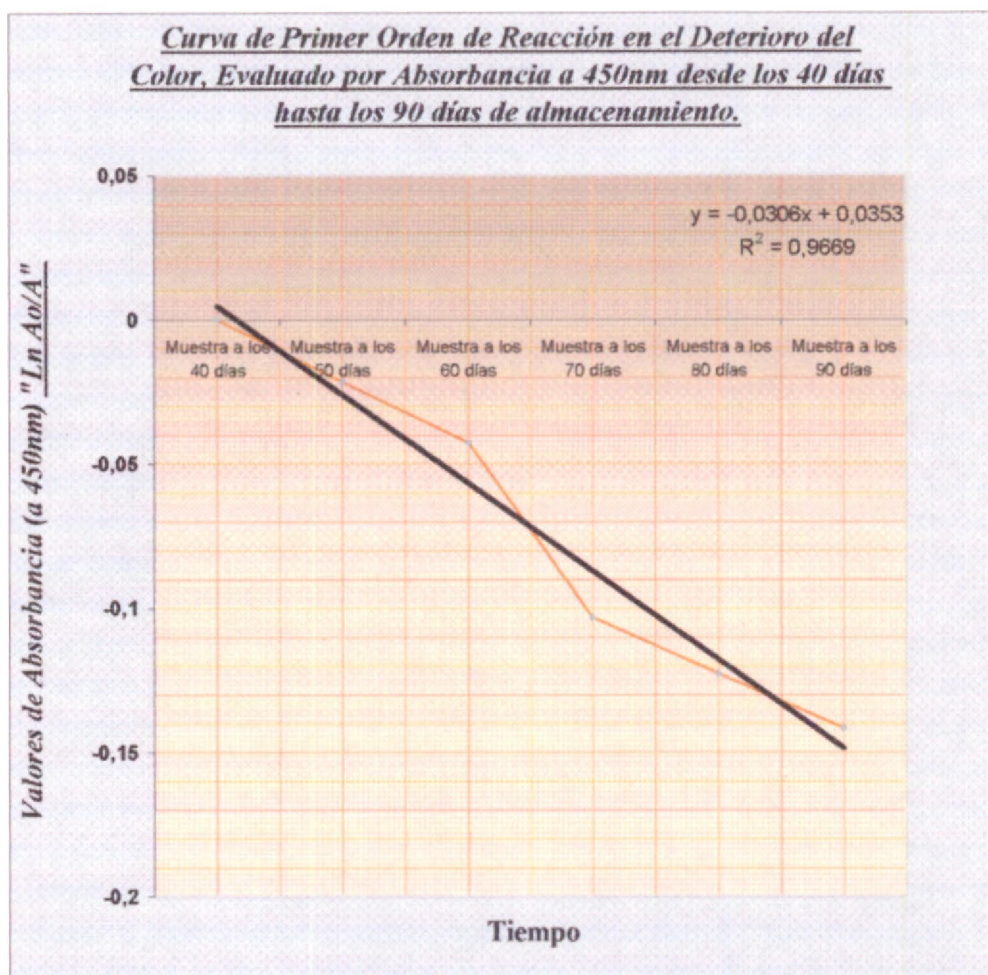


Aquí la curva presenta un índice de correlación de ($R^2 = 0.967$).

Los datos para graficar la curva en orden primero de reacción están tabulados a continuación:

<u>Tabla de Datos de Logaritmo de (Ao / A)</u>	
	<i>Ln(Ao/A)</i>
Muestra a los 40 días	0
Muestra a los 50 días	-0,021506205
Muestra a los 60 días	-0,042559614
Muestra a los 70 días	-0,103184236
Muestra a los 80 días	-0,122602322
Muestra a los 90 días	-0,141650517

Graficando estos datos tenemos:



Después de la búsqueda del orden cinético más apropiado para esta curva por comparación entre ambas curvas, se halló que un Orden Cero de reacción, con su ecuación: $-r_A = k$, es el que mejor coeficiente de correlación tiene ($R^2 = 0.967$), por ser mayor al de orden primero de reacción con un índice ($R^2 = 0.9669$).

La fórmula para obtener la velocidad de reacción es $-r_A = k$, el valor de k se obtiene de la ecuación de la línea de tendencia que es $y = 0,0151x + 0.442$, que corresponde a una ecuación de tipo $y = mx + b$; siendo m la pendiente = k.

$$\begin{aligned} -r_A &= k ; k = m \\ -r_A &= \underline{0,0151} \end{aligned}$$

Como resultado final tenemos que, para la segunda fase de pardeamiento no enzimático en donde se presenta un incremento progresivo en el oscurecimiento del cremogenado, se tiene un Orden Cero de Reacción.

6.2. Resultados en Conjunto y Discusión

Los resultados en conjunto que mencionaremos a continuación, tienen como objetivo evaluar la factibilidad para que el producto que ha sido investigado en nuestra tesis, pueda ser producido a nivel industrial. Lo que se pretende con estos resultados y la respectiva discusión, es establecer si el Cremogenado de Tomate de árbol es una alternativa de procesamiento industrial que pudiera ser llevado a futuro como un proyecto en una industria local de procesamiento de fruta, claro está, esto corresponderá específicamente a un estudio de nivel económico que pudiera ser tomado como una nueva investigación o proyecto en tesis que sean realizadas a futuro.

El principal objetivo de esta tesis ha sido el de aplicar un amplio estudio (en especial en la materia de Reología, la cual no es aplicada en nuestro medio), sobre un producto que por su naturaleza inestable, no podía ser llevado a conservación por largos periodos de tiempo, y comprobar que un tratamiento de tipo Appert de conservación puede ser efectivo para este fin.

A continuación vamos a describir cada resultado obtenido de cada apartado de la investigación y discutirlo:

1. Resultados y Discusión en la Investigación de Parámetros Físico-Químicos:

Se ha podido observar que el control del grado Brix junto con la vigilancia de la apariencia del cremogenado durante el proceso de elaboración son los únicos medios precisos para estandarizar el producto en su estado reológico a un punto deseado, es decir, para obtener un producto de características sensoriales aceptables, hemos de cuidar el control del grado Brix, muy prolijamente. Por las pruebas realizadas en las tres cargas de elaboración de cremogenado, se ha encontrado que el rango de Brix final del producto más adecuado, para mantener estas características, es el que se encuentra entre 12,3 y 12,5° Brix (es decir los que se dieron en el primer y tercer proceso respectivamente) y se lo obtiene con una concentración de 10 minutos a 88° C después de que el cremogenado ha sido sometido al proceso de pasteurización, este resultado es el óptimo pues hay un intervalo pequeño de cambio de la consistencia y de las características organolépticas.

En lo referente al pH se debe mantener también un control adecuado en especial al final de la manufactura pues nos ofrece directamente una referencia de los valores en que se encuentra la acidez del producto. Se observa que un pH de 4,0 es el mejor, por conveniencia de conservación y característica de sabor del producto.

La acidez, tiene relación inversamente proporcional al pH, y por lo tanto, está deberá bordear un margen de entre 2,12% y 2,14% (g Ac. Cítrico/100g).

Los valores de actividad de agua no han variado mucho según la concentración del producto como tal, su valor es de aprox. 0,95 y se considera que definitivamente esto sensibiliza al deterioro por ataque de microorganismos especialmente cuando el producto sea conservado al ambiente. El estudio del resto de parámetros tales como fibra, pectina y pulpa, servirá para endosar en tablas nutricionales del cremogenado. La pulpa puede dar una idea aproximada del rendimiento del producto desde materia prima a producto final.

2. Resultados y Discusión en la Investigación de Parámetros Sensoriales.

En la Evaluación sensorial encontramos lo siguiente:

La característica de aspecto del cremogenado ha sido mayoritariamente calificada como de producto espeso, con un porcentaje que en todas las edades supera el 60%, y globalmente el 72,5%.

El color según la población que ha sido encuestada se apega al normal que debería tener el mismo tomate, ni oscuro, ni pálido. Esto se da en todas las edades a un porcentaje siempre mayor al 60%. Y globalmente a 75%.

El olor del producto ha sido calificado como agradable por la mayoría de la población encuestada siempre en más del 70% entre las edades de 16 años en adelante, pero para los niños entre 8 a 15 años el olor es considerado como picante en un 50%.

Finalmente, el sabor ha sido calificado de una manera similar al olor por la población encuestada, así pues los niños de entre 8 a 15 años han opinado en un 80% que el sabor es ácido y/o astringente, mientras que el resto de personas mayores a 16 años opina que el cremogenado posee un sabor natural a tomate mayoritariamente por sobre el 40%. El resultado global se encuentra con una mayoría en opinión de sabor natural de 45%, enfrentado a un 42,5% que dice que es ácido y/o astringente.

En resumen, se puede manifestar que el producto tiene una buena aceptabilidad para el consumidor local y nacional, queda abierto, por lo tanto la posibilidad de expendirlo directamente (en los medios de conservación más adecuados) como un concentrado o pulpa de fruta lista para jugo de tomate de árbol o transformado en baby foods (comida para bebés), lo que implicaría una ligera dilución, y aumento de los azúcares y nutrientes. En el caso de pulpa para exportación, se tendría que realizar

un estudio de aceptabilidad en cada país a donde vaya a ser exportado, o por pedido confirmado por demanda del producto ya conocido.

3. Resultados y Discusión en la Investigación de Parámetros Reológicos.

En el estudio de la característica reológica de Consistencia del cremogenado tenemos:

En condiciones normales el producto refrigerado no tiene una variación significativa en su consistencia a lo largo del tiempo, manteniéndose su U.S Grade A con 24 puntos, lo cual establece que el producto bien conservado en medios de refrigeración y de congelación, al momento de su uso en temperatura ambiente permanecerá dentro de un índice óptimo de calidad en lo concerniente a su consistencia. Se ha cumplido por lo tanto, los requerimientos de especifica la norma INEN: "*Salsa de Tomate. Determinación de la Consistencia*".(NTE INEN 1 899: 1998).

La pruebas a diferente temperatura demuestran que el producto a diferentes temperaturas que la ambiental nominal, puede presentar un cambio significativo (aunque no perjudicial para la calidad) en su consistencia, así pues, el producto refrigerado a 2° C presenta una ventaja cuando sus límites de consistencia están en valores de 4,0 a 6,0cm pues eleva la calificación a U.S Grade A con 25 puntos, pero se tiene el riesgo de que caiga su valor a 3,0cm lo que lo convertiría en un producto subestándar, por ende aquí se tiene que considerar que el producto para que se mantenga en su categoría A deberá ser calificado a temperatura ambiente, por el riesgo de que si es calificado a temperatura de refrigeración no pase esta prueba, aquí se debe considerar que una concentración de este producto de más de 12,5° Brix es la que presenta el grado subestándar por ello se recomienda que el producto tenga una concentración de entre 12,3 a 12,5° Brix en el cual está el rango óptimo de consistencia, para casi todas las temperaturas. El rango de temperaturas que van de 10° a 20° C presenta una buena consistencia si el producto va a ser conservado al ambiente, pero presenta el gran inconveniente de que el producto se expone a un deterioro acelerado. En el rango de temperatura de 25° C en adelante se presenta una baja de la consistencia a U.S. Grade A con 23 puntos, lo cual no es tan perjudicial, pero como en el caso anterior la degradación del producto se verá muy afectada.

En resumen, se expresa que el producto refrigerado presenta una buena consistencia mientras su concentración esté en el rango de 12,3 a 12,5° Brix, ya sea evaluado este a temperatura de concentración o a evaluación estándar a 20° C.

Con la variación forzada de concentraciones, se demuestra lo anteriormente explicado, y se da una excepción cuando el producto tiene

una concentración de 15° Brix y es evaluado a 20° C, en donde presenta un U.S Grade A con 25 puntos. No se considera una opción de presentación del producto a tan elevada concentración, pues acarreará problemas de producción y concentración por evaporación abierta.

La densidad, al igual que la consistencia es un indicador de calidad, no muy utilizado en este tipo de producto. Puede ser útil como última alternativa cuando no se disponga de un aparato de medida por métodos fundamentales o empíricos.

4. Resultados y Discusión en la Investigación de Parámetros Microbiológicos.

En la investigación de estos parámetros definiremos la estabilidad microbiológica del producto, definiendo por lo tanto el medio en el cual deberá ser conservado.

En el Conteo total de microorganismos se tuvo:

En el conteo total de los microorganismos después del procesamiento, se puede observar que el crecimiento bacteriano es muy reducido en condiciones de conservación del producto en congelación a -24° C, con valores de 40 ufc/g a los 90 días de conservación, por lo que este medio es el mejor y más seguro para el producto, en lo que a calificación de este parámetro se refiere.

En condiciones de refrigeración a 2° C, el producto presenta un incremento de bacterias totales de 530 ufc/g a los 90 días, lo cual es aceptable considerando que el límite especificado por el INHMT "LIP" de Guayaquil es de 10000 ufc/g. Por lo que este medio de conservación es también recomendado.

A temperatura ambiente entre 12° ~ 18° C, se muestra un elevado conteo de bacterias totales, con valores que bordean los 5600 ufc/g a los 90 días de conservación, por lo que ya se presentan cambios visibles de deterioro del producto, siendo no apto para el consumo a pesar de estar aún dentro de los límites especificados.

En el Conteo de hongos y levaduras se tiene el siguiente resultado y discusión:

Se observa que el cremogenado antes de la pasteurización y concentración muestra inicialmente un valor de 32 ufc/g de estos microorganismos, que inclusive está por debajo del límite especificado por el INHMT "LIP" de Guayaquil que indica un máximo de 50 ufc/g. Se observa después de estos procedimientos una desaparición teóricamente

absoluta de estos microorganismos, sobre todo en el caso de la conservación en congelación a -24° C, en donde no se ve una aparición de estos microorganismos durante los 90 días de evaluación. Por lo que se recomienda este medio de conservación para evitar el crecimiento de estos microorganismos.

En conservación en refrigeración se presenta una aparición mínima de hongos y levaduras a partir de los 30 días de conservación con valores de 2 ufc/g que se elevan a 8 ufc/g a los 90 días. Por lo cual este medio de conservación aún es recomendado por no exceder el 16% del límite especificado.

Finalmente el producto en conservación al ambiente muestra un incremento hasta de 19 ufc/g a los 90 días, lo que se considera nada ventajoso, por estar bordeando el 40% del límite máximo permitido, y no se recomienda este medio de conservación, además experimentalmente se observa la aparición de micelios de mohos a partir de los 30 días.

En consideración a lo anteriormente descrito se debe aprobar la conservación del producto en congelación a -24° C y en refrigeración a 2° C, como los medios idóneos para su buena estabilidad microbiológica frente a los hongos y levaduras, que son los principales microorganismos perjudiciales para nuestro producto, debido a su elevada actividad acuosa.

En el Conteo de Coliformes Totales se tuvo el siguiente resultado:

Estas bacterias son indicadores de condición de contaminación bacteriana peligrosa, por ello su detección es de vital importancia, para evitar sacar al mercado un producto en condiciones no aptas para consumo humano. Durante esta investigación esta detección ha sido realizada de acuerdo con la normativa del INHMT "LIP" de Cuenca. Inicialmente, antes de los procesos térmicos en la elaboración del cremogenado, se ha observado la presencia de estos microorganismos en cantidades de 8 a 14 ufc/g, lo cual es un resultado no favorable. Posteriormente a estos procedimientos se ha demostrado que la ausencia de estos microorganismos es absoluta después de los procesos de pasteurización y concentrado, lo cual demuestra un buen tratamiento térmico y de proceso de envasado.

Durante la conservación en Congelación, así como en refrigeración, se ha visto que no hay una aparición de estos microorganismos durante los 90 días de evaluación y esto es un resultado muy beneficioso para el producto. Sin embargo en las muestras almacenadas al ambiente se encontró una concentración de estos microorganismos de 2 ufc/g después de un periodo de entre 60 y 90 días, por lo que se confirma que este medio

de conservación permite la reproducción de estas bacterias y definitivamente no es el apropiado.

Finalmente en el Conteo de Coliformes Fecales, en donde la detección debe ser aún más precisa y debe arrojar resultados totalmente negativos para la presencia de estos microorganismos nocivos, se tuvo el resultado de ausencia absoluta durante todo el periodo de almacenamiento de prueba y en todos los medios de conservación, siendo este un resultado muy beneficioso para el producto. Queda por lo tanto comprobado, que el almacenamiento en congelación y en refrigeración del Cremogenado de Tomate de árbol, son los medios que aseguran un producto libre de alteraciones nocivas del mismo y perjudiciales para el consumidor.

5. Resultados y Discusión en el Seguimiento del Comportamiento de las Levaduras durante el almacenamiento del cremogenado de tomate de árbol.

Durante esta investigación en particular, se ha observado que el crecimiento de las levaduras en medios de cultivos tiene un comportamiento de crecimiento microbiológico normal con sus fases de crecimiento y latencia especificados respectivamente por una velocidad de crecimiento exponencial (RCE) de 0.00921(pfc/ml)/h, y una duración de la fase de latencia $FL = 754,83h$. Comparando con la curva de crecimiento de levaduras en el cremogenado tenemos que la velocidad de crecimiento exponencial es menor ($RCE=0,00861(pfc/ml)h$) lo que podemos deducir que la adaptación de las levaduras en este cremogenado es mas lenta probablemente por la presencia de inhibidores (como los ácidos) o menor cantidad de nutrientes directamente disponibles (azúcares reductores y minerales). En cambio, la fase de latencia (FL), se ve extendida en este medio de cultivo ($FL=1242,45h$), por lo que se supone que existiría un periodo de adaptación al medio previo que facilite que esta fase se vea alargada en casi el doble, que en un medio de crecimiento normal, con esto se deduce que las levaduras pueden permanecer por largos periodos de tiempo presentes en el cremogenado de tomate de árbol en un estado de latencia, cosa que es perjudicial para el producto. Esto se comprueba pues el tiempo de generación es mayor en el cremogenado (Agar MEA $TG=32,684h$ vs. Cremogenado $TG=34,93h$) y manifiesta que las levaduras podrán reproducirse (o recuperarse) con mayor velocidad, cuando salgan de un lapso de latencia.

La Densidad máxima de población (DMP) es menor en el cremogenado que en el Agar MEA ($DMP_{Agar\ MEA}=16,338pfc/ml$ vs. $DMP_{Cremogenado}= 16,313pfc/ml$), justamente por que la fase de latencia alargada limita el crecimiento exponencial de las levaduras en el cremogenado de tomate de árbol.

En lo que respecta a la reducción del pH, es evidente concluir que es debida a la acidificación del medio por los ácidos y el CO₂ producidos por las mismas levaduras y como resultado inversamente proporcional al consumo de los azúcares lo cual se ve vinculado directamente con la disminución del grado Brix, según ambas curvas.

6. Resultados y Discusión en el Caracterización Cinética del Deterioro del cremogenado de tomate de árbol.

La investigación de los órdenes cinéticos en el pardeamiento enzimático del cremogenado de tomate de árbol es un estudio que lleva a identificar el comportamiento de este producto ante la alteración de su color original durante el almacenamiento. Al presentarse una división de este comportamiento en dos fases distintas de reacción con órdenes cinéticos distintos, se ha comprobado el fenómeno visual observado a lo largo del tiempo de un incremento de coloración durante los primeros 40 días de almacenamiento y posteriormente un progresivo oscurecimiento del cremogenado que desmejora cualitativamente las propiedades de color del producto, este fenómeno no ha sido observado en las muestras almacenadas en congelación, por lo que se ratifica que este último método de conservación es el mejor para la buena conservación de este tipo de cremogenado.

En la fase de incremento de la coloración, que se presenta durante los primeros 40 días, se tiene un orden primero de reacción el mismo que es afín a aquellos procesos de cambios químicos donde hay una oxidación del ácido ascórbico lenta en el medio ácido del cremogenado y por ende la evolución del color se presenta paulatinamente, esta reacción es favorecida por la presencia de oxígeno que ha sido absorbido al producto durante su procesamiento y en el envasado.

En la fase de oscurecimiento, que se presenta a partir de los 40 días en adelante, y que es progresiva a lo largo del tiempo, tenemos un orden cero de reacción, que es afín a los mecanismos de reacción de Maillard, en donde se tienen un grupo muy complejo de transformaciones que traen consigo la producción de melanoidinas coloreadas que van desde amarillo claro hasta café oscuro, o inclusive negro, debido a la presencia de los azúcares reductores (cetosa o aldosa) propios del producto y aquellos grupos amino libres, provenientes de un aminoácido o de una proteína, que se forman por el natural deterioro del producto.

6.3. Conclusiones y Recomendaciones

En esta investigación se ha demostrado que la aplicación correcta del método de elaboración Appert garantiza la estabilidad del producto en su almacenaje, evidentemente, se deberán realizar los controles de calidad en cada paso de este proceso, así como controles microbiológicos cada mes durante su vida de estante.

Se recomienda, para una conservación estable de este producto, que los parámetros finales de control del producto sean:

- Concentración del producto de 12,3° ~ 12,5° Brix,
- pH de 4,0
- Acidez de 2,12 ~ 2,14%
- No hay la necesidad de añadir aditivos preservantes.

Se concluye que el método de conservación en Congelación a -24° C, es el mejor para este producto, garantizando su estabilidad y buenas características más allá de los de tres meses y la conservación por Refrigeración a 2° C puede ser aceptada cuando el producto vaya a ser almacenado por un máximo de dos a tres meses.

En la evaluación sensorial se concluye que el cremogenado de tomate de árbol es aceptado por el consumidor como un producto con aspecto, color y olor natural. Sin embargo se menciona que posee un sabor ácido astringente y natural, por lo que se recomienda formular productos como mermeladas, jugos rápidos con pulpa, alimentos infantiles o compotas (*baby food*), etc.

La producción a nivel industrial deberá ser planificada en base a un proyecto de creación de una planta dimensionada de acuerdo a la demanda del producto, y se adquirirán los equipos necesarios para procesar la materia prima tal como se lo ha hecho en este estudio según el método Appert.

Se recomienda buscar envases más económicos y menos frágiles, tales como frascos o sachets de LDPE (Low Density Polietilene) gruesos y/o laminados, por la resistencia que poseen estos, a las temperaturas altas del envasado y las bajas del almacenamiento, también se pudieran utilizar envases laminados de cartón tales como el Tetra-pak, pero sea cual sea el envase, siempre asegurando la asepsia en el proceso de envasado.

La exportación de este producto en forma congelada, es una opción muy recomendada, previo estudio de los mercados internacionales interesados por el producto.

Los estudios de la consistencia han demostrado que este producto conservado en Congelación o Refrigeración, tiene la garantía que va a mantenerse en un grado de calificación "U.S. Grade A", al momento de su uso a temperatura ambiente.

Los estudios de crecimiento de las levaduras demostraron que el producto puede ser susceptible al ataque de estos microorganismos con modelos de crecimiento semejantes a los provocados en laboratorio. Se demuestra que el producto puede presentar descomposición frente al ataque de este tipo de microorganismo, se recomienda un buen control de estos y de los mohos durante el procesamiento y almacenaje.

Finalmente, por el estudio de deterioro por pardeamiento no enzimático, se concluye que el color del producto conservado en Refrigeración es estable hasta los 40 días de almacenamiento, el pardeamiento posterior, resta calidad al producto, una conservación por Congelación descarta estos fenómenos, por ello se la recomienda.

El producto ha sido evaluado y se ha demostrado que el mismo, puede ser manufacturado a nivel industrial siguiendo los métodos y controles aquí planteados. El resultado de esta investigación es positivo y se recomienda darle continuidad mediante un proyecto de factibilidad económico-industrial y mercadotécnico.

ANEXOS

Como anexos a esta investigación, presentaremos copias de los Informes certificados de control de calidad bromatológica y microbiológica del Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Izquieta Pérez" Regional Austro, realizados en una muestra conservada al ambiente por un periodo de dos semanas, después del primer procesamiento del cremogenado que se realizó el 21/05/2003. Ambos informes plantean que el producto es apto para el consumo humano y puede ser manufacturado a nivel industrial:

**INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL
"LEOPOLDO IZQUIETA PEREZ" REGIONAL AUSTRO**

CERTIFICADO DE CONTROL DE LA CALIDAD BROMATOLOGICA

Cuenca, 12 de junio del 2003
Memorandum No. 142 L.B-INHMTC

ANÁLISIS BROMATOLOGICO DE: PULPA DE TOMATE.

SOLICITADO POR : Sr. Galo Carillo y Sr. Carlos Avila
PROCEDENCIA : Producto elaborado en la Facultad de Ciencias Químicas de la U.
de Cuenca. Tesis previa a la obtención del título de Ingenieros
Químicos

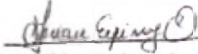
CARACTERES GENERALES.-
Envase : vidrio
Fecha de elaboración : 4/JUN/2003

CARACTERES ORGANOLEPTICOS.- Propios y normales.

CARACTERES FISICO QUÍMICOS.-

pH a 17 °C : 3.8
Acidez expresado en ácido cítrico : 2.1 g %
Sólidos solubles : 13 ° Brix
Humedad (Pérdida por calentamiento) : 86 g %
Extracto seco : 14 g %
Grasa total : 0 g %
Proteínas : 2.3 g %
Carbohidratos : 6.6 g %
Colorantes artificiales : Negativo

CONCLUSION: Por no existir Norma INEN para el producto se toma como referencia las Normas Sanitarias Panamericanas (OFSANPAN y ALUTZ pag. 637) respectivas, con las que cumple.


Dra. Miriam Espinoza O.
ANALISTA

Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical
"LEOPOLDO IZQUIETA PEREZ"
Departamento de Bromatología
Laboratorio de Calidad


Dra. María Chauvin de G.
JEFE DEL LABORATORIO DE BROMATOLOGIA

**INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL
"LEOPOLDO IZQUIETA PEREZ" REGIONAL AUSTRO**

CERTIFICADO DE CONTROL DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA

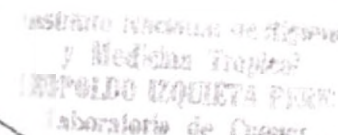
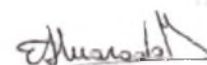
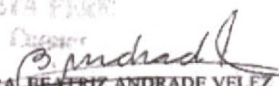
Cuenca, Junio 16 del 2003
Memorandum No. 057 LMS-AL

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE: PULPA DE TOMATE DE ARBOL

FECHA DE ELABORACIÓN : Junio 4 del 2003
SOLICITADO POR : Sr. Galo Carrillo y Sr. Carlos Avila B.
PROCEDENCIA : Producto elaborado en la Universidad, de Cuenca
Facultad de Ciencias Químicas, Tesis previa a la
Obtención del título de Ingenieros Químicos.
DIRECCIÓN : Av. 12 de Abril
Cuenca - Ecuador

PRUEBAS REALIZADAS		VALORES DE REFERENCIA
AEROBIOS MESOFILICOS REP/ g	: 560 ufc	10000 UFC
COLIFORMES TOTALES NMP/ g	: AUSENCIA	AUSENCIA
MOHOS Y LEVADURAS REP/ g	: AUSENCIA	50 UFC

OBSERVACIÓN: Por no existir normas INEN para el producto se tomó como referencia
Los límites de tolerancia dados por el INHMT "LIP" Guayaquil.



DRA. ELSY ALVARADO M.
ANALISTA

DRA. BEATRIZ ANDRADE VELEZ
JEFE LABORATORIO MICROBIOLOGIA SANITARIA

Nota: En los informes existe un error en la fecha de elaboración, la cual realmente es (25/05/2003), y que fue confundida con la de entrega de las muestras para su análisis (04/06/2003).

BIBLIOGRAFIA

- "Conservación de Alimentos"*. Norman W. Desrosler.
Edit. Continental S.A. México, DF. 1964.
- "Conservación de Frutas y Hortalizas. Manuales de Técnicas Agropecuarias"*. Venancio López Lorenzo.
Edit. Acribia. Zaragoza-España. 1976.
- "Composición y Análisis de Alimentos de Pearson"*. Edit. Continental S.A De (CV), México. 1999. R.S. Kirk/R. Sawyer/H. Egan.
- "Estadística Básica para las Ciencias Sociales y del Comportamiento"*. Kenneth D. Hopkins,
3ra. Edición. Edit. Pearson Education. B.R. Hopkins, Gene V. Glass.
Mexico DF. 1996.
- "Evaluación Sensorial. (Prácticas de Laboratorio)"*. Daniel Pedrero F., Maria
Facultad de Química UNAM. Dep. de Victoria Coutiño C., Dulce
Alimentos y Biotecnología. México. Ma. Gómez A., Rocío Sasía A.,
Elizabeth Sánchez T.
- "Fabricación de Conservas Alimenticias, Industriales y Domésticas"*. Seg. Ed. M. Moulin.
Edit. Seirahima y URPI. Barcelona-España.
- "Guía de Cultivos"*. Instituto Nacional Autónomo de
Quito-Ecuador. 1999. Investigaciones Agropecuarias
(INIAP).
- "Introducción a la Reología de Alimentos"*. Eric Gahona M.
Operaciones Unitarias I. Ing. de Alimentos.
Universidad de la Serena. Chile, 1981.
- "Métodos Seleccionados para el Control Microbiológico de Alimentos"*. Instituto de Investigaciones
Boletín Técnico No. 14. Tecnológicas. Escuela Politécnica
Quito-Ecuador. 1979 Nacional y el Ministerio de
Agricultura y Ganadería.
- "Microbiología Moderna de los Alimentos"*. Edit. Acribia, James M. Jay.
Zaragoza-España. 1973.

- "Microbiología de los Alimentos"*.
Edit. Acribia. Zaragoza-España. 1976. W.C. Franzier.
- "Química de los Alimentos"*. 3ra. Edición.
Longman de México Editores, S.A de (CV).
Pearson Education. México. 1993. Salvador Badui Dergal.
- "Química de los Alimentos"*.
Edit. Acribia S.A. Zaragoza-España
1993. Owen R. Fennema
- "Técnica de la Ingeniería Alimentaria"*.
Edit. Dossat S.A. Madrid. 1965. Dr. Marcel Loncin.
- "Tecnología de Conservas Vegetales"*.
Publicaciones del Departamento de
Difusión Cultural. Universidad de Cuenca.
Escuela de Ing. Química.
Cuenca-Ecuador. 1996. Dr. Miguel Carrión Calderón.
- Tesis: *"Análisis Bromatológico
comparativo entre las variedades de
Tomate Riñón y Berenjena"*.
Universidad de Cuenca. Cuenca-Ecuador. Dr. Luis Cuesta Alcívar.
- Tesis: *"Caracterización reológica y
microbiológica, y cinéticas de
deterioro en cremogenado de melocotón"*.
Universitat de Lleida. Salamanca. Salvador Garza Garza
- Tesis: *"Crecimiento, Nutrición, Producción
y Calidad de Frutos de Tomate de Árbol
(Cyphomandra betacea Sendt.) en
Cuenca, Ecuador"*. Colegio de Postgraduados.
Montecillo, Texcoco, Edo. De México. 2001. Ing. Carlos Feicán Mejía.
- Tesis: *"Estudio Bromatológico de la
Guayaba (Psidium S.P.)"*.
Universidad de Cuenca. Esc. de Bioquímica.
Cuenca-Ecuador. 1992. Zonia Andrade Bohorque,
Rosa Lasso Marroquín.
- "Transport Phenomena"*.
Dep. Ing. Química de la Universidad
de Wisconsin. Edit. Reverté S.A.
Barcelona, Bogotá, Buenos Aires,
Caracas, México. 1975. España. R. Byron Bird,
Warren E. Steward,
Edwin N. Lightfoot.

"Tomate de Árbol" Identificación de Mercados y Tecnología para Productos Agrícolas Tradicionales de Exportación Quito-Ecuador, 2001.

Fuente: Convenio MAG/IICA,
(Subprograma de Cooperación Técnica)
<http://www.sica.gov.ec/agronegocios/Biblioteca>

"Total Quality Assurance for the Food Industries". Sec.Edition.
CTI Publications, Inc. USA. 1993.

Wildbur A. Gould, Ph. D.
Ronald W. Gould, Ph. D.

"Validación y comparación de modelos de crecimiento microbiano".
Facultad de Agroindustrias – UNNE.
Chaco-Argentina, 2001.

Cayré, Maria E.
<http://www.unne.edu.ar/cyt/2001/8-Exactas/E-005.pdf>

Normas INEN:

Instituto Ecuatoriano de
Normalización. (INEN).

- *"Conservas de Fruta. Terminología"*.
(NTE INEN 377:1979).
- *"Conservas Vegetales. Requisitos Generales"*.
(NTE INEN 405:1986).
- *"Conservas Vegetales. Determinación de Sólidos Solubles"*.
(NTE INEN 380:1986).
- *"Conservas Vegetales. Determinación de la Acidez Titulable"*.
(NTE INEN 381:1986).
- *"Conservas Vegetales. Determinación del Extracto Seco"*.
(NTE INEN 382:1986).
- *"Control Microbiológico de los Alimentos, Determinación de Microorganismos Anaerobios Totales"*.
(NTE INEN 1529-17:1998).
- *"Control Microbiológico de los Alimentos, Recuento de bacterias"*.
(PRO INEN 1529-4:1998).
- *"Control Microbiológico de los Alimentos, Determinación de Numero de Hifas de Mohos por la Técnica de Howard "*.
(NTE INEN 1529-12:2000).
- *"Control Microbiológico de los Alimentos, Determinación de Mohos y Levaduras viables"*.
(NTE INEN 1529-10:1998).



- *"Control Microbiológico de los Alimentos, Determinación de Microorganismos Coliformes por la técnica de recuento de colonias".* (NTE INEN 1529-7:1999).
- *"Control Microbiológico de los Alimentos, Determinación de Coliformes fecales y E. Coli".* (NTE INEN 1529-8:2000).
- *"Control Microbiológico de los Alimentos, Determinación de Presencia o ausencia de Coliformes (Utilizando medio líquido)".* (NTE INEN 1529-9:2000).
- *"Conservas Vegetales. Productos derivados del Tomate. Determinación del Color".* (NTE INEN 396:1979).
- *"Conservas Vegetales. Determinación de la Densidad Relativa".* (NTE INEN 391:1978).
- *"Determinación de la Fibra Cruda, en Harinas de Origen Vegetal".* (NTE INEN 0522:1998).
- *"Salsa de Tomate. Determinación de la Consistencia".* (NTE INEN 1 899: 1998).
- *"Salsa de Tomate. Requisitos".* (NTE INEN 1 026:68). 1998.

Normas OFSANPAN:

Oficina Sanitaria Panamericana de la Organización Mundial de la Salud. (OFSANPAN). Normas Sanitarias de Alimentos. (Tomo II).

- *"Pulpas de Frutas".* (OFSANPAN No. 053-03-03M).