

Evaluación del pardeamiento enzimático durante el almacenamiento en congelación del puré de palta (*Persea americana Mill*) Var. Hass.

Ernesto Hernández M. ¹, Luis Briceño B. ²

Resumen

Con la finalidad de prolongar su tiempo de conservación, pulpa refinada de palta variedad Hass fue tratada con antioxidantes (mezcla de ácido cítrico y ácido ascórbico) y envasada al vacío y sin vacío, luego de lo cual fue almacenada en congelación (-18 °C) durante 150 días. Al inicio y durante el almacenamiento se determinó la actividad enzimática de la polifenoloxidas (PFO) y se evaluó el color de la pulpa en base al sistema de coordenadas de cromaticidad L, a y b. Durante el almacenamiento se evaluó también el pH y las características sensoriales. Se encontraron altas reducciones de actividad de la PFO cuando el ácido cítrico y el ácido ascórbico fueron adicionados como aditivos. El puré con alta disminución de la actividad de la PFO fue menos sensible al cambio de color, el que se manifestó por la pérdida de la luminosidad original y el verdor de la pulpa. Los aditivos utilizados fueron los factores que más evitaron las reacciones de pardeamiento.

Palabras clave:

Abstract

The inhibition of enzymatic browning catalyzed by polyphenol oxidase (PPO) is still an important challenge in food processing. The objective of this research work was to evaluate the feasibility of using additives and vacuum storage during 5 months under frozen temperatures (-18°C), in reducing browning of avocado purée through the evolution of PPO activity and HunterLab color parameters. Higher reductions of activity were achieved when citric acid and ascorbic acid were added as additives. Avocado purees with greater activity decrease were less sensitive to colour changes. These changes occurred in avocado, thus losing the original lightness and greenness of the pulp. The additives utilized were the factor that most avoid browning reactions.

Key words:

1. Introducción

El pardeamiento enzimático catalizado por la polifenoloxidas (PFO) es uno de los principales problemas en la preservación de la pulpa de la palta, afectando así la apariencia general del producto, y por tanto su calidad, pues el color es a menudo asociado con la frescura de la fruta y es uno de los más importantes atributos de calidad porque es percibido inmediatamente por el consumidor. El pardeamiento enzimático causa cambios en la apariencia y las propiedades organolépticas de frutas y vegetales y, además, también una disminución en el valor de mercado. Este estudio planteó alcanzar una mayor estabilidad de la pulpa de palta, de manera que se contribuya a mejorar las posibilidades de exportación de este producto.

La finalidad de este trabajo fue evaluar el uso de aditivos (ácidos ascórbico y cítrico) y el envasado al vacío para el almacenamiento en congelación (-18°C) durante cinco meses con el fin de disminuir el pardeamiento del puré de la palta, para lo cual se evaluó la actividad de la PFO, los parámetros de color Hunter Lab y las características sensoriales, en tal sentido, se plantearon los siguientes objetivos:

Evaluar el efecto conjunto de los ácidos ascórbico y cítrico y del envasado al vacío sobre la actividad de la polifenoloxidas del puré de palta variedad Hass en el almacenamiento en congelación (-18 °C) durante 5 meses.

Determinar el efecto conjunto de los ácidos ascórbico y cítrico y del envasado al vacío sobre las

características físicas y sensoriales del puré de palta variedad Hass durante cinco meses de almacenamiento en congelación (-18 °C).

2. Materiales y métodos

2.1 Lugar de ejecución

Laboratorio Análisis Físico-químicos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima y Planta de Producción y Congelación de la empresa NISA Agroempaquas, ubicada en el parque industrial del Callao.

2.2 Materia prima

Se utilizó palta variedad Hass proveniente del campo agrícola experimental del Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA). Lima.

2.3 Equipos y materiales

Colorímetro, marca Minolta CR-200; Espectrofotómetro, marca GenesysTM6, rango 190-1100nm; pHmetro, marca LH Leybold didactic GMBH; Túnel de congelación, temperatura de congelación hasta -45°C; Bolsas coextruidas de polietileno nylon, marca Cryovac.

2.4 Métodos de análisis

2.4.1 Análisis químico proximal

El análisis químico proximal se realizó a la pulpa de la palta fresca y al puré de palta recién procesado, según las metodologías siguientes: **Humedad**, por pérdida por secado a 135°C por 2 horas según el método 930.15 de la A.O.A.C. (2000); **Proteína**, por ensayo Kjeldahl, según el método 978.04 de la A.O.A.C. (2000); **Grasa Cruda**, por extracción Soxhlet según el Food Análisis: General Techniques

¹ Ingeniero en Industrias Alimentarias. Facultad de Industrias Alimentarias. UNALM

² Facultad de Industrias Alimentarias, de la Universidad Nacional Agraria La Molina. E-mail: labri@lamolina.edu.pe.

pp. 212-213 de la FAO (1986); **Cenizas totales**, por ignición en mufla a 550°C según el Food Analysis: General Techniques pp. 228-229 de la FAO (1986); **Fibra Cruda**, por remoción con solventes como solución sulfúrica en ebullición, solución de hidróxido de sodio en ebullición, ácido hidroclicorico, alcohol y éter, según el Food Analysis: General Techniques pp. 230-231 de la FAO (1986); **Carbohidratos**, por diferencia restando de 100 los porcentajes de humedad, proteína, grasa cruda, cenizas totales y fibra cruda, según Nielsen (1998).

2.4.2 Cinética de la enzima polifenoloxidasasa

Se midió el efecto del pH y de la temperatura sobre la actividad enzimática como se indica a continuación:

a) Influencia del pH sobre la actividad enzimática

Se preparó soluciones 0.02M del sustrato catecol, a diferentes valores de pH, reguladas mediante buffer McIlvaine, desde valores de pH de 3.5 hasta 7.5 con intervalos de 0.5 (Guadarrama y Rivas, 1995; Rivas, 1977).

b) Influencia de la temperatura sobre la actividad enzimática

Se preparó una solución 0.02M del sustrato catecol, a pH 6.5, y se fue variando su temperatura, desde 15°C

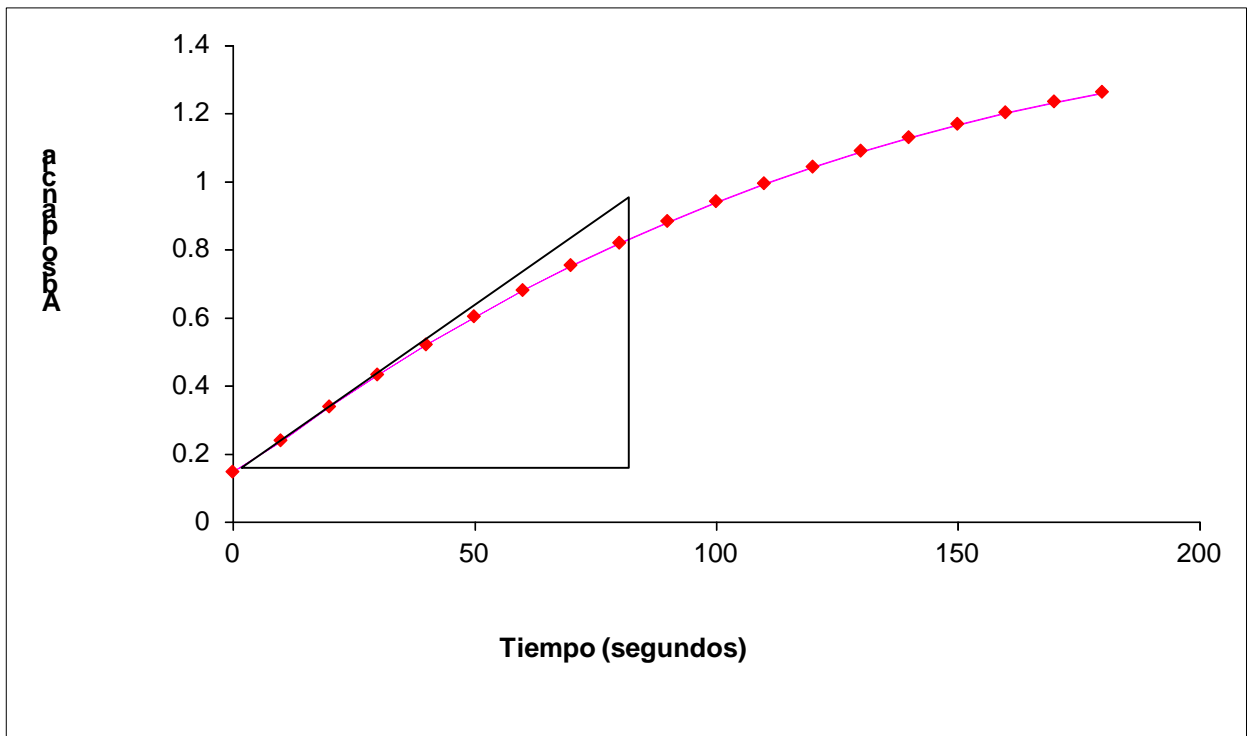
hasta 60°C, en incrementos de 5°C.

2.4.2.1 Determinación de la actividad enzimática, se basó en la metodología de Soliva *et al.* (2001) siguiente:

a.- Extracción de la polifenoloxidasasa.- Una porción de 25 g de puré de palta se mezcló con 25 ml de una solución de buffer McIlvaine a pH 6.5. La mezcla homogeneizada se centrifugó (12000 rpm. durante 30 min.) al vacío a 4°C. El residuo sólido fue desechado y el sobrenadante extraído fue filtrado a través de papel Whatman N°4. El líquido resultante constituye el extracto enzimático.

b.- Medida de la actividad de la polifenoloxidasasa.- La actividad enzimática se determinó a través de la densidad óptica (DO) colocando 3 ml de solución de catecol 0.02M (sustrato) en una cubeta de vidrio de 1 cm de ancho y se agregó 70µl de extracto enzimático (EE). Se hicieron lecturas de la absorbancia a 410nm cada 10 segundos durante un tiempo de 3 minutos. La actividad enzimática ($\Delta DO/min$) fue calculada usando regresión lineal de la parte inicial lineal de la curva "absorbancia vs tiempo de reacción" (Weemaes *et al.*, 1999) tal como se observa en la Figura 1.

Figura 1. Determinación de la actividad enzimática.



2.4.2.2 Cálculo de la velocidad máxima de reacción enzimática ($V_{m\acute{a}x}$)

Primero se determinó por triplicado la velocidad enzimática inicial (V_0) a cuatro diferentes concentraciones $[S]$ del sustrato catecol: 0.050, 0.035, 0.020 y 0.005 M, a las que luego se les adicionó 50, 60, 70 y 80 µL de extracto enzimático

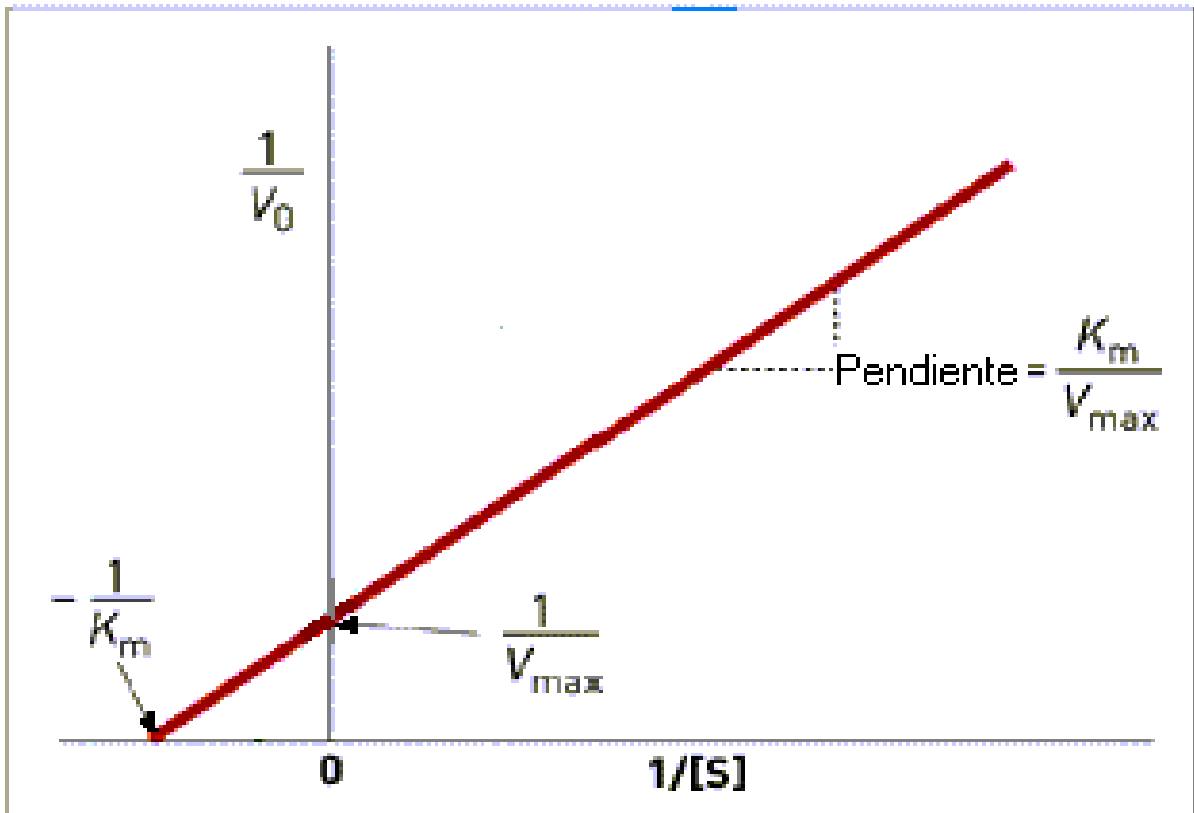
(EE) respectivamente. Luego Se aplicó la ecuación de Lineweaver- Burk (1934), forma lineal de la ecuación de Michaelis-Menten.

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

En esta ecuación, la pendiente y los interceptos en X e Y permiten la determinación de la constante de Michaelis-Menten (K_m) y la velocidad máxima

enzimática (V_{\max}) tal como se aprecia en la Figura 2.

Figura 2. Determinación de la velocidad máxima enzimática (V_{\max}).



2.3.3 Medición del color. Coordenadas Hunter L, a y b

Se midió en el colorímetro, la luminosidad “L”, la coordenada “a” (donde a^+ es eje de rojo y a^- es eje de verde) y la coordenada “b” (donde b^+ es eje de amarillo y b^- es eje de azul) (Minolta, 1993).

2.4.4 Evaluación del pH

Aplicación potenciométrica, según método 981.12 de la A.O.A.C.(1995).

2.4.5 Análisis sensorial.

Se realizaron **Pruebas Triangulares** para determinar si se producen cambios en el sabor sui géneris del puré de palta recién obtenido debido a la aplicación de los aditivos (Anzaldúa-Morales, 1994).

Mediante la prueba de **Escala Hedónica** se buscó determinar el nivel de agrado que alcanza cada uno de los atributos de los tratamientos. Los atributos sensoriales evaluados mediante esta prueba fueron color, olor, textura, sabor y aceptabilidad; medidos según la escala de intervalos de cinco niveles, con el siguiente puntaje: “Me agrada mucho”, 5 puntos; “Me agrada”, 4 puntos; “Ni me agrada ni me desagrada”, 3 puntos; “Me desagrada”, 2 puntos; “Me desagrada mucho”, 1 puntos.

También se condujeron **pruebas de Orden de Preferencia (Ranking)** para ordenar los tratamientos según el grado de preferencia. En la determinación de la ponderación promedio del ranking (PR) de cada tratamiento, se asignó al primer orden el puntaje 1, al segundo orden el puntaje 2, al tercer orden el puntaje 3 y al cuarto orden el puntaje 4, luego se aplicó:

$$PR = \frac{\sum_{\text{Primerorden}}^{\text{Cuartoorden}} [(CP)(PA)]}{\sum_{\text{Primerorden}}^{\text{Cuartoorden}} (CP)}, \text{ donde:}$$

CP = Cantidad de panelistas que ubican a un tratamiento en un mismo ranking.

PA = Puntaje asignado al ranking elegido por CP.

2.5 Metodología experimental.

La Figura 3 muestra el esquema experimental de la investigación. El diseño experimental del presente estudio correspondió a un arreglo factorial 2^2 : 4 tratamientos con 3 unidades experimentales (repeticiones).

Figura 3. Esquema experimental de la investigación.

OPERACIONES UNITARIAS	Cosecha. Preselección Lavado. Desinfectado. Selección. Extracción de pulpa. Pulpeado y refinado.	Estabilización	Envasado	Congelado	Almacenamiento
TRATAMIENTOS		Sin aditivos (SA) Con aditivos (CA)	Sin vacío (SV) Con vacío (CV) Sin vacío (SV) Con vacío (CV)		SA -SV CA -SV SA -CV CA -CV
CONTROLES	Lavado: 150 ppm de cloro. Almacenamiento: 5°C Lavado y desinfectado: 10 ppm de cloro Refinado: 2 mm luz de malla	Sorbato de potasio 300ppm		Pre túnel T° -5°C Túnel T° -20°C	T° cámara: -18°C Análisis (Ver Cuadro 3)

En la Tabla 1 se indican los tratamientos originados por la aplicación de los aditivos y el vacío.

Tabla 1. Tratamientos originados por la aplicación de los aditivos y el vacío.

Aditivos	No	Si	No	Si
Vacío	No	No	Si	Si
Tratamientos	SA-SV	CA-SV	SA-CV	CA-CV

2.6 Análisis estadístico.

El diseño experimental de cuatro tratamientos tuvo las siguientes variables paramétricas de evaluación: la velocidad máxima ($V_{m\acute{a}x}$) de reacción de la polifenoloxidasas, las coordenadas del color y el pH. Las variables se interpretaron individualmente a través de un análisis de varianza (ANVA), para poder determinar la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos.

3. Resultados y discusión

3.1 Caracterización de la pulpa fresca y del puré de palta variedad Hass

En la Tabla 2 se reportan los resultados de la composición química proximal de la pulpa fresca y del puré de palta variedad Hass

Tabla 2. Composición química proximal de la pulpa fresca y del puré de la palta variedad Hass (g/100g, b.h.).

Composición	Pulpa fresca	Puré de palta
Humedad	64.8	67.8
Proteína	2.1	2.4
Grasa Cruda	21.2	21.4
Fibra Cruda	8.0	4.1
Cenizas Totales	1.8	1.5
Carbohidratos	2.1	2.8

Los valores de la composición químico proximal de la palta fresca variedad Hass son similares a los reportados por Briceño (1994), Nagalingam (1993). Comparando la composición química proximal entre la pulpa de palta fresca y el puré de palta recién procesada, se puede apreciar que la principal diferencia corresponde al contenido de fibra cruda, debido a que durante la obtención del puré de palta, en la operación de pulpeado-refinado, parte de la fibra cruda queda retenida en las mallas. La cantidad de fibra cruda en la pulpa de palta fresca fue de 8g/100g (bh) y en el puré disminuyó a 4.1g/100g (bh). Los demás componentes también se ven ligeramente aumentados en la pulpa refinada como consecuencia de la disminución en ésta de la fibra cruda.

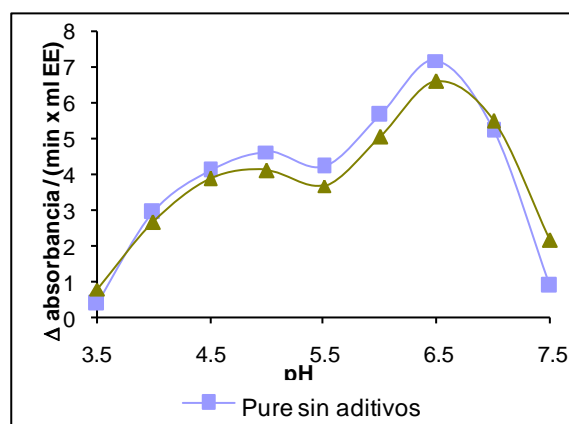
3.2 Caracterización del puré de palta recién procesado.

3.2.1 Cinética enzimática de la polifenoloxidasas (PFO)

a) Actividad enzimática a diferentes valores de pH

En la Figura 4 se muestran los resultados de la actividad enzimática de la PFO a diferentes valores de pH.

Figura 4. Efecto del pH sobre la actividad de la PFO del puré de palta var. Hass al inicio del almacenamiento.



Dentro del rango de pH de 3.5 a 7.5, la PFO mostró la mayor actividad a un pH de 6.5, tanto para el producto con aditivo como para el producto sin aditivo, mientras que la mínima actividad se dio a un pH de 3.5.

Como puede verse en la misma Figura 4, en el rango de pH de 4 a 6.5 se produce una actividad enzimática ligeramente menor en el puré con aditivos, lo que demostraría la acción inhibitoria de éstos sobre dicha actividad. También, se aprecian dos inflexiones o picos de máxima actividad enzimática, uno a pH 5 y el otro a pH 6.5. El pico a pH 5 se podría deber a la actividad de las monofenolasas, constituyente del grupo de las polifenoloxidasas presentes en la palta variedad Hass; Espin *et al.* (1997) encontraron un pH óptimo de 5 para la actividad de la PFO de la misma variedad de palta.

De acuerdo a los resultados de la actividad de la PFO en función del rango de pH estudiado, convendría almacenar la pulpa de palta de la variedad Hass al pH de mínima actividad: 3.5 o 7.5. Esto implicaría bajar drásticamente o subir moderadamente el pH natural de la palta Hass, (6.85). Sin embargo, esto causaría cambios significativos en el sabor de la palta, no aceptables por el consumidor. Se tendría pues que buscar un pH que soporte cambios aceptables en su sabor con la finalidad de evitar cambios en el color y prolongar así el tiempo de vida en el almacenamiento en congelación.

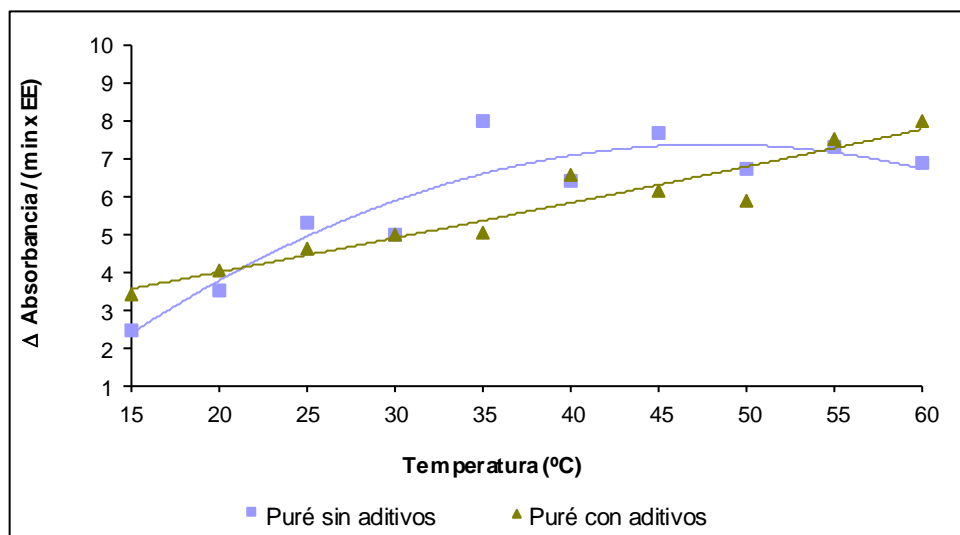
b) Actividad enzimática a diferentes temperaturas

La PFO del puré de palta recién procesado y sin aditivos mostró una mayor actividad que la del puré de palta con aditivos a medida que aumentaba la temperatura entre los 25 °C y los 50 °C (Fig. 5), lo cual refleja el efecto inhibitorio del ácido cítrico y del ácido ascórbico sobre la actividad de la PFO. Sin embargo, por encima de los 55 °C, la actividad de la PFO del puré de palta sin aditivo muestra un descenso, debido probablemente al efecto desnaturizante del calor sobre las proteínas enzimáticas. En cambio, en el caso del puré de palta recién procesado con aditivos, se aprecia que a medida que aumenta la temperatura, aumenta la actividad de la PFO en forma lineal hasta los 60 °C.

Por encima de los 50 °C se observa que la actividad de la PFO del puré de palta con aditivos es mayor que la del puré sin aditivos. Esto podría deberse a algún efecto protector de los aditivos ácido ascórbico y ácido cítrico contra la desnaturalización térmica de la enzima como molécula proteica, o al favorecimiento de algún cambio químico en la estructura de la PFO; no se han encontrado reportes

parecidos de este comportamiento, pero sí se debe tener en consideración que el puré de palta con aditivos presenta un pH de 4.1, pH bajo el cual la enzima presenta diferente estructura y comportamiento al medio (López-Malo *et al.*, 1999), por lo que podría darse el caso que tenga un máximo de actividad para una temperatura mayor a 60 °C.

Figura 5: Efecto de la temperatura sobre la actividad de la PFO del puré de palta var. Hass al inicio del almacenamiento, día 0



c) Velocidad máxima de actividad enzimática

La velocidad máxima [Δ Absorbancia / (minuto x ml Extracto Enzimático)] de la enzima PFO a 25°C, del puré de palta sin aditivos fue de 6.05 y del puré de palta con aditivos de 5.74, estos resultados confirmarían el efecto de los aditivos utilizados sobre la actividad de la PFO. Soliva *et al.* (2001) sostiene que el ácido ascórbico no actúa directamente sobre la enzima pero sí retarda su efecto de pardeamiento, principalmente a través de la reducción de las ortoquinonas generadas por la acción de la enzima sobre los componentes fenólicos.

3.2.2 Color

En el Cuadro 3 se presentan los resultados de las mediciones del color, en donde se muestra el valor de las coordenadas del sistema Hunter Lab. En ambos casos, con aditivo y sin aditivo, los valores de b(+) asociados con el color amarillo, son mayores que los valores de a(-), asociados con el color verde, lo cual evidencia el predominio del color amarillo del puré de palta.

Tabla 3. Medición del color, día 0.

Unidades de Color	Puré de palta	
	Sin aditivos	Con aditivos
L	49.93	50.78
a	-5.43	-4.17
b	14.44	14.67

Se observa también que los valores de las coordenadas L y b del puré de palta sin aditivos, son ligeramente menores que los del puré de palta con aditivos, lo cual pone de manifiesto que la aplicación

de aditivos aumenta levemente la luminosidad (L) y resalta en forma leve el color amarillo del puré de palta. En cambio, el valor de la coordenada a(-) (asociada con el color verde) del puré con aditivos muestra un mayor descenso con respecto al puré sin aditivos; esto significa que hay un descenso o debilitamiento de la intensidad del componente verde del puré de palta por acción de aditivos. Esta disminución del color verde se debería al efecto del pH sobre la clorofila (Fennema, 2000).

El comportamiento del puré de palta de este trabajo por efecto de los aditivos, coincide en cierta medida con lo reportado por Soliva *et al.* (2001), quienes encontraron una variación apreciable de color del puré de palta por efecto de la adición de EDTA, ácido ascórbico y ácido cítrico, tornándose más luminoso (incremento de L), menos verdoso (disminución de a) y más amarillento (aumento de b).

3.2.3 pH

El pH del puré de palta sin aditivos presenta un valor igual al de la pulpa de palta fresca o natural, 6.85; mientras que en el puré de palta con aditivos (ácido cítrico y ácido ascórbico) se produce un descenso lógico con respecto al del puré sin aditivos, de 6.85 a 4.10.

3.2.4 Análisis sensorial del sabor

Como resultado de la prueba triangular en el puré de palta recién obtenido para detectar la diferencia en el sabor por efecto de la aplicación de aditivos ácido ascórbico y ácido cítrico, se tuvo que, de un total de 28 panelistas no entrenados, 26 detectaron diferencias o cambios en el sabor sui géneris del puré de palta,

calificándolo como sabor ácido. Este sabor ácido adquirido se debe fundamentalmente al ácido cítrico agregado como aditivo, debido a que disminuye drásticamente el pH de la pulpa, volviéndolo ácido.

Estadísticamente, según las tablas de niveles de acierto para prueba triangular (Anzaldúa – Morales, 1994), para 28 panelistas con más de 19 aciertos existe el 99.9% de confiabilidad en la percepción de cambio de sabor por aplicación de aditivos.

3.3 Cambios en el puré de palta durante el almacenamiento en congelación

3.3.1. Cinética de la enzima polifenoloxidasas

a) Actividad enzimática a diferentes valores de pH.

Se observa (Figura 6), en términos generales, que al final del almacenamiento (150 días) la actividad de la PFO de la palta en función del pH de los tratamientos estudiados presenta un comportamiento o una trayectoria análoga al del puré de palta recién obtenido (día 0), pero en mayor intensidad de actividad, lo cual demuestra que ni la aplicación del frío, ni los aditivos ni el vacío inhiben completamente la actividad de las PFO, sino que ésta permanece latente. La máxima actividad enzimática en todos los tratamientos se presenta a un pH de 6.5, siendo

mayor esta actividad en orden decreciente en los tratamientos: SA-SV, CA-SV, SA-CV y CA-CV.

En función al pH, los tratamientos sin vacío presentan mayor actividad enzimática por la presencia de oxígeno que los tratamientos con vacío, durante el almacenamiento en congelación. Estos resultados evidencian el efecto positivo del vacío sobre la conservación del puré de palta al retardar la actividad de las PFO.

b) Actividad enzimática a diferentes temperaturas.

En la Figura 7 se puede apreciar que, en todos los tratamientos, a medida que aumenta la temperatura en el rango de 10 °C a 60 °C se incrementa la actividad de la enzima; este fenómeno se presenta en mayor medida en el tratamiento sin vacío y sin aditivo (SA-SV). Esta diferencia en la actividad de la PFO entre el tratamiento sin aditivo y sin vacío (SA-SV) y los demás tratamientos, permitiría esperar que la aplicación de aditivos y vacío produzca la disminución del pardeamiento enzimático del puré de palta, dentro del rango de temperatura estudiado.

Figura 6. Efecto del pH en la actividad de la PFO, día 150.

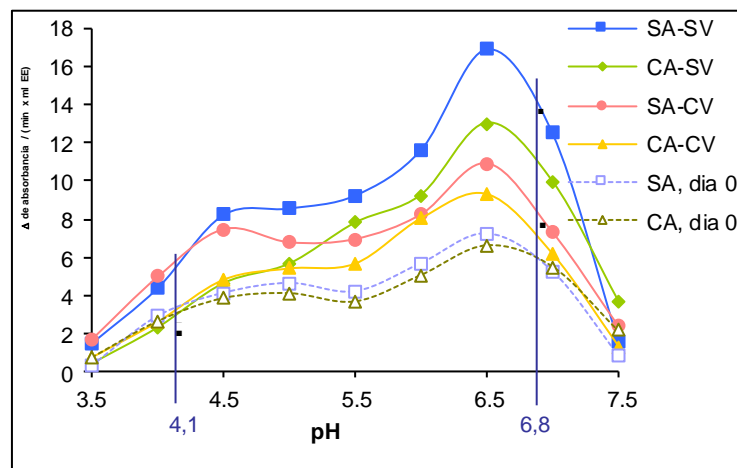
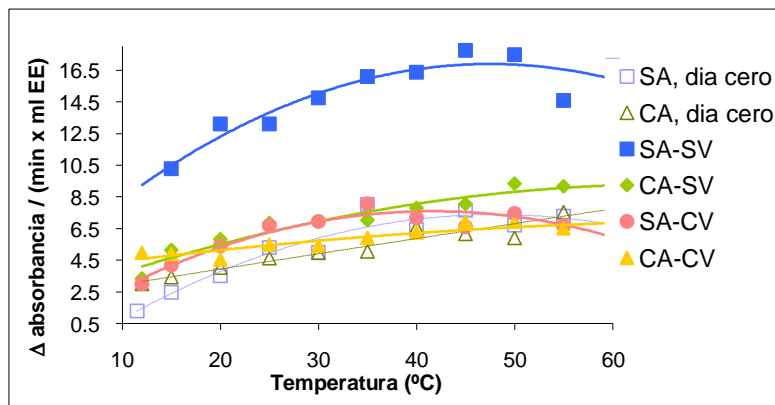


Figura 7. Efecto de la temperatura en la actividad de la PFO, día 150.



Debido que a menor temperatura la actividad enzimática es menor, las operaciones de procesamiento del puré de palta deben de realizarse

a temperaturas de refrigeración a fin de reducir la posibilidad del oscurecimiento enzimático. Si se proyectaran las curvas hacia temperaturas de -18°C,

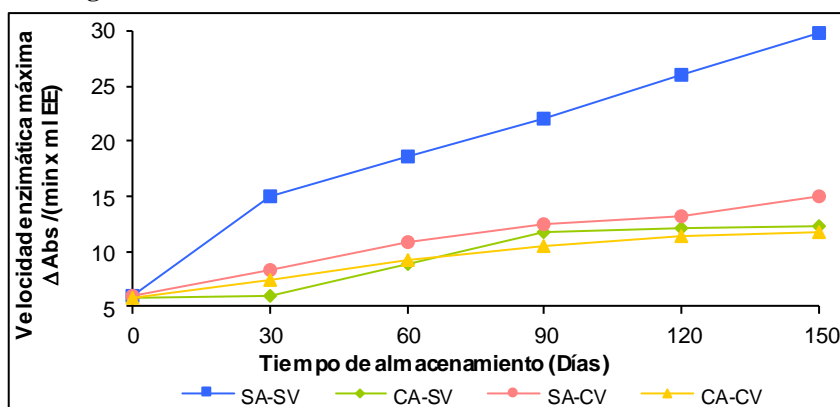
se tendrá que los tratamientos presentarían muy bajos niveles de actividad enzimática, por lo tanto, la congelación mejoraría la conservación del puré de palta al disminuir el pardeamiento enzimático.

c) Velocidad máxima de actividad enzimática (V_{máx}).

Como se puede apreciar en la Figura 8, a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, se incrementa la velocidad máxima de la enzima en todos los tratamientos. El mayor pardeamiento se daría en los tratamientos que no llevan aditivos. La explicación de este comportamiento puede deberse a lo mencionado por Palou *et al.* (2000), quienes

indican que la intensificación del pardeamiento enzimático se produce debido al incremento de la concentración de PFO en forma activa; durante el almacenamiento, la PFO en forma latente se estaría transformando a su forma activa. Por otra parte, Gauillard y Forget (1997) sostienen que el incremento de la actividad de las PFO durante el almacenamiento se debe a su liberación parcial de las membranas intracelulares, interacción con fenoles, por desnaturalización parcial (proteólisis o fragmentación) y debido a la activación de formas latentes.

Figura 8. Velocidad enzimática máxima durante el almacenamiento.

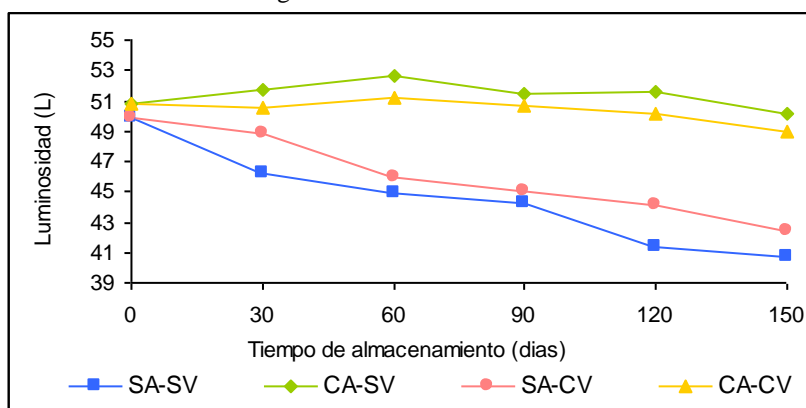


De lo anterior se puede deducir que, en el puré de palta se produciría un incremento del pardeamiento enzimático conforme transcurre el tiempo de almacenaje siendo mucho mayor este incremento en el tratamiento SA-SV (sin antioxidante sin vacío). Observando la Figura 8 se confirma el efecto de los factores de inhibición: aplicación de aditivos (los tratamientos con aditivos tienen menor velocidad que los tratamientos sin aditivos) y envasado al vacío (los tratamientos al vacío tienen menor velocidad que los tratamientos sin vacío). Estadísticamente se encontró que la aplicación de aditivos y el envasado al vacío tienen influencia significativa sobre la V_{máx} de la PFO de la pulpa de palta variedad Hass durante todo el período de almacenamiento en congelación (150 días).

3.3.2. Color. Coordenadas del color L, a, b

En la Figura 9 se presenta el comportamiento de la **luminosidad** del puré de palta durante el almacenamiento en congelación. En los tratamientos sin aditivos, SA-SV y SA-CV, a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento, el valor de la luminosidad va disminuyendo, lo cual indica que el puré de palta se va tornando menos brillante o más opaco. La misma tendencia, aunque en menor magnitud, se aprecia en los tratamientos con aditivos, CA-SV y CA-CV.

Figura 9: Variación de la luminosidad del puré de palta variedad Hass durante el almacenamiento en congelación.

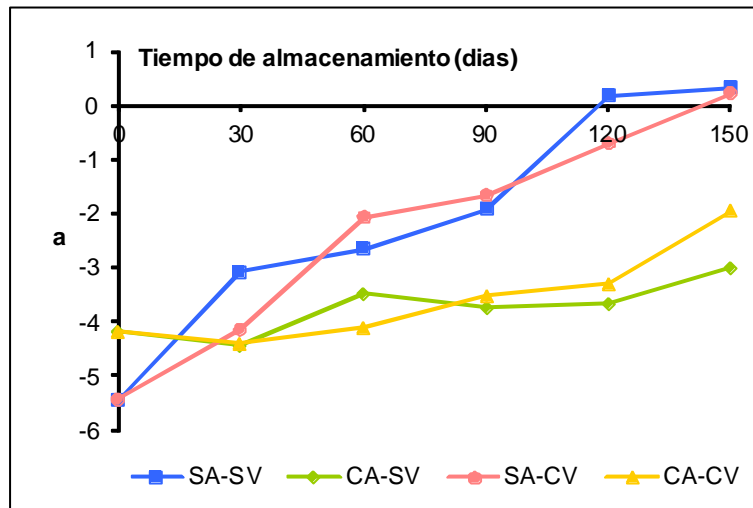


De la evaluación estadística con respecto a la luminosidad del puré de palta durante el almacenamiento se encontró que el factor aplicación de aditivos sí tiene influencia significativa sobre la luminosidad. En cambio, entre la aplicación de vacío y sin vacío no se encontró diferencia estadística significativa.

Con respecto a la **coordenada de cromaticidad "a"** (Figura 10), asociada sensorialmente a los colores

rojo (a) y verde (-a), y en el caso específico del puré de palta con el color verde (-a), se observa en todos los tratamientos una disminución del valor absoluto, tendiendo hacia el centro de dicha coordenada, es decir, disminuye la intensidad del color verde, siendo más pronunciado este efecto en los tratamientos que no llevan aditivos.

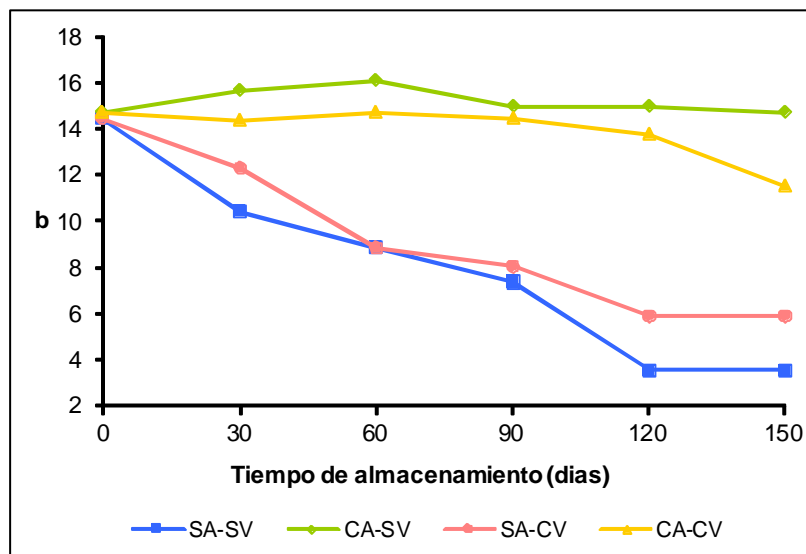
Figura 10. Variación de la coordenada "a" del puré de palta variedad Hass durante el almacenamiento en congelación.



En cuanto a la coordenada de **cromaticidad "b"**, (Figura 11), asociada sensorialmente a los colores amarillo (b) y azul (-b), y en el caso específico del puré de palta con el color amarillo (b), se encontró que en los tratamientos con aditivos se mantuvo casi constante durante el almacenamiento, mostrando un

ligero descenso hasta el final del almacenamiento. En cambio, en los tratamientos sin aditivos la coordenada "b" presenta una disminución progresiva, siendo más pronunciado este efecto en el envasado sin vacío (SA-SV) con respecto al envasado al vacío (SA-CV).

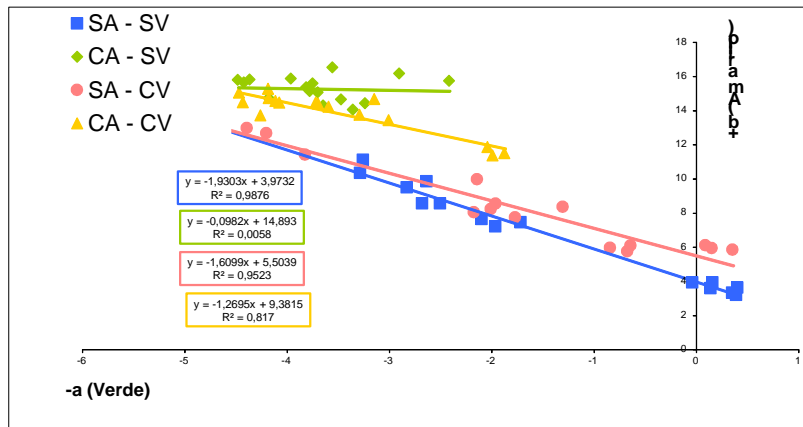
Figura 11. Variación de la coordenada "b" del puré de palta variedad Hass, durante el almacenamiento en congelación.



En la Figura 12 se presenta el diagrama de cromaticidad ab, el cual muestra todas las coordenadas de color a y b de cada uno de los

tratamientos, obtenidas durante todo el período de almacenamiento.

Figura 12. Diagrama de cromaticidad ab del puré de palta.



Se encontró que los tratamientos sin aditivos tienen un $r^2 > 0.95$, siendo mayor el valor en SA-SV ($r^2 = 0.9876$) que en SA-CV ($r^2 = 0.9523$), lo que implicaría que existe una tendencia lineal de variación del color natural del puré de palta, al desplazarse estos valores hacia el cuadrante a^+/b^+ (rojo/amarillo) desde el cuadrante a^-/b^+ (verde/amarillo). Los tratamientos con aditivos tienen un $r^2 < 0.95$, siendo menor el valor en el tratamiento CA-SV ($r^2 = 0.0058$) que en CA-CV ($r^2 = 0.817$), lo que indicaría que no hay tendencia lineal, pudiéndose afirmar que durante el almacenamiento estos

tratamientos no tienen ninguna tendencia de cambio de cromaticidad de color.

3.3.3 pH

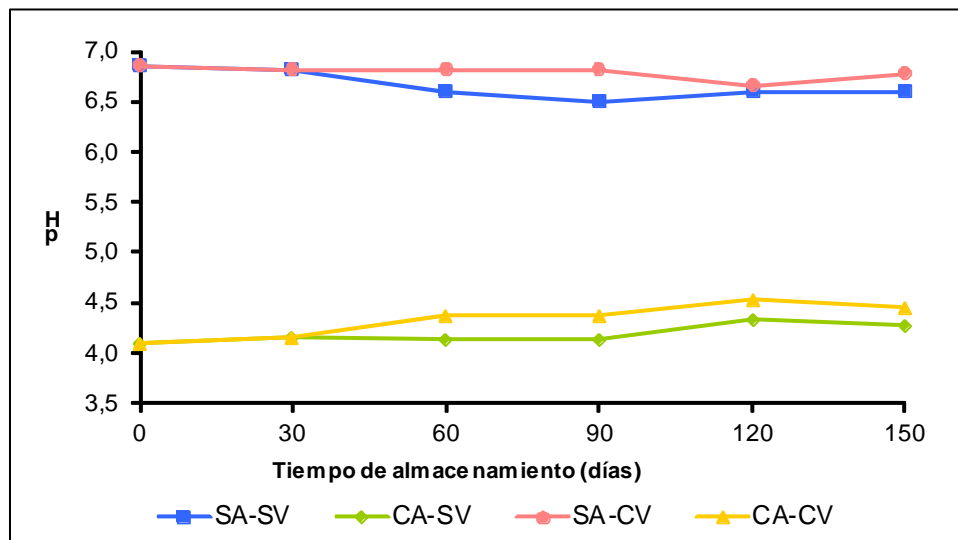
En el Cuadro 4 se reportan los valores del pH del puré de palta durante el almacenamiento en congelación. Al inicio del almacenaje, los tratamientos sin aditivos tuvieron el pH propio de la palta de 6.85 y los tratamientos con aditivos presentaron un pH regulado a 4.1.

Se puede apreciar en la Figura 13 que el valor de pH durante el almacenamiento se mantiene casi estable en todos los tratamientos.

Tabla 4. Comportamiento del pH durante el almacenamiento.

	SA-SV	CA-SV	SA-CV	CA-CV
Día 0	6.85	4.1	6.85	4.1
Día 30	6.82	4.15	6.82	4.15
Día 60	6.60	4.13	6.81	4.37
Día 90	6.51	4.13	6.81	4.38
Día 120	6.60	4.33	6.66	4.52
Día 150	6.60	4.27	6.78	4.45

Figura 13. Variación del pH del puré de palta variedad Hass durante el almacenamiento en congelación



Estadísticamente se encontró diferencias significativas en el pH por efecto de la aplicación de aditivos, también se encontró diferencia estadística significativa entre los tratamientos con vacío y sin vacío en cada uno de los meses de almacenamiento, a excepción del día 30.

3.3.4. Evaluación sensorial

De acuerdo a los resultados de la evaluación sensorial del puré de palta mediante la **Escala Hedónica** para determinar el grado de aceptación por los panelistas, se obtuvo lo siguiente:

En cuanto al **color**, todos los tratamientos fueron calificados mayormente como “me agrada”, con excepción del tratamiento sin aditivo y sin vacío (SA-SV), el que fue más calificado como “me desagrada”.

La evaluación estadística mediante la prueba no paramétrica de Friedman con respecto al color, indica que uno de los tratamientos de puré de palta es diferente de los otros, por lo cual se realizó la prueba de comparación de promedios de Friedman ($\alpha=0.05$), encontrándose que el tratamiento SA-SV es diferente a los otros tres tratamientos.

Con respecto al **olor**, los resultados de la escala hedónica muestran que los panelistas evaluaron los tratamientos entre “me agrada” y “ni me agrada ni me desagrada”, con excepción del tratamiento sin aditivo y sin vacío (SA-SV), el que fue más categorizado como “me desagrada”. Por otro lado, en términos generales, los tratamientos con aditivos tuvieron mejor aceptación del olor que los tratamientos sin aditivos.

Estadísticamente, mediante la prueba no paramétrica de Friedman se encontró que en cuanto al olor al menos uno de los tratamientos de puré de palta es diferente de los otros; mediante la prueba de comparación de promedios de Friedman ($\alpha=0.05$) se determinó que el tratamiento sin aditivo y sin vacío (“SA-SV”) es diferente a los tratamientos con aditivos.

En lo que concierne a la **textura**, los tratamientos se encuentran homogéneamente distribuidos entre las categorías “me agrada” y “ni me agrada ni me desagrada”, por lo tanto, se puede referir que, la refinación que se le hace al puré de palta al pasar por

la malla fina de la pulpeadora es el procedimiento adecuado.

Estadísticamente, mediante la prueba no paramétrica de Friedman, se encontró que los tratamientos son iguales entre sí, lo cual indicaría que ni la adición de aditivos, ni la aplicación de vacío tuvo efectos sobre la textura del puré de palta durante el almacenamiento en congelación por 150 días.

En lo que respecta al **sabor**, los panelistas calificaron al puré de palta de todos los tratamientos entre “me desagrada” y “me desagrada mucho”. Estos resultados se deberían, en el caso de los tratamientos sin aditivos por la influencia del pardeamiento sobre el color del puré de palta, y en el caso de los tratamientos con aditivos por la influencia del sabor ácido que fue reconocido en la prueba triangular al inicio del almacenamiento.

La evaluación estadística mediante la prueba no paramétrica de Friedman permite afirmar con respecto al sabor que los tratamientos son iguales entre sí.

Con excepción del tratamiento sin aditivo y sin vacío (SA-SV), el resto de los tratamientos fueron calificados en cuanto a la **aceptabilidad** en forma casi equitativa entre las categorías de “me agrada”, “ni me agrada ni me desagrada” y “me desagrada”. Como el atributo aceptabilidad engloba al color, olor, sabor y textura, se puede afirmar que la calificación dada de “me desagrada” esta influenciada mayormente por el atributo sabor que fue el que más desagrado a los panelistas en todos los tratamientos.

La evaluación estadística mediante la prueba no paramétrica de Friedman permite aseverar con respecto a la aceptabilidad que los tratamientos son iguales entre sí.

En el Cuadro 5 se presentan los resultados de las **Pruebas de Orden de Preferencia (Ranking)** para definir el **ranking promedio** de los tratamientos para una escala de 1 al 4, en la que se toma en cuenta todos los atributos sensoriales antes evaluados; esta escala considera, en orden de preferencia, a 1 como el primer orden de ranking, a 2 como el segundo orden de ranking, a 3 como el tercer orden de ranking y a 4 como el cuarto orden de ranking.

Tabla 5. Ranking promedio de los tratamientos.

Orden del ranking	Primero	Segundo	Tercero	Cuarto
Promedio ranking	1.96	2.34	2.79	2.89
Tratamiento resultante	SA-CV	CA-CV	CA-SV	SA-SV

Se obtiene que, el tratamiento sin aditivos y con vacío (SA-CV) alcanzó el primer orden de preferencia; en segunda y tercera posición se ubicaron los tratamientos con aditivos, envasados al vacío (CA-CV) y sin vacío (CA-SV), respectivamente, y en último lugar se encuentra el tratamiento sin aditivo y sin vacío (SA-SV).

4. Conclusiones

La evaluación estadística mediante la prueba de Friedman muestra, a un nivel de confianza del 95%, que hay diferencias significativas entre el tratamiento “SA-CV” (1er lugar) y los tratamientos “CA-SV” (3er lugar) y “SA-SV” (4to lugar), también hay diferencias significativas entre los tratamientos “CA-CV” (2do lugar) y “SA-SV” (4to lugar).

1. El envasado al vacío retarda el pardeamiento enzimático del puré de palta variedad Hass durante el almacenamiento en congelación.
2. Los tratamientos sin aditivos tienen mayor actividad enzimática que los tratamientos con aditivos durante el almacenamiento en congelación del puré de palta variedad Hass, sobre todo el envasado sin vacío (SA-SV).
3. El mayor grado de oscurecimiento se produce en los tratamientos que no llevan aditivos.
4. Las enzimas PFO son las causantes de la modificación del color del puré de palta, tal como se constató en los tratamientos sin aditivos, al encontrarse relaciones lineales directamente proporcionales entre la variación de la velocidad máxima enzimática ($V_{m\acute{a}x}$) y el cambio del color inicial (ΔE).
5. La aplicación de aditivos provocan estabilidad en el color, disminución del pH y cambios detectables en el sabor del puré de palta.
6. El pH 4.1 en el puré logra que al final del almacenaje (150 días) el color sea considerado hedónicamente entre “agradable” y “no agradable ni desagradable”, mientras que el sabor y la aceptabilidad son considerados entre “no agradable ni desagradable” y “desagradables”.
7. Los tratamientos envasados al vacío presentan mayor orden de preferencia, siendo el tratamiento sin aditivo y con vacío (SA-CV) el más preferido, seguido por el tratamiento con aditivo y con vacío (CA-CV).
8. La aplicación de aditivos produce diferencias significativas en la velocidad máxima enzimática ($V_{m\acute{a}x}$), el pH y las coordenadas de color durante todos los cinco meses de almacenamiento.
9. El empleo de aditivos y vacío disminuyen la velocidad del pardeamiento enzimático, pero no lo inhiben durante el almacenamiento en congelación a -18°C.

5. Referencias bibliográficas

- A.O.A.C. 1995.** Official Methods of Analysis. 10th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Editorial Board. Estados Unidos.
- A.O.A.C. 2000.** Official Methods of Analysis. 12th Edition. Association of Official Analytical Chemists. Editorial Board. Estados Unidos.
- Anzaldúa – Morales A. 1994.** La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Briceño, L. 1994.** Utilización de envases flexibles para el almacenamiento refrigerado de la palta (*Persea americana*) variedad Hass en atmósfera modificada autogenerada. Tesis para obtener el Grado de Magister Scientiae en Tecnología de Alimentos. EPG. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima.
- Espín, J., Trujano, M., Tudela, J. y García-Canovas, F. 1997.** Monophenolase activity of polyphenol oxidase from Hass avocado. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 45: 1091-1096. Estados Unidos.
- Fennema, O. 2000.** Química de los Alimentos. Segunda Edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- FAO. 1986.** Food Analysis: General Techniques, Additives, Contaminants and Composition. Food and Nutrition Paper. Food and Agriculture Organization. Vol 14, N° 7, 212-213 / 228-232. Italia.
- Gaillard, F. y Richard-Forget, F. 1997.** Polyphenoloxidases from Williams pear (*Pyrus communis* L, cv Williams): activation, purification and some properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 74: 46-56. Gran Bretaña.
- Guadarrama, A. y Rivas, N. 1995.** Purificación y caracterización cinética de la enzima polifenol oxidasa del ocumo (*Xanthosoma sagittifolium*). Universidad Central de Venezuela. Revista Facultad de Agronomía 16: 65-86. Venezuela.
- Lineweaver, H. y Burk, D. 1934.** The determination of enzyme dissociation constants. *Journal American Chemical Society* 56: 658 - 666. Estados Unidos.
- López-Malo, A., Palou, E., Barbosa-Cánovas, G., Welti-Chanes, J. y Swanson, B. 1999.** Polyphenoloxidase activity and color changes during storage of high hydrostatic pressure treated avocado puree. *Food Research International* 31(8): 549-556. Gran Bretaña.
- Minolta. 1993.** Precise Color Communication. Color Control from Feelings Instrumentation. Minolta Corporation. Japón.
- Nagalingam, T. 1993.** The application of combined preservation techniques to maintain the quality and extend the shelf life of avocado. A thesis submitted for the degree of Doctor of Philosophy. University of Reading. Gran Bretaña.
- Nielsen, S. 1998.** Food Analysis. Segunda Edición. Universidad de Purdue. Aspen Publication. Estados Unidos.
- Palou, E., Hernández-Salgado, C., López-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G. Swanson, B. y Welti-Chanes, J. 2000.** High pressure-processed guacamole. *Innovate Food Science & Emerging Technologies*.1: 69-75. Gran Bretaña.
- Rivas, N. 1977.** Purificación parcial y caracterización cinética de la polifenol oxidasa del Cambur Manzano (*Musa [AAB] cv. 'manzano'*). Revista Facultad de Agronomía (Maracay), IX (4): 39-49. Venezuela.
- Soliva, R., Elez, P., Sebastián, M. y Martín O. 2001.** Evaluation of browning effect on avocado puree preserved by combined methods. *Innovate Food Science & Emerging Technologies* 1: 261-268. Gran Bretaña.
- Weemaes, C., Ludikhuyze, L., Van de Broeck, I. y Hendrickx, M. 1999.** Kinetics study of antibrowning agents and pressure inactivation of avocado polyphenoloxidase. *Journal of Food Science* 64 (5): 823-827. Estados Unidos.