



UNIVERSIDAD LAICA "ELOY ALFARO DE MANABÍ"
EXTENSIÓN CHONE

CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS

TRABAJO DE TITULACIÓN
MODALIDAD PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA

CONSERVACIÓN DE FRUTAS

TÍTULO

**"EFECTO DE LA ADICIÓN DE ÁCIDO ORGÁNICO EN EL
PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO EN LA PULPA DE
MANZANA (PYRUS MALUS L.)"**

AUTORES

GÓMEZ ZAMBRANO CRISTINA ELIZABETH
ZAMBRANO VÉLEZ CRISTHIAN RAMÓN

TUTOR

Ing. Llampell Avellán Peñafiel

CHONE - MANABÍ - ECUADOR

2017

Certificación del tutor

Ing. Llampell Avellán Peñafiel, Docente de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, extensión Chone, en calidad de tutor del trabajo de titulación.

CERTIFICO:

Que el presente trabajo de titulación: “Efecto de la adición de ácido orgánico en el pardeamiento enzimático en la pulpa de manzana (*Pyrus malus L.*)”, ha sido exhaustivamente revisado en varias sesiones de trabajo y se encuentra listo para presentación y apto para su defensa.

Las opiniones y conceptos plasmados en este trabajo de titulación son fruto del trabajo, perseverancia y originalidad de sus autores: **Gómez Zambrano Cristina Elizabeth y Zambrano Vélez Crithian Ramón**, siendo de su exclusiva responsabilidad.

Ing. Llampell Avellán Peñafiel

TUTOR

Chone, Agosto de 2017

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros, **Gómez Zambrano Cristina Elizabeth y Zambrano Vélez Cristhian Ramón**, declaramos ser autores del presente trabajo de titulación denominado: **“Efecto de la adición de ácido orgánico en el pardeamiento enzimático en la pulpa de manzana (*Pyrus malus L.*)”**, siendo el **Ing. Llampell Avellán Peñafiel** tutor del presente trabajo; certifico que las ideas, opiniones, investigaciones, resultados, conclusiones y recomendaciones vertidos en el presente trabajo, son de nuestra exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente cedemos los derechos de este trabajo a la universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, para que forme parte de su patrimonio de propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y trabajos de titulación, ya que ha sido realizado con apoyo académico e institucional de la universidad.

Gómez Zambrano Cristina Elizabeth

AUTORA

Zambrano Vélez Cristhian Ramón

AUTOR

Chone, Agosto de 2017



UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABÍ

EXTENSIÓN CHONE

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

INGENIEROS EN ALIMENTOS

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Trabajo de Titulación siguiendo la modalidad de Proyecto de Investigación, titulado: **“Efecto de la adición de ácido orgánico en el pardeamiento enzimático en la pulpa de manzana (*Pyrus malus* L.)”**, elaborado por los egresados **Gómez Zambrano Cristina Elizabeth** y **Zambrano Vélez Cristhian Ramón** de la carrera de Ingeniería en Alimentos.

Ing. Odilón Schnabel Delgado

DECANO

Ing. Llampell Avellán Peñafiel

TUTOR

MIEMBRO DE TRIBUNAL

MIEMBRO DE TRIBUNAL

SECRETARIA

DEDICATORIA

Este trabajo de titulación se la dedico a mi Dios quién supo guiarme por el buen camino, darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. A mi familia quienes por ellos soy lo que soy. Para mis padres por su apoyo, consejos, comprensión, amor, ayuda en los momentos difíciles, y por ayudarme con los recursos necesarios para estudiar. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

Cristina

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de titulación a todos aquellos que creyeron en mí, a aquellos que nunca esperaron fracaso en cada paso que daba hacia la culminación de mis estudios, a aquellos que esperaban que lograra terminar la carrera.

A Dios y a mis padres, pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora, Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mis hermanos y familia en general. A ellos este proyecto, que, sin ellos, no hubiese podido ser.

Cristhian

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos profundamente a Dios, por guiarnos en el sendero correcto de la vida, cada día en el transcurso de nuestro camino e iluminándonos en todo lo que realizo de nuestro convivir diario. A nuestros padres, por ser ejemplo para seguir adelante en el convivir diario y por inculcarnos valores que de una u otra forma me han servido en la vida, gracias por eso y por muchos más. A nuestros hermanos por apoyarnos en cada decisión que tomamos, y por estar a nuestro lado en cada momento hoy, mañana y siempre. A nuestro Tutor del proyecto de investigación Ingeniero Llampell Avellán Peñafiel por tenernos paciencia y por guiarnos en cada paso de este trabajo. A nuestros maestros de la Laica “Eloy Alfaro de Manabí” que nos impartieron sus conocimientos y experiencias en el transcurso de nuestra vida estudiantil y que nos ayudaron de una u otra forma para hacer posible la realización de esta investigación, a nuestros amigos y amigas y a todas las personas que nos incentivaron y nos motivaron para seguir adelante con los objetivos de este propósito.

Cristina y Cristhian

SÍNTESIS

El mercado fruticultor tiene como reto la conservación de frutas que se ve afectada por el pardeamiento enzimático afectando miles de toneladas de producción, existen muchas investigaciones que se centran en prolongar la vida útil, sin embargo, no todos los inhibidores del proceso de oxidación son seguros para la salud humana, este trabajo de investigación tiene como propósito determinar el efecto de la adición de ácidos orgánicos en el pardeamiento enzimático de la pulpa de manzana para conservarla por más tiempo, realizando un análisis del estado del arte de los métodos que influyen en el pardeamiento enzimático de la manzana, experimentar con ácidos orgánicos(ácido ascórbico y ácido cítrico) en la pulpa de manzana para precisar los efectos en el pardeamiento enzimático y así poder determinar los efectos que tienen estos ácidos orgánicos aplicados referente al nivel de pH, tiempo y color. Las pruebas experimentales para el pH se dieron en 3 pruebas realizadas en tres días diferentes con 5 muestras cada día, en que se usó los inhibidores al 0.5% para el primer día, 1.0% para el segundo día y 1.5% para el tercer día, para el análisis del tiempo y color se realizó tres muestras por cada día. Una vez realizada la experimentación se pudo constatar que el ácido cítrico mantiene mejor nivel de pH para el consumo humano evitando el pardeamiento que afectan la salud, respecto al color se constató que el ácido ascórbico mantiene un mejor aspecto de la manzana, determinando además que el proceso de oxidación comienza entre los 3 y 6 minutos una vez en contacto con el ambiente.

Palabras claves: Conservación de frutas, pardeamiento enzimático, ácidos orgánicos, manzana.

ABSTRACT

The fruit grower market has the challenge of preserving fruit that is affected by enzymatic browning affecting thousands of tons of production, there is a lot of research that focuses on prolonging the shelf life, however, not all inhibitors of the oxidation process are safe for human health, this research aims to determine the effect of the addition of organic acids in the enzymatic browning of the apple pulp to preserve it for a longer time, performing a state of the art analysis of the methods that influence the Enzymatic browning of the apple, to experiment with organic acids (ascorbic acid and citric acid) in the apple pulp to specify the effects in the enzymatic browning and to be able to determine the effects that these organic acids have on the level of pH, time and color. Experimental tests for pH were done in 3 tests performed on three different days with 5 samples each day, using 0.5% inhibitors for the first day, 1.0% for the second day and 1.5% for the third day, For the analysis of time and color three samples were made per day. Once the experimentation was carried out, it was possible to verify that citric acid maintains a better pH level for human consumption, avoiding browning that affect health. Ascorbic acid maintains a better appearance of the apple. Oxidation process begins between 3 and 6 minutes once in contact with the environment

Keywords: Fruit preservation, enzymatic browning, organic acids, apple.

TABLA DE CONTENIDOS

Portada	
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTORIA	iii
APROBACIÓN DE TRABAJO DE TITULACION	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS.....	vii
SINTESIS	viii
TABLA DE CONTENIDOS	x
INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo I. ESTADO DEL ARTE	5
1.1. La adición de ácido orgánico	7
1.1.1. Importancia del ácido orgánico	9
1.1.2. Clasificación de ácidos orgánicos	9
1.1.3. Ventajas del ácido orgánico.....	10
1.1.4. Propiedades de los ácidos orgánico	12
1.1.5. Campo de aplicación de los ácidos orgánicos	13
1.2. Pardeamiento enzimático.....	15
1.2.1. Origen del pardeamiento enzimático	17
1.2.2. Factores que favorecen el pardeamiento enzimático	19
1.2.3. Control a la reacción del pardeamiento enzimático	20

1.2.4. Efectos de la temperatura en el pardeamiento enzimático.	24
1.2.5. Antioxidantes.....	24
1.2.6. Inhibidores del pardeamiento enzimático	26
1.2.7. Medición del pH	29
1.2.8. Medición del color	29
Capítulo II. MATERIALES Y MÉTODOS	30
2.1. Preparación de la muestra.....	31
2.1.1. Materiales y equipos.....	31
Capítulo III. PROPUESTA.....	33
Capítulo IV. EVALUACIÓN DE RESULTADOS.....	34
Conclusiones.....	40
Recomendaciones	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42-44
Anexos	

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Fórmula de un ácido orgánico.....	7
Figura 1.2. Fases de transformación del pardeamiento enzimático.....	16
Figura 1.3. Polifenoloxidasa presente en los alimentos.....	17
Figura 1.4. Clases de manzanas que se comercializan en Ecuador	34

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Nomenclatura	8
Tabla 3.1. Medición del pH.....	35
Tabla 3.2. Porcentaje de ácido prueba de tukey	36
Tabla 3.3. Influencia sobre el pH	36
Tabla 3.4. Efecto combinado.....	37
Tabla 3.5. Color.....	37
Tabla 3.6. Tipo y porcentaje de ácido	38
Tabla 4. Tabla hedónica de valoración de color	ANEXO 4
Tabla 5. Resultados de la medición del color del primer día	ANEXO 5
Tabla 6. Resultados de la medición del color del segundo día.....	ANEXO 6
Tabla 7. Resultados de la medición del color del tercer día	ANEXO 7

INTRODUCCIÓN

Las frutas proporcionan al cuerpo humano un número de vitaminas, proteínas y otros nutrientes que son vitales para el equilibrio de la salud, sin embargo perdurar su conservación se ha vuelto en una carrera bioquímica diaria cuyos resultados logran mantener su vida útil un poco más de tiempo antes de empezar el proceso oxidación, lo que técnicamente se conoce como pardeamiento enzimático, el interés creciente de los consumidores hacia adquirir productos más frescos, ha conllevado a un acelerado ritmo de aumento de productos pocos procesados, llamados a nivel comercial de la cuarta gama de la consumo (Lainez & Potosí, 2010).

Las principales causas que generan el menoscabo de una fruta pueden ser bioquímicas o microbiológicas, en el caso de las causas bioquímicas, se describe a la producción de pardeamiento enzimático en la extensión de la fruta, debido a la acción de las enzimas presentes. las causas microbiológicas se deben a una ampliación microbiana precipitada que se puede presentar en las frutas y que provocarán características indeseables en ellos.

La conservación de alimentos generalmente se define como todo método de tratamiento que busca prolongar la persistencia de los mismos, con el propósito que custodien un grado aceptable su calidad y sus características como color, textura y aroma. Hay diversos métodos muy variados que proporcionan un vasto margen de tiempo de conservación que incluye desde los de mínima duración, hasta el enlatado, congelación y deshidratación que permiten extender la vida de los productos por más tiempo.

Desde el punto de vista de duración microbiológica los métodos de corta duración como la refrigeración terminan siendo inadecuados, ya que al cabo de pocos días se produce una proliferación microbiana en el alimento, mientras que las operaciones industriales, tales como la esterilización, deshidratación y congelación permiten un control microbiano indefinido cada vez que el envasado sea el adecuado.

Dávila (2015) manifiesta que la preservación es la faena de conservar, mantener, cuidar, proteger, pernoctar algo, sea esto en el campo de la industria alimentaria, en la naturaleza y biología, además se comprende como conservación el trabajo de continuar con prácticas de algunas culturas y no dejar que queden en el olvido, las frutas, son alimentos que siguen oxigenándose luego de su cosecha, osea, adquieren oxígeno y excluyen el dióxido de

carbono, esta acción va acompañada con la eliminación de agua que poseen las células, concurriendo el principal origen de la maduración y putrefacción.

Entre los principales métodos de preservación están:

Adición de conservantes: Consiste en adherir una sustancia o producto que junto a un alimento evita el deterioro. Se incorporan al producto para contribuir a la textura, sabor color y olor del mismo.

Rodríguez (2011) manifiesta que los ácidos orgánicos condescienden prolongar la vida útil de los alimentos mediante la utilización de agentes antimicrobianos llamados también preservantes, sin embargo el abuso indiscriminado de ciertos agentes sintéticos han causado daño en la salud de sus consumidores, por lo que encontrar los beneficios de un tipo de ácido orgánico que permita mantener la pulpa de manzana sin ningún tipo de riesgo para la salud, atrae al sector industrial de frutas, y sobre todo constituye un aporte significativo de parte de los investigadores de esta investigación, así como de resaltar el nombre de la Universidad Laica “Eloy Alfaro de Manabí” por su aporte académico.

Esta investigación contribuye a la educación tanto secundaria como universitaria y a quienes busquen información en él acerca del pardeamiento enzimático, por cuanto el objetivo de experimentar con ácidos orgánicos tiene como propósito demostrar que hay agentes microbianos que pueden reducir el proceso de oxidación, ya que tomando en cuenta que hoy en día el mercado de consumo de alimentos es mayor a la de unos 15 o 20 años atrás, se necesita que los alimentos tengan garantizada la conservación, ya que por ejemplo en bufetes o fiestas la presentación de las frutas tiene un alto impacto en los consumidores, por tanto la búsqueda de agentes microbianos requiere cumplir con dos objetivos: por un lado darle un aspecto fresco, y por otro prolongar la vida útil (Pérez L., 2003).

Cuando se habla de PE se entiende que se está refiriendo a un proceso natural de oxidación de un alimento, según Suárez, Andreu, Colman, & Clausen, (2009) este fenómeno está ligado al “Polifenol oxidasas” la cual se presenta mediante el aspecto de manchas oscuras que hechan a perder el aspecto y sabor del alimento. De lo que se conoce hasta ahora en el campo de alimentos hay varias causas de PE en vegetales y frutas:

- Reacción de Maillard
- Caramelización
- PE fenoles
- Apertura de ácido ascórbico
- Desarrollo de polímeros

De esta lista el PE es la causa más influyente que deteriora la preservación de las frutas, sin embargo hay que reconocer que este proceso tiene mayor desarrollo cuando se pelan, lavan y cortan, puesto que al romperse las células el grupo de enzimas PPO (polifenoloxidasas) tienen contacto con el ambiente, provocando la oxidación inminente, sin embargo las frutas que tienen mayor presencia de PPO son las peras, manzanas y banana (Gómez P., 2010).

El presente trabajo investigativo pretende influir en el pardeamiento enzimático (PE) de la pulpa de manzana por medio de la adición de ácido orgánico y de esta manera prolongar la vida útil de esta fruta, conservando sus propiedades vitamínicas por más tiempo, lo que tiene un alto valor agregado en investigación alimentaria, dejando como mayor énfasis un método experimental novedoso que motiva a los egresados responsables de este trabajo a determinar los efectos que causan sobre la pulpa de manzana los ácidos orgánicos de manera técnica, cronológica y documentada.

El presente trabajo contiene 4 capítulos entrelazados que contemplan un logro significativo en las interrogantes a despejar, en el capítulo 1 se encuentra el “Estado del arte” el mismo que expresa toda la información relevante acerca de las dos variables involucradas en el tema los que forman parte de la conservación de frutas al analizar el efecto de la adición de ácidos orgánicos en el pardeamiento enzimático de la pulpa de manzana, cada variable contiene al mismo tiempo subtemas que fomentan datos relevantes como: que se sabe acerca del tema, autores, hasta donde avanza el estudio, etc.

El capítulo 2 contiene los materiales y métodos, en el que se muestra los tipos de herramientas y elementos que se usaron para la experimentación, además está detallado el método que se usó cada para poder determinar el tiempo de oxidación de las manzanas usadas el color que resulta al pasar el tiempo de contacto con el ambiente y el nivel de pH que resulta de la aplicación de los ácidos orgánicos, se describen los días y como se desarrolló el experimento.

El capítulo 3 está basado específicamente en los ensayos de experimentación en los tejidos de manzana aplicando ácidos orgánicos para analizar su efecto en la reacción de pardeamiento enzimático el cual contiene de manera más detallada los procesos experimentales y la cantidad de porcentaje de ácidos usados para completar la experimentación, así mismo se describen los resultados de la aplicación de los ácidos.

El capítulo 4 tiene el análisis cualitativo del desarrollo de la propuesta frente a otras investigaciones similares, si bien es cierto en este trabajo se utilizó el ácido ascórbico y el ácido cítrico, se comparan los resultados con otros procesos donde se usaron otros preservantes y mecanismos que pudieran aportar significativamente en trabajos futuros.

Finalmente se encuentran las conclusiones y las recomendaciones planteadas, de manera de que a cada conclusión se establece una recomendación, cabe indicar que estas fueron enmarcadas en los aspectos más relevantes encontrados, así mismo está la bibliografía y los anexos.

CAPÍTULO I

ESTADO DEL ARTE

La conservación de las frutas y otros víveres provenientes directamente de la tierra tiene un importante valor nutricional y económico, las frutas y las hortalizas son los mejores transportadores de vitaminas, minerales esenciales, fibra dietaria, antioxidantes fenólicos, glucosinolatos y otras sustancias bioactivas. Además, proveen carbohidratos, proteínas y calorías, aportes altamente nutricionales y promotores de la salud que mejoran el bienestar humano y reducen el riesgo de varias enfermedades, por ello, las frutas y las hortalizas son importantes para la nutrición de las personas, Las frutas y las hortalizas por otro lado son alimentos altamente perecederos, comúnmente, hasta un 23% de las frutas y las hortalizas más propensos a podrirse se pierden debido a efectos microbiológicos y fisiológicos, pérdida de agua, daño inconsciente durante la cosecha, envasado y transporte, o a las indebidas condiciones de transportación.

Alzamora, Guerrero, Nieto, & Vidales (2004) mencionaron que dichas pérdidas ascienden a más del 40-50% en los lugares de clima tropical y subtropicales (FAO, 1995 a,b). Las pudriciones también ocurren durante la vida útil y la elaboración en el hogar y en los servicios de comida. Más aún, en muchos países tercermundistas, la producción de productos frutihortícolas para el mercado local o la exportación es condicionada debido a la falta de equipos e infraestructura.

El objetivo principal de la preservación de frutas es prevenir o evitar la proliferación de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos), para que ellas no se deterioren durante el almacenamiento, es de suma importancia controlar los cambios químicos y bioquímicos que inducen al deterioro, de esta manera, es posible obtener un alimento sin modificaciones en sus características organolépticas típicas (color, sabor y aroma), y puede ser consumido sin riesgo durante un cierto período no mínimo a un año (Loor, 2010).

Recientemente, se han generado muchas innovaciones en los conocimientos industriales de alimentos, la metodología que se practica actualmente en la preservación de los alimentos tienen diferentes grados de complicación, desde los antiguos métodos de fermentación y de secado solar, hasta la irradiación y la deshidratación por congelación. Cuando se toman en cuenta las técnicas relevantes de preservación de alimentos en la

industria de pequeña producción, se debe restringir la discusión a la aplicación de los métodos más sencillos.

Estos encierran:

- La conservería
- Los concentrados
- Los fermentados
- Los deshidratados

La utilización de antimicrobianos (conservadores) es una pericia común en la industria de conservación de frutas, desde otrora se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en muchos casos han originado daño en la salud de los consumidores, si se usan en altas dosis como en el caso de los sulfitos), redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de indagar otras opciones. En esta exploración se han encontrado distintos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los tradicionalmente utilizados.

Varios agentes antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias. Lo más dificultoso es extraer, purificar, afianzar e incorporar dicho antimicrobiano al alimento sin perturbar su calidad sensorial y seguridad (Beuchat y Golden, 1989). La acción antimicrobiana de hierbas y plantas es imputada a los combinados fenólicos presentes en sus esquemas o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, agrupación salina, pH y temperatura perturban la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Rodríguez, 2011).

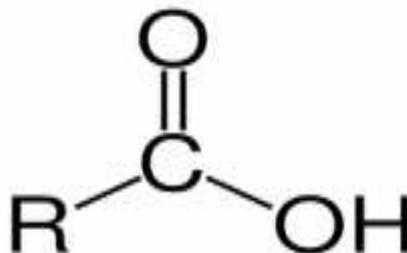
Un conjunto de investigadores del Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios (ASPA) de la Universidad Politécnica de Valencia ha desarrollado un nuevo dispositivo para la exclusión de microorganismos en alimentos que consiente garantizar su preservación, cuidando al mismo tiempo todos los niveles de calidad, hasta el momento han comprobado exitosamente su concentración en zumos de manzana y naranja, también se puede aplicar a lácteos, mermeladas y cervezas y muchos alimentos de consumo masivo más.

La explicación de los científicos de la UPV, consiste en que la técnica utilizada tradicionalmente para la conservación de alimentos es el proceso térmico, esta tecnología, pese a tener efectos positivos en la eliminación de microorganismos, exhibe el inconveniente de que gracias al calor se pueden ver afectados disímiles componentes de los alimentos, sometiéndolos a la calidad organoléptica (color, textura) y nutricional (vitaminas, aminoácidos) de los mismos. Para sustituir este impase, se están desplegando nuevas tecnologías no térmicas, por ejemplo los pulsos eléctricos y de luz, irradiación o fluidos supercríticos, el sistema ideado por el grupo ASPA y patentado por la UPV adopta ultrasonidos y fluidos supercríticos, cabalmente se utiliza el CO₂ en fase supercrítica, estado que se consigue cuando sobrepasan la presión y la temperatura para este combinado (Roldán, 2012).

1.1. La adición de ácido orgánico

Anangonó (2014) mencionó que los ácidos orgánicos son agregados oxigenados procedentes de los hidrocarburos que se forman al suplantar en un carbono primario dos hidrógenos por un oxígeno que se adhiere al carbono por medio de un doble enlace, y el tercer hidrógeno por un grupo (OH) que se somete mediante un enlace simple, el conjunto que se forma por esta sustitución que se sitúa en un extremo de la cadena y toman el nombre de carboxilo, la fórmula es:

Figura 1.1. Fórmula de un ácido orgánico



Fuente: Libro de ciencias Agropecuarias (2010)

Los ácidos orgánicos son largamente utilizados en la industria de alimentos como aditivos, al ser usados como agentes de transformación se agregan para vigilar la alcalinidad de muchos productos, pueden portarse como tamponadores o sencillamente como agentes neutralizantes.

Como preservantes, actúan como agentes antimicrobianos ante los antioxidantes, coexiste un nuevo sistema antimicrobiano líquido; una disyuntiva para las industrias que

deseen regentar a la biodisponibilidad y los asuntos ambientales inscriptas al uso de los productos en polvo.

Netto (2011) comenta que el develamiento de los ácidos orgánicos, fundamentalmente los carboxílicos, están angostamente relacionados con el tratamiento de la química experimental y bioquímica, por ello los acaecimientos importantes en la ingeniería, la bioquímica y la microbiología (la transmisión de oxígeno, el nivel de producción y el esbozo de medios de cultivo, entre otros) han dado paso a la desarrollo de técnicas a escala industrial de fermentación para la elaboración de diversos productos de interés comercial (enzimas, antibióticos, solventes orgánicos, vitaminas y aminoácidos, entre otros).

El léxico de los ácidos orgánicos está basado en el alcano o hidrocarburo aromático conveniente, poniendo por delante la palabra ácido y empleando la terminación “oico” de la siguiente manera:

Tabla 1.1.- Nomenclatura

ACIDO	SISTEMA COMÚN	SISTEMA IUPAC
H - COOH	Acido fórmico	Acido metanoico
CH ₃ - COOH	Acido acético	Acido etanoico
CH ₃ - CH ₂ - COOH	Acido propiónico	Acido propanoico
CH ₃ - CH ₂ - CH ₂ - COOH	Acido butírico	Acido butanoico
CH ₃ - CH ₂ - CH ₂ - CH ₂ - COOH	Acido valérico	Acido pentanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₄ - COOH	Acido caproico	Acido hexanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₅ - COOH	Acido enantílico	Acido heptanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₆ - COOH	Acido caprílico	Acido octanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₇ - COOH	Acido elargónico	Acido nonanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₈ - COOH	Acido cáprico	Acido decanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₉ - COOH	Acido laúrico	Acido dodecanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₁₀ - COOH	Acido mirístico	Acido tetradecanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₁₁ - COOH	Acido palmítico	Acido hexadecanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₁₂ - COOH	Acido margárico	Acido heptadecanoico
CH ₃ - (CH ₂) ₁₃ - COOH	Acido esteárico	Acido octadecanoico

Fuente: Libro de ciencias Agropecuarias (2010)

Los ácidos orgánicos están largamente distribuidos en la naturaleza como componentes usuales de plantas y tejidos animales, en animales se instituyen como resultado de la exacerbación de los carbohidratos en el intestino grueso, muchos de ellos se usan en forma de sales de sodio, potasio o calcio.

En correspondencia con los ácidos libres, las sales tienen la primacía de ser generalmente inodoras y más fáciles de manipular en el proceso de preservación, como derivación de su representación sólida y menos volátil, también son menos corrosivas, siendo usados además como acidificantes de la dieta, los ácidos orgánicos son distinguidos como “agentes conservantes”.

1.1.1. Importancia del ácido orgánico

La gestión antimicrobiana de los ácidos orgánicos está relacionada en por una parte con la reducción del pH, sin embargo, su efecto más significativo se debe a la capacidad de la forma no disociada de propagar libremente a través de la membrana celular de los microorganismos al citoplasma.

Una vez en la célula el ácido se descompone y modifica el equilibrio del pH intracelular, eliminando las enzimas y el transporte de nutrientes, la validez de la inhibición microbiana de un ácido depende de su pKa, que es el pH en el cual un 50 % del ácido está separado, ácidos con un valor superior de pKa son perseverantes más firmes, como aditivos alimenticios, se deberá tomar en cuenta también el aporte de energía total de los ácidos orgánicos, que altera notablemente entre los varios compuestos.

Los ácidos orgánicos operan a través de la acidificación del medio y de su acción microbicida. Esa solución es capaz de disgregar disipando un protón (H^+) de su molécula. Este H^+ incita en el medio una bajada de pH que por un lado ayuda a los métodos digestivos (beneficia la activación del pepsinógeno a pepsina induciendo un mayor provecho de la digestión de las proteínas) y además crea un ambiente oportuno para el desarrollo y crecimiento de las bacterias ácido resistentes (lactobacilos), y genera un ambiente perjudicial para el desarrollo y crecimiento de las bacterias patógenas (Pojota, 2011).

1.1.2. Clasificación de los ácidos orgánicos

Según el número de grupos carboxilo, los ácidos orgánicos se clasifican de la siguiente manera:

Monocarboxílicos: Presentan un solo grupo carboxílico.

Dicarboxílicos: Presentan dos grupos carboxílicos.

Tricarboxílicos: Presentan más de dos grupos carboxílicos.

1.1.3. Ventajas del ácido orgánico

López (2010) menciona que los ácidos orgánicos poseen muchas ventajas en comparación a otras sustancias acidificantes como son:

- No se inactivan de cara al cloro.
- Mejoran la acción digestiva en el estómago.
- Acorta el tiempo de dilación del alimento
- Amplía la ingestión
- Evitan los procesos diarreicos
- Los ácidos orgánicos inhiben además el incremento de determinados microorganismos digestivos patógenos, puesto que subyugan el pH del tracto digestivo y además tienen actividad bactericida y bacteriostática
- Son activos de cara a la materia orgánica

Ácido ascórbico: El ácido ascórbico es un ácido de azúcar con cualidades antioxidantes. Su semblante es polvoriento de color blanquinoso a un poco amarillo. Se disuelve en agua, el enantiómero L- del ácido ascórbico es conocido generalmente como “vitamina C”. El sobrenombre “ascórbico” proviene del término “A” que quiere decir negación y del término latino “escorbuto” haciendo alusión al desequilibrio corporal que representa la ausencia de vitamina C en el cuerpo.

Conseguir los componentes químicos del ácido L-ascórbico constituyen un procedimiento costoso y complicado que conlleva muchos movimientos químicos que parten de la D-glucosa, y un único paso enzimático que involucra a la sorbitol-deshidrogenasa. La etapa final del proceso es la evolución catalizada del ácido 2-ceto-L-gulónico (2-KGL) en ácido L-ascórbico.

El ácido ascórbico es lo que se conoce medicinalmente como vitamina C, que constituye un componente principal para la salud de los seres humanos, por ello la importancia

tomarlo diariamente por medio de alimentos o suplementos nutricionales, el cuerpo no posee la capacidad por si solo de crearlo.

Son varias las aplicaciones en que se usa en el ámbito medicinal como en el estético como por ejemplo el tratamiento de la dermis, por cuanto el ácido ascórbico en cosmética es altamente usado, los dos sectores logran rentabilidad, los profesionales como son los doctores y los cosmetólogos hallan muy ventajosos sus propiedades que aprovechan para aliviar y optimar varios tópicos de la condición humana.

Además, se utiliza para paliar enfermedades respiratorias, impide resfriados, influenza y trastornos bronquiales y pulmonares, mejora el sistema inmunológico a potenciarse y lograr más fortaleza ante la arremetida de virus y patógenos, así como vigorizar la tenacidad humana enfermedades.

Ácido cítrico: El ácido cítrico ($C_6H_8O_7$) es un acidulante grandemente usado, inofensivo con el ecosistema. Es usualmente inodoro, de sabor ácido no insípido, se puede disolver en agua, éter y etanol a temperatura sin refrigeración.

Constituye un sólido incoloro, de color generalmente blanco, que se exhibe en forma de cristales, polvorienta o granular, es anhidro y posee una molécula de agua de hidratación.

Químicamente, el ácido cítrico participa con características de otros ácidos carboxílicos, cuando hierve a temperatura mayor a $175\text{ }^\circ\text{C}$, se disipa generando el dióxido de carbono y H_2O .

En 1784 Scheele logró cercar el ácido cítrico partiendo del jugo de limón. (Chang, 2009). En 1860 empezó a conseguirse el ácido cítrico de las frutas por medio del uso de sales de calcio, esta técnica posee un beneficio muy bajo, deben ser necesarias entre 30 y 40 toneladas de limones para generar una tonelada de ácido cítrico, 30 años más tarde se observó que varios hongos originan ácido cítrico cuando prosperan en un entorno azucarado.

Según Bristhar Laboratorios C.A. (2010), las utilidades del ácido cítrico son:

- Bebidas Saborizante y regulador del pH; acrecienta la garantía de los conservantes antimicrobianos.

- Dulces y Conservas Acidulante y moderador del pH para obtener una eficaz gelificación.
- Verduras tratadas con combinaciones altas en ácido ascórbico, evita el pardeamiento.
- Alimentos helados benefician a la gestión de los antioxidantes; inactivas enzimas evitando pardeamiento no deseables; impide el menoscabo del sabor y el color.
- Frutas y hortalizas enlatadas reduce el pH; advierte la oxidación enzimática y la disociación del color, resalta el sabor.
- Aceites y grasas evita la oxidación

1.1.4. Propiedades de los ácidos orgánicos

Escudero (2010) comenta que los ácidos orgánicos presentan varias propiedades, entre las cuales se describen a continuación:

Propiedades físicas:

- Establecen una serie homóloga denominada Serie forménica por ser el ácido metanoico o fórmico el originario de la misma.
- Los primeros términos, son líquidos de un dócil olor picante junto a un sabor ácido.
- Prontamente (nueve carbonos) se hacen aceitosos y asientan un olor brusco.
- Al superar los compuestos mayores a diez carbonos se mencionan como ácidos grasos superiores y son sólidos, inodoros e abstrusos al agua, pero lo son en alcohol y éter.

Propiedades Químicas:

- Por su composición ácida, en solución acuosa se disgregan en partes en iones pero en menor nivel que los ácidos minerales.
- Los ácidos con pocos carbonos al diluirse en el agua enrojecen al tornasol, pero contrariamente los que tienen muchos átomos de carbono no lo toman ese color a causa de su insolubilidad al agua. Se puede conocer la composición ácida por su cavidad para generar sales, no agreden a los metales a excepción de los alcalinos térreos y el cinc, actúan con las bases dando sales y agua.

- Los ácidos grasos saturados, de cara al alcohol generan ésteres.
- Los ácidos grasos saturados crean en contacto con pentacloruro de fósforo, cloruros de ácidos.
- La mezcla de dos moléculas de ácido con pérdida de una de agua se convierte en anhídrido.
- Además una molécula de ácido mezclada con una de amoníaco, con pérdida de agua, se convierte en amida.
- La energía de los ácidos se reduce a medida que crece el peso molecular, por lo que el ácido fórmico es el más potente y también el de más grado de segregación.
- Como se mencionó, los ácidos orgánicos en contacto con hidróxidos (bases) actúan proveyendo sales y agua. Recuérdese que el hidrógeno sustituible de los ácidos es el que concierne al carboxilo.

1.1.5. Campo de aplicación de los ácidos orgánicos

Los ácidos orgánicos se manipulan en las industrias de plásticos, curtidos, textiles, papel, metales, productos farmacéuticos, alimentos, bebidas y cosméticos, Además se hallan en perfumes, herbicidas, colorantes, lubricantes y productos varios de limpieza (Mora, 2007).

El ácido fórmico y el ácido acético son los primordiales productos químicos industriales del conjunto de los ácidos monocarboxílicos saturados, el ácido fórmico es usado sobremanera en las industrias textiles y del cuero, opera como agente agotador de tintes de diversos nervios naturales y sintéticos y como agente disminuidor en la tinción de cromo. El ácido fórmico es usado como agente descalcificante y neutralizante en la industria del cuero, sirve de coagulante para látex de caucho y en la producción de fumigantes y tóxicos de insectos. El ácido acético ofrece propiedades para los productos químicos intermedios, como agente descalcificante en el curtido del cuero, disolvente y acidificante de pozos de petróleo. Además, es usado como agregado en distintos alimentos y en el vidriado y como catalizador y agente de acabado en las industrias de colorantes y tejidos.

De la fermentación aerobia (Acetobacter) de soluciones alcohólicas se alcanza el ácido acético en bajas proporciones, el ácido acético es uno de los ácidos orgánicos más

manipulados. Se emplea en la creación de acetato de celulosa, acetato de vinilo, acetatos inorgánicos, acetatos orgánicos y anhídridos acéticos. El ácido acético es usado en la industria de colorantes, productos farmacéuticos, enlatado y preservación de alimentos y producción de pigmentos.

El vinagre (ácido acético CH_3COOH) en apicultura es utilizado para el control de las larvas y huevos de las polillas de la cera, enfermedad denominada galleriosis, que destruyen los panales de cera que las abejas melíferas obran para criar o acumular la miel.

Sus concentraciones en la industria química van muy atadas a sus ésteres, como son el acetato de vinilo o el acetato de celulosa (que son la materia prima para la confección de Nailon, rayón, celofán, etc.).

Son pródigamente conocidas sus propiedades como mordiente en soluciones fijadoras, para la conservación de tejidos (histología), donde opera empíricamente como fijador de nucleoproteínas, y no así de proteínas plasmáticas, ya sean globulares o fibrosas.

En el campo de imágenes digitales en blanco y negro, se usaba en una solución muy débil como "baño de paro": al hundirse en él el material revelado, se neutralizaba la alcalinidad del baño revelador y se detenía el proceso; consecutivamente el baño fijador eliminaba el resto de material no revelado.

En la medicina también es usado como tinte en las colposcopias para revelar la infección por virus de papiloma humano, en el momento en que el tejido del cérvix se pinta de blanco con el ácido acético se considera que existe infección de virus de papiloma humano, a esta tinción se le conoce como aceto blanco positivo. También es usado en la limpieza de manchas en general, se usa también para usos de cocina como vinagre y también de limpieza.

La medicina conocida aspirina (analgésica) $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OCOCH}_3)\text{COOH}$, cuyo componente activo es el ácido acetilsalicílico es usado para tratar dolor leve y moderado de origen variados, como el dolor de cabeza, ciclos menstruales, resfríos, dolor en los dientes y dolores musculares.

El ácido fórmico es usado en la industria textil, procesamiento de pieles, antiséptico y antirreumático, fabricación de insecticidas, refrigerantes, disolventes, fabricación de

espejos, tiene acción corrosiva, se puede mezclar en agua, alcohol y éter, es el ácido más fuerte de la serie, es el tipo de ácido que poseen las hormigas rojas.

El ácido cítrico es utilizado para la elaboración de bebidas refrescantes y elaboración de medicamentos. Éste es un ácido orgánico tricarbónico que se encuentra en la mayoría de las frutas, principalmente en cítricos como el limón y la naranja, la fórmula química es $C_6H_8O_7$.

El ácido esteárico, es también llamado ácido octadecanoico, es un ácido orgánico de 18 átomos de carbono, se lo encuentra en aceites, grasas animales y vegetales, la fórmula es $CH_3-(CH_2)_{16}-COOH$ ($C_{18}H_{36}O_2$). Industrialmente en la cosmetología se usa como emulgente para la elaboración de jabones y cremas puesto que les brinda dureza.

El ácido esteárico tiene también se lo usa como emolientes por su acción protectora, y se absorbe fácilmente por la piel, en la técnica de saponificación acelerando este y produciendo una pastilla de jabón con firmeza.

1.2. Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático (PE) está congruente con la actividad de la enzima polifenol oxidasa (PPO) que cataliza la oxidación a varios compuestos fenólicos, con la constante transformación a pigmentos oscuros no anhelados para la calidad industrial (Suárez, Andreu, Colman, Clausen, & Feingold, 2009). Las PPO están catalogadas por seis genes nombrados POTP1, POTP2, POT32, POT33, POT41 y POT72 (Hunt et al., 1993; Thygesen et al., 1995) ubicados en el cromosoma 8 (Werij et al., 2007). De estos, tres son definidos de tejidos no fotosintéticos (POT32, POT33 y POT72), y el POT32 colocaliza con un locus de carácter cuantitativo (QTL) para el PE.

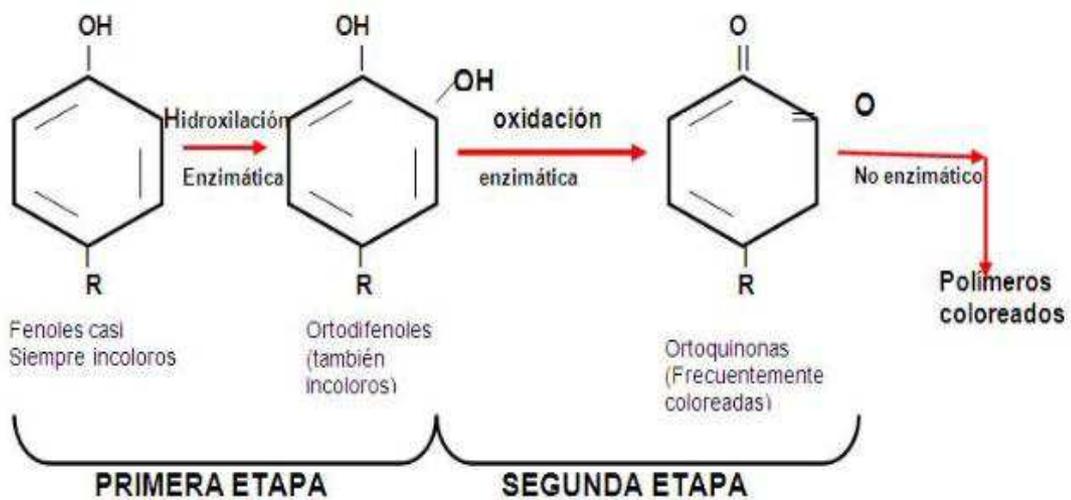
El inmediato oscurecimiento de muchas frutas y verduras como las manzanas, plátanos, aguacates, papas, etc. Es un tópico al que se enfrentan con frecuencia los profesionales en alimentos, el pardeamiento enzimático es fundamental en el desarrollo del color y sabor apropiado en el té y el cacao.

Esta reacción de oxidación no sucede en los alimentos de origen animal, en los vegetales origina dificultades cuando se altera el tejido o se estropean por golpes durante los procesos: pelado, corte, triturado, para la preparación de jugos, congelación y deshidratación.

El pardeamiento enzimático se presenta en los vegetales ricos en compuestos fenólicos y también en el transcurso de la formación de melaninas en los insectos (oscurecimiento de la cutícula) por ello en los mamíferos (melanomas culpables de la pigmentación de la piel), se nombra pardeamiento enzimático la evolución enzimática en sus iniciales etapas, de compuestos fenólicos en polímeros coloreados, comúnmente pardos o negros (Cheftel, 1998).

Las fases de su evolución son:

Figura 1.2. Fases de transformación del pardeamiento enzimático



Fuente: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/202015/202015/leccin_38_pardeamiento_enzimatico.html

Entre los sustratos naturales del PE están mono, o polifenoles, su reactividad estriba de su estructura y de las enzimas que atraen su oxidación, las constantes reacciones de polimerización o condensación llevan a los pigmentos rojos, morados, pardos, negros, son supuestamente no enzimáticos y no exhortan la presencia de oxígeno.

Es importante aclarar que la hidroxilación de monofenoles y la oxidación de difenoles son dos acciones enzimáticas disímiles y divisibles; sin embargo, al parecer una misma enzima puede catalizar, continuamente las dos reacciones. Enzimas de diferente origen presentan analogías de actividad hidroxilante/oxidante diferentes, lo que atribuye a la presencia de isoenzimas y al hecho de que su contenido en Cu^+ y Cu^{++} difiere de una forma a otra. La nomenclatura relativa a estas enzimas no es muy precisa: se habla de monofenolasa o de cresolasa, haciendo referencia a la etapa inicial enzimática y de polifenoloxidasas, de polifenolasa o de catecolasa con relación a la segunda etapa, el

nombre sistemático para las enzimas culpables de la faena oxidante es O-difenolo-oxígeno-oxidoreductasa (E.C.1.10.3.1.). Es el oxígeno molecular el que procede como aceptor de hidrogeno (González , 1992).

El proceso en movimiento de la reacción se asimiló midiendo la absorbancia de las quinonas. La reacción se impide por un exceso de producto final. (Quinona), aunque las polifenoloxidasas sólo se presentan en los tejidos vegetales en mínimas concentraciones continuamente es el contenido en sustrato y no la enzima el que limita la velocidad de pardeamiento. El pH óptimo para el pardeamiento se sitúa entre 5 y 7 y más concretamente entre 6 y 6.5, a pH más inferiores su actividad mengua ligeramente y se puede calcular por la absorbancia de las quinonas, a la oxidación no enzimática de concertados cuyo potencial redox es menor a las de las quinonas, por lo habitual, la polifenoloxidasa es relativamente tenaz al calor.

La polifenoloxidasa conserva acción oxidante e hidrolizante en estos alimentos:

Figura 1.3. Polifenoloxidasa presente en los alimentos

Polifenolsa	Alimento
Oxidante	Plátano Melocotón Té Tabaco
Hidrolizante	Manzana Pera Papa Champiñones

Fuente: datateca.unad.edu.co

1.2.1. Origen del pardeamiento enzimático

La elaboración de melanina es la primordial responsable del pardeamiento de frutas y hortalizas (Vámos-Vigázó, 1995), el PE es común en todo el reino vegetal perturbando al color, sabor, valor nutricional y duración del alimento (Hurrell y Finot, 1984; Matheis y Whitaker, 1984; Sapers et al., 1994). En unos casos el pardeamiento vigente en frutas y hortalizas es de naturaleza no enzimática.

En esos casos el pardeamiento se imputa a reacciones de autooxidación de combinados fenólicos (Singleton y Rossi, 1965), la mayor parte de las estrategias para controlar el pardeamiento de las superficies expuestas al corte se centran en modular la actividad de la polifenoloxidasas (PPO).

El proceso de pardeamiento enzimático da iniciación con la fractura de membranas en el interior de las células del tejido vegetal, el estrés mecánico y físico que se suele causar durante la evolución de las materias primas en productos de IV Gama, genera una señal que migra a tejidos adyacentes no dañados e induce a una serie de respuestas fisiológicas, uno de los canjes más perjudiciales, como respuesta al estrés mecánico y físico, es el que incita el metabolismo fenilpropanoide generando como resultado la recolección de combinados fenólicos y el posterior pardeamiento de tejidos.

Cuando un estrés físico o proceso de avería (respuesta al daño o senescencia) inicia, la compartimentalización de las células comienza a fallar, como derivación a este fenómeno se origina la mezcla de sustratos fenólicos (catequinas, polifenoles) con la polifenol oxidasa y/o fenol peroxidasa (Cabezas, 2013).

Las enzimas polifenoloxidasas oxidan los combinados producidos en la fase inicial del metabolismo fenólico. Esta fase inicial está compuesta por la conversión del amino ácido L-fenilalanina en ácido trans-cinámico mediante la enzima fenilalaninaamonioliasa (EC 4.3.1.5; PAL), la acción de la reacción catalizada por la PAL incrementa en respuesta generalmente a los daños mecánicos (estrés de corte) y a la fabricación de etileno (Martínez y Whitaker, 1995).

Las polifenoloxidasas son enzimas que catalizan una reacción que transforma odifenoles en o-quinonas. Las o-quinonas son muy reactivas y atacan a una gran variedad de componentes celulares, favoreciendo la formación de polímeros negro marrón, estos polímeros son los responsables del oscurecimiento de tejidos vegetales cuando se deterioran físicamente.

Esto se observa expeditamente en plátanos o papas, que tienen elevados niveles de polifenoloxidasas. Cuando la célula se halla sana e intacta, las polifenoloxidasas y sus sustratos, los fenoles, se localizan en compartimientos separados (cloroplastos y vacuolas, respectivamente). Sin embargo, cuando la célula se perturba al envejecer, o

como consecuencia de daño físico o infeccioso, las enzimas y sustratos se unen y sucede la reacción descrita.

El oscurecimiento causado por estas enzimas genera inmensas pérdidas a la industria agropecuaria. Por ello, el contenido de polifenoloxidasas, y su nivel de acción son muy importantes para establecer la calidad de frutos y vegetales, gracias a la importancia de la actividad de la PAL en el elemento de oxidación de los tejidos vegetales, unos autores sostienen la importancia de la actividad de la PAL como índice primordial de la vida útil en algunos productos IV Gama.

Otra enzima oxidativa significativa en el reino vegetal es la peroxidasa (EC 1.11.1.7; POD), esta enzima se relaciona con procesos tales como la lignificación (Prota et al., 1988). POD lleva a cabo la oxidación de un electrón de los mezclados fenólicos de cara al peróxido de hidrógeno, dada la baja reunión de peróxido de hidrógeno en los tejidos vegetales, se estima que su papel en la oxidación de varios fenoles es debido a un resultado sinérgico entre PPO y POD (Subramanian et al., 1999).

Los modeladores cinéticos se pueden emplear para analizar los cambios químicos que experimenta un alimento. Varios estudios realizados para instaurar un modelo cinético que describa de forma apacible de los mecanismos de la reacción del pardeamiento no enzimático ocasionalmente se han ejecutado en soluciones modelos, preparadas a partir de una argamasa de diferentes proporciones de hexosas y de algún aminoácido preciso.

El PE por otro lado, constituye un acumulado completo de fuerzas catalizadas en forma enzimático, la inicial de ellas, sucede a partir del sustrato presente es un monofenol, es su evolución en difenol, la segunda, la metamorfosis del difenol en quinona, en el caso de la tirosina (monofenol) se crea primeramente la dopa (difenol) y en seguida la dopaquinona (quinona), comenzando con de la formación de la quinona, la reacción progresa de forma espontánea, las quinonas se pueden mudar en trifenoles por renuencia en el agua y posteriormente oxidarse a hidroxiquinonas (Gasull & Becerra, 2006).

Este autor comenta además que todas estas medulas son muy reactivas, generando asó los polímeros y transformándose con otras sustancias que tienen presencia en el alimento, principalmente las proteínas, los productos terminables, llamados melaninas, poseen un color muy oscuro, o negro e insolubles en el agua. Estos polímeros tienen

efectos antimicrobianos y podrían ser un mecanismo de resguardo de los vegetales frente a las infecciones.

1.2.2. Factores que favorecen el pardeamiento enzimático

Pese a que el PE genera cambios en el aroma y sabor (amargo, astringente), y puede disminuir la calidad, las melaninas desarrolladas no son tóxicas. Las frutas pardeadas son seguras de comer posterior a varias horas de haber sido rebanadas, varios factores inciden en la reacción y se usan para evitar el pardeamiento de frutas como por ejemplo ensaladas.

Los ácidos retardan o detienen: Las frutas ácidas, con un pH menor a 5, como naranjas y limones, no adquieren pardeamiento, en consecuencia, el jugo de limón, vinagre u otros ácidos, evitan el pardeamiento cuando son desperdigados en las frutas cortadas, solamente las frutas no ácidas con un pH entre 5 y 7 son frágiles al pardeamiento, la reacción requiere oxígeno.

Deponer el oxígeno a través de enfrascar las frutas frescas bajo atmósfera libre de oxígeno, o añadir vitamina C como un antioxidante, retarda o evita el pardeamiento.

La enzima es sensible al calor: Expresa que escaldar o calentar las frutas evita también el pardeamiento, no obstante, el calentamiento pudiera producir cambios bruscos en el aroma y textura de la fruta.

El enfriamiento retarda la reacción enzimática: Las frutas frescas tajadas amontonadas en el refrigerador pardearán perezosamente antes que las que se hallan a temperatura ambiente, no obstante, cuando se las retira del refrigerador, la reacción vuelve a activarse, además, la presencia de cobre o hierro puede aumentar la proporción de la reacción, esto se observa fácilmente cuando la fruta es tajada con un cuchillo corroído o surtida en un tazón de cobre (Buisedera, Gil , & Salinas, 2005).

1.2.3. Control a la reacción del pardeamiento enzimático

El PE se puede controlarse mediante del uso de procesos físicos y químicos, y, en la mayoría de los casos, es aplicable ambos métodos para lograr un mejor resultado, Los métodos físicos encierran la disminución de temperatura y/o oxígeno, uso de empaque en atmósferas transformadas o recubrimientos comestibles, procedimientos con

irradiación gama o altas presiones. Los procesos químicos manejan compuestos que inhiban la enzima, excluyan sus sustratos (oxígeno y fenoles) o actúen como un sustrato preferido.

El registro natural de la actividad de la polifenoloxidasas se origina primordialmente por medio de la compartimentalización de los sustratos, la enzima se halla en los plástidos y cloroplastos (en los vegetales superiores), además en el citoplasma celular, mientras que los surtidos fenólicos que pueden servir de sustratos se acopian en vesículas.

Cuando se destroza la compartimentalización por un perjuicio mecánico, como el triturado, tajo o enfriamiento y descongelación, la obstrucción de pardeamiento se puede producir. También se origina la inhibición del enzima por los productos de la renuencia, además de conservar la compartimentalización, la reacción de pardeamiento se puede aplacar ejerciendo sobre diferentes factores:

- Impidiendo el acercamiento del oxígeno con la superficie del tajo
- Descendiendo la temperatura
- Comprimiendo el pH
- Alterando la enzima

López, Martínez, Beryl, & Bautista (2014) mencionan que ordinariamente estos elementos intervienen de forma combinada, de esta forma, el declive de pH puede actuar primeramente subyugando la actividad del enzima, (su pH ideal será entre 5 y 7), pero además, si es adecuadamente bajo, desnaturalizándola de forma irreversible. El ácido ascórbico, es un inhibidor de la reacción muy eficaz en un inicio, al transformar las quinonas en fenoles, pero la inhibición es solamente estacional, al terminar el ácido ascórbico con el intervalo de la reacción.

Antes de que la FDA anulara su estado GRAS en 1986 debido a su conflicto potencial a la salud mostrado por consumidores sensibles (Taylor, 1993), los sulfitos eran usados considerablemente para vigilar tanto el pardeamiento enzimático como el no enzimático. Gracias a que se prohibió su adhesión en frutas y verduras para consumo en crudo, se deliberó en el uso de otros químicos para evitar el PE.

Pese a que se manejaron varios inhibidores PPO (inhibidor de la protoporfirinogen oxidasa) durante la exploración (Vámos-Vigyázó, 1981; McEvily et al., 1992; Iyengar y

McEvily, 1992; Sapers, 1993), sólo se lidiarán a continuación la aplicación potencial de inhibidores para frutas y verduras tajadas de manera fresca. Es importante enmarcar que ciertos químicos manipulados en la investigación no cumplen con los estándares de seguridad y proyectan riesgos tóxicos, otros pueden distribuir efectos sensoriales no ansiados en los alimentos y otros han indicado ser efectivos exclusivamente en jugos de frutas, pero no en superficies tajadas.

Tradicionalmente, el tratamiento convencional de alimentos consigue prevenir el pardeamiento por medio de la inactivación de PPO con calor, como en el caso del escaldado y el hervido de alimentos. La inactivación con calor es una técnica eficaz para evitar el pardeamiento y la PPO se discurre como una enzima de baja termoestabilidad, pese a que se han reportado discrepancias en la estabilidad térmica para disímiles cultivos e isoformas de PPO.

Consecutivamente puede producir problemas, puesto que el dehidroascórbico desarrollado puede dar lugar a una renuencia de pardeamiento específica. Dependiendo de las circunstancias de uso, el ácido ascórbico puede también echar abajo la enzima al cambiar las histidinas del centro activo por acciones mediadas por radicales libres. Otras sustancias, como el ácido benzoico y otros combinados aromáticos, proceden reduciendo la acción de la enzima al rivalizar con los sustratos. Y además, la desnaturalización térmica, por ejemplo por medio del escaldado con vapor que constituye es un procedimiento muy efectivo, al usarse.

Para que suceda una reacción enzimática de ennegrecimiento, se necesitan de elementos fundamentales: la presencia de PPO activa, oxígeno y sustratos fenólicos. Evitar el pardeamiento es viable, por lo menos transitoriamente, mediante la exclusión de sustratos y/o inhibición enzimática. Ciertos tipos actúan llanamente como inhibidores de PPO, otros favorecen un medio impropio para el desarrollo de la reacción de ennegrecimiento, mientras otros actúan con los productos de la reacción de PPO antes de que alcancen la formación los pigmentos marrones.

Mientras que se consigue un pH ideal para PPO que fluctúa entre ácido y neutral, en el conjunto de frutas y vegetales la actividad de PPO ideal se aprecia a un pH de 6.0-6.5; se puede revelar poca actividad más debajo de un pH de 4.5. De igual manera, se ha reportado que una inactivación invariable de PPO se logra en un pH menor a 3.0

(Ricardos y Hyslop, 1985). Sin embargo, también se ha reportado que el PPO de la manzana es muy flexible a la acidez y a un pH 3.0, detiene el 40% de su actividad máxima (Nicolas et al., 1994).

El aditivo orgánico más recomendado es el ácido ascórbico, sus propiedades pueden evitar o minimizar el PE, por su representación vitamínico inofensivo, el ácido ascórbico por sí mismo no es un inhibidor de la enzima: actúa sobre el sustrato, de modo que puede adicionarse después de haberse formado las quinonas, puesto que tiene la propiedad de oxidarse a ácido dehi-hidroascórbico, reduciendo la quinona a fenol (35) (Morante, Agneska, & Carranza, 2013).

Esas acciones las realiza el ácido ascórbico hasta que se haya convertido totalmente en dehidroascórbico que ya no puede avasallar las quinonas, de manera que éstas permanecen, desde su enmohecimiento hasta la formación de metaloides, el uso de químicos que bajan el pH del producto, o acidulantes, se pueden emplear ampliamente para vigilar el PE.

El acidulante usado comúnmente es el ácido cítrico, los acidulantes continuamente se usan en mezcla con otros tipos de agentes antipardeamiento, puesto que es muy arduo lograr una inhibición completa del ennegrecimiento únicamente con el control del pH. Además, hay diferenciaciones en el efecto de disímiles ácidos sobre PPO; como un ejemplo, se ha alcanzado conseguir que el ácido málico es más eficiente para prevenir el ennegrecimiento del jugo de manzana que el ácido cítrico (Ponting, 1960).

El ácido dehidroascórbico aún puede ser nocivo al formar, en la esterilización posterior, melanoides con los aminoácidos presentes; por ello, la adición de ácido ascórbico no es vigoroso en cerezas, ciruelas y frutillas. No obstante, si se agrega a otras frutas exceso de ácido ascórbico para inactivas totalmente la enzima, se consigue evitar el pardeamiento de manera eficaz.

a) Inactivación de la enzima mediante calor: Tiene la primacía de que no se emplea aditivo alguno, pero exhibe el inconveniente de que la aplicación de calor en frutas frescas causa cambios en la textura, dando sabor y un semblante a escaldado.

Para impedir estos problemas, se regulariza el tiempo de calentamiento, ajustándolo justo al mínimo haciendo posible inactivar la enzima por un escaldado colindante, se

puede vigilar la inhibición enzimática por la prueba del catecol, la inhibición es pesada a 75°C, pero se aligera a 85°C.

b) Inactivación de la enzima mediante inhibidores químicos: Es uno de los más prácticos y económicos inhibidores químicos usados en la actualidad en la producción alimentaria, pese a su olor y sabor bruscos pueden adherirse al alimento cuando se utiliza en bastas cantidades. Su uso no es recomendable en alimentos que contienen tiamina y vitamina C, pues las arruina, en el caso de la tiamina, es apto para romper el anillo tiazólico de la vitamina, apartando el anillo de pirimidina, con lo que disipa su carácter vitamínico.

1.2.4. Efectos de la temperatura en el pardeamiento enzimático

El enfriamiento es de interés en la conservación de productos biológicos, en la comodidad de seres vivos y en la climatización de ambientes (Papadopoulos et al., 2003 citado por Cabrera y Muñoz 2008). Esta técnica sigue siendo la herramienta más económica y eficaz para la preservación extendida de frutas frescas, siempre coligada a una excelente calidad del producto, condiciones convenientes de conservación, empaque, transporte y comercialización, durante el acopio se recomienda almacenar las frutas a temperaturas entre 0 y 5 °C y humedad conexa entre 85 y 90% (Kader, 1992 citado por Dussán-Sarria et al., 2008).

Menciona Ospina y Cartagena (2008) que es uno de los factores más importantes por su influencia en el crecimiento de los microorganismos, determina el estado físico del agua en un determinado medio y, por tanto, su mayor o menor disponibilidad para el crecimiento de los microorganismos.

La temperatura incide sobre la prontitud de las reacciones químicas y bioquímicas, cabe indicar que las bajas temperaturas por sí solas subyugan los procesos metabólicos del producto, dando como resultado una mayor vida de anaquel (Zavala, Proaño, & Viracocha, 2007).

1.2.5. Antioxidantes

Según Zamora (2007) los antioxidantes son sustancias químicas que se describen por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias esencialmente de los ácidos grasos cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano,

indica O'Brien (2004) que suministran una mayor estabilidad oxidativa y la vida útil más larga de grasas y aceites comestibles por retardar el inicio de la rancidez oxidativa, algunas vitaminas también actúan en los mecanismos de defensa antioxidantes.

Los antioxidantes son agentes que restringen los efectos nocivos de las reacciones oxidantes. (Smolin y Grosvenor 1999, citado por Wildman 2001), un antioxidante es una de las muchas sustancias sintéticas o naturales ampliamente usadas añadida a un producto para prevenir o retrasar el deterioro por acción del oxígeno en el aire. (Halliwell y Gutteridge 1985, citado por Packer et al., 2000.)

Los antioxidantes, sustancias naturales que existen como vitaminas, minerales, y otros compuestos en los alimentos, se clasifican en hidrófilo e hidrófobo. Los antioxidantes solubles en agua reaccionan con oxidantes en el citoplasma de la célula y el plasma de la sangre. Antioxidantes liposolubles protegen las membranas celulares de la peroxidación lipídica y los radicales libres (Ross, 2009).

Los antioxidantes que contienen los alimentos se definen como cualquier sustancia que es capaz de demorar, retardar o prevenir el tratamiento de la rancidez en los alimentos u otra alteración del sabor por consecuencia de la oxidación. Los antioxidantes permiten inhibir o retardar la oxidación de dos formas: por un lado, el despojo de los radicales libres, que en ese caso el mezclado se describe como un antioxidante primario, o por un mecanismo que no involucra compactación directa de los radicales libres, en cuyo caso el agregado es un antioxidante secundario (Pokorny et al., 2001).

Aditivos antioxidantes: Los aditivos antioxidantes muestran una acción muy parecido a la que ejercen los aditivos conservantes, puesto que son aditivos que impiden la putrefacción por depósito del oxígeno del aire, esto se traduce en una función en realidad muy llana: presentan una acción estabilizadora sobre la contextura interna de los alimentos, combatiendo los signos de putrefacción oxidativa, determinada por el oxígeno.

En consecuencia, sin antioxidantes los alimentos derrocharían sus nutrientes en vitamina A y C. Además, las grasas se corrompen y a su vez –por acción de la enzima polifenoloxidasas- se promoverían alteraciones del color, en especial tanto en las verduras como en las frutas, Ciertamente, en su gran colectividad, los aditivos antioxidantes permitidos en la actualidad en la producción alimentaria son ciertamente

idénticos a sustancias naturales, no abarcando esperar ningún tipo de efecto negativo sobre la salud por su utilización.

Determinados antioxidantes no se hallan relacionados de manera química con los módulos naturales de los alimentos, de forma que pueden tener una acción perjudicial, siendo responsables de la aparición de diferentes reacciones alérgicas (Pérez C. , 2008).

Los alimentos poseedores de aditivos antioxidantes son:

- Sopas y caldos.
- Salsas de asado y de especias.
- Productos secos de patata.
- Aperitivos basados en cereales.
- Masas de mazapán, y productos similares.
- Masas de cacahuete y productos derivados.
- Goma de mascar.
- Ciertos aromas.

1.2.6. Inhibidores del pardeamiento enzimático

Para que suceda el PE debe hallarse presentes tres elementos: sustratos fenólicos adecuados, fenoloxidasas activas y oxígeno, las técnicas de prevención más comúnmente usados se regentan a la enzima y al oxígeno. Los primordiales enfoques son:

- Alteración y eliminación de sustratos
- Impedir que se activen las enzimas (bloqueo, inhibidores).
- Instituir condiciones poco favorables para la gestión enzimática
- Minimizar el empalme con el oxígeno
- Aplicación de antioxidantes, entre otros

Eliminación y modificación de sustratos: La exclusión total de los sustratos es inadmisibles, lo mejor sería elegir variedades deficientes en los sustratos fenólicos, esta alteración se está indagando en la actualidad.

Se ha evidenciado que los ésteres metílicos son más tenaces a la oxidación que los correspondientes fenoles y se diseñó una técnica para aparejar el pardeamiento fundamentado en la invalidez de los polifenoles naturales por medio de la enzima ometiltransferasa, ciertos estudiosos plantean la eliminación de las quinonas por reacción con sustancias con grupos sulfhidrilo o amino (Denoya , Ardanáz, & Sancho , 2012).

Algunos métodos empleados resultan encarecidamente altos, las sustancias pueden ser tóxicas o trastornar las características sensoriales de las frutas u hortalizas reduciendo su calidad.

Inactivación de la enzima: La más utilizada es la inactivación térmica, se la nombra “blanqueo” y se trata del calentamiento de la fruta o la hortaliza en el agua caliente o vapor hasta que hace posible inactivar la enzima. Esas frutas que en seguida serán transformadas en pulpa logran blanquearse de manera continua en los emplazados escaldadores de fruta. Si el método térmico no es bastante, completo y veloz, éste puede apresurar el pardeamiento en lugar de evitarlo.

La correlación entre el tiempo y la temperatura está en la compensación determinada por el pH, ya que a muy pocos niveles de pH la acción catalítica mengua y la separación de la enzima es completamente inquebrantable, además, el período emplazado para la total inactivación de la enzima en los jugos de fruta pende de la cuantía de enzima presente en el fruto y de la presencia o ausencia de la fruta en el jugo durante el procedimiento térmico.

Convendrá tener en cuenta que el escaldado pudiera causar cierto sabor a asado y una textura blanda, todas estas particularidades pueden ser indeseables en mercancías que van a ser congelados o en patatas que serán transformadas en patatas guisadas.

Condiciones desfavorables: La declinación del pH retarda el pardeamiento enzimático, el uso de ácidos es muy ventajoso para este proceso, el pH ideal para las fenolasas está en alrededor del 7.0. Al reducir el pH a valores menores por debajo de 4.0 retrasa notablemente en la actividad de la fenolasa.

El ácido más esgrimido es el ácido cítrico, puesto que parte de su gestión se debe a su efecto quelante del cobre, la técnica de aplicación consiste en introducir las frutas u

hortalizas en soluciones diluidas en ácido cítrico o su agregado continuo a purés o jarabes, inclusive el ácido málico deriva más eficaz aún.

Minimizar el contacto con el oxígeno: La exclusión de oxígeno evita que la actividad de oxidación pueda realizarse; se puede realizar por 3 técnicas: por vacío, por nitrógeno o por dilapidación de oxígeno, para esta última técnica se usa la operación enzimática aprovechando las enzimas glucosa oxidasa y la catalasa (Gutierrez V., 2001).

Al oxidarse el agente reductor añadido, las quinonas de la fuerza PPO puede sufrir reacciones de oxidación subsecuentes, y posteriormente una pronta polimerización produciendo la procesión de pigmentos oscuros. Debido a la naturaleza oxidativa del PE, los agentes reductores también se pueden emplear para la prevención de variaciones en el color.

El ácido ascórbico es seguramente el aditivo orgánico más ampliamente usado como agente antipardeamiento, puesto que sus propiedades reductoras, reduce tenuemente el pH, el ácido ascórbico comprime a las o-benzoquinonas a o-difenoles, además tiene un resultado directo en PPO (Whitaker, 1994; Golan-Goldhirsh et al., 1992).

Agentes Quelantes: Al acomplejar el cobre del espacio activo del PPO, los mezclados quelantes, como el ácido tetraacético de la etilenediamina (EDTA) permiten inhibir el PPO, que es una metaloenzima que posee cobre en su sitio activo. El Sporix (hexametáfosfato de sodio ácido) es un quelante vigoroso y también un acidulante. El resguardo del ennegrecimiento en el jugo de manzana y superficies tajadas se logró con las combinaciones de Sporix y ácido ascórbico (Sapers et al., 1989).

Agentes Complejantes: Esta categoría contiene los agentes aptos de entrapar o crear complejos con sustratos de PPO o mercancías de reacción, ejemplos de esta cualidad son las ciclodextrinas y oligosacáridos consecuentes no reductores de seis o más residuos D-glucosa. En un ambiente acuoso, las cavidades centrales de las ciclodextrinas permiten constituir complejos de inserción con fenoles, consiguientemente reduciendo los sustratos de PPO, la β -ciclodextrina posee el tamaño de cavidad más adecuada para los combinados con complejos fenólicos, pero su solubilidad en agua es poca. La β -ciclodextrina no fue firme para controlar el ennegrecimiento de manzanas tajadas, presumiblemente por su baja propagación, se

hallaron bastas diferenciaciones en las propiedades inhibitorias de las ciclodextrinas con los disímiles fenoles estudiados (Méndez, 2014).

La potencia del enlace de la β -ciclodextrina se modifica con los diferentes fenoles, en el sistema de modelo que poseen un solo elemento fenólico, la β -ciclodextrina siempre opera como inhibidor del PPO, cuando se examinaron las mezclas de compuestos fenólicos, las derivaciones fueron variables y el balance entre los sustratos de PPO presentes variaron, logrando variaciones de color luego de la oxidación enzimática catalizada por el PPO.

Inhibidores de Enzimas: El 4- hexilresorcinol es uno de los agentes antipardeamiento con mejor resultado para aplicarse en productos frescos tajados, constituye un químico que se ha utilizado con seguridad en el campo de la medicina por bastante tiempo y ha sido admitido como FDA GRASS término asignado como seguro, se utiliza también para prevenir los cambios de color en el camarón (melanosis), el cual comprobó ser más seguro que el sulfito en base peso/peso (McEvily et al., 1992).

En la actualidad el uso en productos de frutas y verduras se ha retrasado mientras se espera el consentimiento de la FDA, se señaló la eficacia del 4-hexilresorcino en ensayos preliminares de manzanas y patatas tajadas (McEvily et al., 1991). La composición de 4- hexilresorcinol junto al ácido ascórbico optimizó el control de ennegrecimiento en tajadas de manzanas (Luo y Barbosa Canovas, 1995).

1.2.7. Medición del pH

El nivel de pH en los alimentos y frutos, es la manera cuantitativa de determinar la cantidad de acidez que poseen, el valor de pH que arrojen los resultados es de suma importancia para poder elaborar derivados y conservas.

Algunos datos importantes sugieren que los valores de pH de los alimentos fluctúan entre 0 y 14, por lo que un nivel de pH por debajo de 7 es considerado ácido, y se consideran perjudiciales aquellos que están bajo el nivel de 5.3.

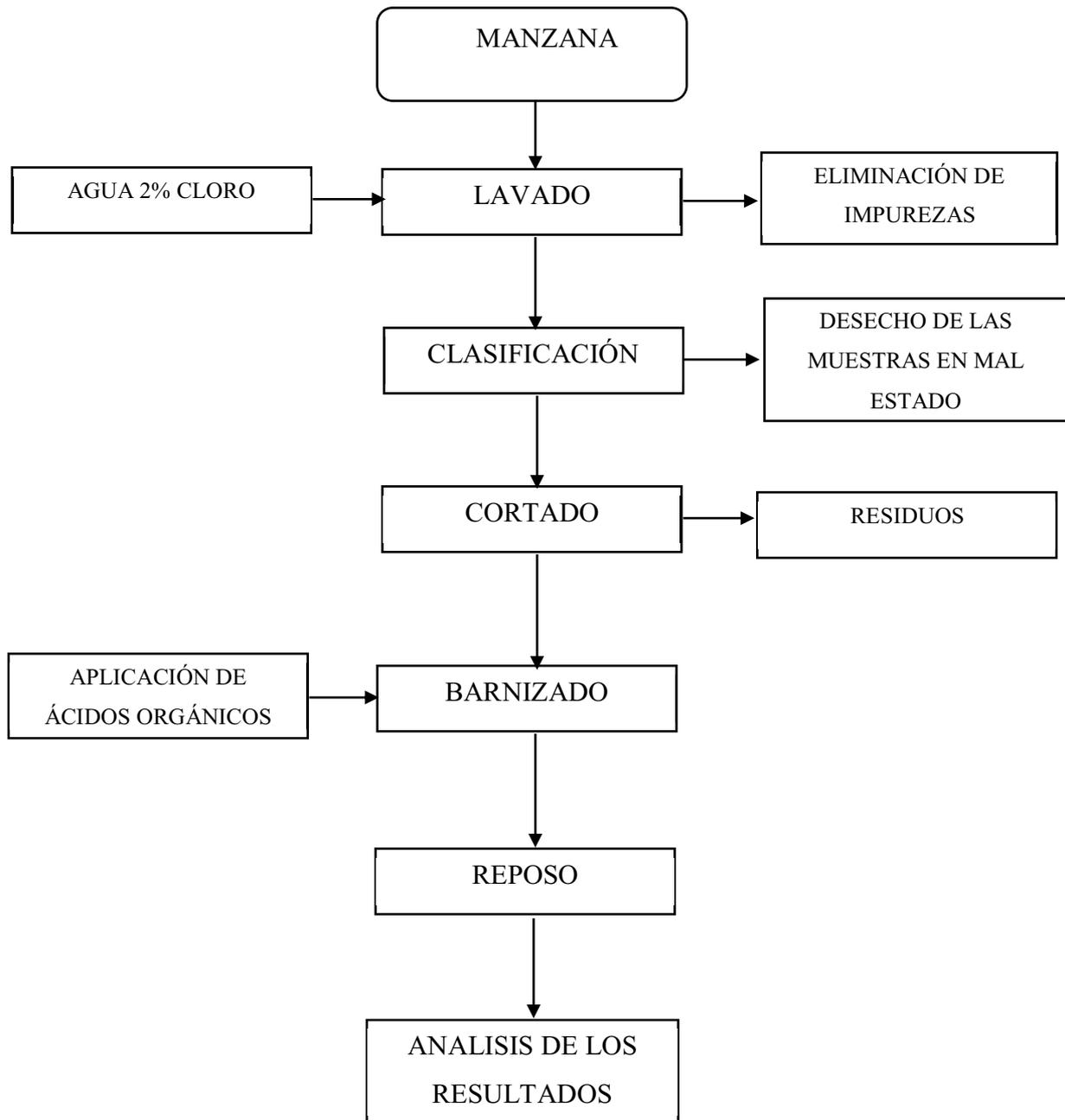
1.2.8. Medición del color

Los alimentos son los encargados de transportar nutrientes al organismo, mantener la calidad del color no es solo cuestión de estética, sino sobre todo de salud, ya que el sabor y conservación del producto está ligada altamente a su color.

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

El proceso de la experimentación se desarrolló de la siguiente manera:



2.1. Preparación de la muestra

La parte experimental de la adición de ácidos orgánicos en las manzanas se desarrolló de una manera sistemática para obtener los resultados más confiables, y se detallan a continuación:

- Preparación de la materia.
- Medición del pH.
- Medición del Color

2.1.1. Materiales y Equipos

- Manzanas
- Agua destilada
- Cuchillo
- Picador
- Guantes
- Ácido cítrico al 0.5% - 1.0% y 1.5%
- Ácido ascórbico al 0.5% - 1.0% y 1.5%
- Paquete de platos desechable
- Mortero
- Papel filtro
- Par de brochas
- Toalla mediana

2.1.2. Descripción del Proceso

Primeramente, se adquirió las manzanas que sirvieron como muestra experimental en un supermercado local, ya que por cuestión de calidad y asepsia estos lugares tienen buenos productos, la manipulación de las manzanas y de los demás materiales se hace con total asepsia, para evitar contaminar el experimente utilizaremos los respectivos guantes.

Se procedió a esterilizar las manzanas con el agua destilada para eliminar cualquier tipo de residuo que pueda afectar el proceso de experimentación, se las secó con las toallas, una vez estelarizadas y totalmente secas, se clasificó aquellas cuyas propiedades eran las óptimas para que sirvan de muestra, el siguiente paso fue rebanarlas en rodajas pequeñas, tomando en cuenta que al ser cortadas con este el proceso del pardeamiento iniciara rápidamente por el contacto del fruto con el metal.

Una vez tajada las manzanas se procedió a barnizarlas con los ácidos cítricos y ascórbico al 0.5 % - 1.0% y 1.5% respectivamente más una muestra sin ningún tipo de adhesión, el proceso para cada porcentaje de ácido se lo realizó cada día, es decir el día uno para los ácidos al 0.5%; el día dos para los ácidos al 1.0% y el día tres para los ácidos al 1.5%. Se utilizaron cinco anillos para cada uno de los tratamientos, las muestras experimentales fueron tratadas seguidamente luego de ser obtenidas por los tres tratamientos propuestos, transcurrió un tiempo promedio de 2 minutos desde la limpieza de la corteza hasta la preparación y aplicación de los tratamientos derivados con los dos ácidos aplicados, el desarrollo de las muestras experimentales se produjo a una temperatura al ambiente de 24 °C y 27 °C.

Finalmente se dejó reposar en los platos desechables las muestras barnizadas por un tiempo de dos horas, tiempo transcurrido en el que se procedió a hacer el respectivo análisis del pardeamiento enzimático. Para los tres días de experimentación se utilizó una escala de valoración hedónica de color cuya ponderación va desde poco pardo a pardo oscuro, dicha ponderación se marca con una “x” en el casillero correspondiente de acuerdo al resultado obtenido (ver anexo 4).

CAPÍTULO III

PROPUESTA

El título de la presente investigación es “Efecto de la adición de ácido orgánico en el pardeamiento enzimático en la pulpa de manzana (*Pyrus malus* L.)” por lo que previamente se analizaron las variables implicadas. En concordancia con el tema se realizó una experimentación con manzanas, aplicándoles ácido cítrico y ascórbico al 0.5% - 1.0% y 1.5% respectivamente, esto permitió describir como el ácido ascórbico al 1.5% tiene mejor resultado que el ácido cítrico a cualquiera de los porcentajes antes mencionados.

Esta investigación, por tanto, propone la utilización del ácido cítrico al 1.5% en manzanas para retardar el proceso de pardeamiento enzimático, ya que puede influenciar sobre el pH de manera más eficiente que al ácido ascórbico, evidenciándose esta aseveración en la tabla 3.3.

Para la escala hedónica de oxidación observada (color) se propone el tratamiento del ácido cítrico al 1% y el ácido ascórbico al 1.5% ya que contienen las marcaciones más bajas en dicha escala visualizada en el anexo 6 y 7 respectivamente.

CAPÍTULO IV

EVALUACIÓN DE RESULTADOS

Los ensayos de experimentación se realizaron en los laboratorios de la Universidad Técnica de Manabí especialidad Zootecnia del cantón Chone y se dieron tres días consecutivos con varias muestras de manzanas sin ácidos orgánicos y con ácidos orgánicos (Ácido cítrico y ácido ascórbico) midiendo el pH y el color, en el Ecuador los tipos de manzanas que se comercializan son las golden (verdes arriba de la figura 1.4) y las fuji (debajo de la figura 1.4), el tipo de manzana escogida para esta experimentación es la fuji:

Figura 1.4. Clases de manzanas que se comercializan en Ecuador



Fuente: Investigadores del trabajo de titulación

El experimento de la aplicación de ácidos cítricos y ascórbico en este trabajo de investigación utilizó como mayor grado de porcentaje el 1.5% y en menor grado el 0.5% incidiendo efectivamente en el pH de la manzana a excepción del ascórbico al 0.0% y cítrico al 0.5% donde los resultados son prácticamente iguales, en comparación al trabajo realizado por Denoya, Ardanaz, & Sancho (2012) donde emplearon los mismos tipos de ácidos pero en porcentajes diferentes, desde el 0.25% y 2% donde el que tuvo mayor impacto sobre la inhibición de la manzana fue el ácido ascórbico al 2% y el ácido cítrico al 1%.

Tratamientos: Los métodos que se aplicaron a las muestras experimentales fueron: inmersión en solución de ácido ascórbico y ácido cítrico al 0.5 %; 1.0 % y 1.5% para el primer día; segundo día y tercer día respectivamente.

Los tres tratamientos variaron únicamente en la aplicación del porcentaje del ácido, cabe aclarar que no se hicieron inmersiones, solo se las barnizó con la brocha de manera generosa.

Todas las muestras experimentales de acuerdo a su tratamiento se depositaron en un tambor circular de plástico, para excluir o drenar el exceso de solución y establecer las medidas de pH y color a cada unidad práctico, a cada tajo de manzana se aplicaron las mediciones de pH y color en un solo punto.

Para todos los tratamientos envasados se colocaron tres muestras experimentales por aplicación (una sin ácidos y dos con ácidos) sin que estuvieran en contacto entre sí, las unidades experimentales se observaron por más de una hora continua con todas las medidas de asepsia requerida.

Las muestras experimentales fueron evaluadas analíticamente antes de ser desechadas previa documentación fotográfica para su medición instrumental del pH y el color fue analizada únicamente después de los 60 minutos de observación y documentación registrada por los investigadores.

Tabla 3.1. Medición del pH

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1,61	7	0,23	3348,36	<0,0001
% DE ACIDO	1,11	3	0,37	5358,00	<0,0001
TIPO DE ACIDO	0,01	1	0,01	153,64	<0,0001
% DE ACIDO*TIPO DE ACIDO	0,50	3	0,17	2403,62	<0,0001
ERROR	2,2E-03	32	6,9E-05		
Total	1,61	39			

Elaborado por los autores

Interpretacion ANOVA: para la variable pH se realiza un analisis de varianza normal donde se observa que tanto el porcentaje y tipo de acido son significatvos por tener un valor de probiabilidad menor a 0.05 (< 0.0001) , de igual forma la interaccion de etos dos factores.

Tabla 3.2. Porcentaje de ácido de tukey

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01005

Error: 0,0001 gl: 32

% DE ACIDO	Medias	n	E.E.	
1,50	3,58	10	2,6E-03	A
1,00	3,91	10	2,6E-03	B
0,50	3,98	10	2,6E-03	C
0,00	4,00	10	2,6E-03	D

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

Elaborado por los autores

Estos resultados difieren del estudio realizado por Capparelli & David (2012) sumergiendo varias rodajas de manzanas en ácido ascórbico al 1% y luego tratadas con quitosana al 140mg, quitosana al 300mg, quitosana 2mg mezclada con ácido ascórbico en un 2%, ácido ascórbico inducida al 1% dieron como resultado que en la prueba 3 se registró la mayor acción enzimática, mientras que la adición 1 (quitosana 140mg) es la que mejor efectividad demostró para disminuir el pardeamiento enzimático.

En la prueba de tukey se puede evidenciar que todos los niveles de porcentaje de ácido aplicado son diferentes en función del pH.

Escogiendo el tratamiento con el porcentaje menor.

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00534

Error: 0,0001 gl: 32

TIPO DE ACIDO	Medias	n	E.E.	
citrico	3,85	20	1,9E-03	A
ascorbico	3,88	20	1,9E-03	B

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

Tabla 3.3. Influencia sobre el pH

Elaborado por los autores

McEvily & Iyengar (1992) determinaron en su investigación que la utilización de proteasas para inhibir la oxidación de frutas, es otro mecanismo enzimático, estos investigadores aplicaron la ficina de higo al 2% y el sulfito al 0.5% por un periodo de 5 minutos para influenciar sobre el pH de las frutas y descubrieron que tienen un alto grado de correlación en los resultados en amas dosis, muy parecida a la solución de

ácidos usados en esta tesis con el 1% y 1.5% de ácido cítrico y ascórbico respectivamente.

Guerrero (2009) utilizó como fruto para su experimentación el banano, siendo este un fruto también altamente propenso a la oxidación, como aditivos inhibidores usó el ácido ascórbico y el isoescintanol, los resultados determinaron que ambos componentes muestran un alto grado de inhibición desde los 250 ppm, sin embargo es el ácido ascórbico el que tiene mayor porcentaje de efectividad en el pH, con un 44% frente al isoescintanol con el 36%. En un grado mayor de 2000 ppm el ácido ascórbico inhibe completamente mientras el isoescintanol llega al 91% del pH. A diferencia de la investigación de este trabajo de titulación se empleó el ácido cítrico por el isoescintanol.

De igual forma la prueba de Tukey para la prueba de ácido nos refleja que el ácido cítrico y el ascórbico tiene una influencia diferenciada sobre el pH de la manzana.

Tabla 3.4. Efecto combinado

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01699

Error: 0,0001 gl: 32

¿ DE ACIDO	TIPO DE ACIDO	Medias	n	E.E.	
1,50	citrico	3,42	5	3,7E-03	A
1,50	ascorbico	3,74	5	3,7E-03	B
1,00	ascorbico	3,84	5	3,7E-03	C
0,50	ascorbico	3,86	5	3,7E-03	D
0,00	citrico	3,91	5	3,7E-03	E
1,00	citrico	3,97	5	3,7E-03	F
0,00	ascorbico	4,08	5	3,7E-03	G
0,50	citrico	4,09	5	3,7E-03	G

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

Elaborado por los autores

Por último, el efecto combinado del porcentaje y tipo de ácido muestra que todas las combinaciones son diferentes en su impacto sobre el pH de la manzana, excepto ascórbico al 0% (sin nada) y cítrico al 0.5%, siendo estos dos estadísticamente similares.

Tabla 3.5. Color

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	TIPO DE ACIDO	¿ DE ACIDO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
COLOR	ascorbico	0,00	5	4,00	0,00	4,00	22,93	0,0006
COLOR	ascorbico	0,50	5	1,80	0,45	2,00		
COLOR	ascorbico	1,00	5	1,60	0,55	2,00		
COLOR	ascorbico	1,50	5	1,20	0,45	1,00		
COLOR	citrico	0,00	5	2,80	0,45	3,00		
COLOR	citrico	0,50	5	1,80	0,84	2,00		
COLOR	citrico	1,00	5	1,20	0,45	1,00		
COLOR	citrico	1,50	5	1,40	0,55	1,00		

Elaborado por los autores

Debido a que la variable color tiene resultados no paramétricos (no normales), se utilizó este método (kruskal wallis).

Según el análisis de kruskal wallis el efecto del tipo y porcentaje de ácido el color de la manzana (oxidación) si es significativo por tener un valor de probabilidad menor a 0.05, y según la prueba de diferencias de medias (promedios) se observa que hay tres grupos de tratamientos diferentes, como se observa en la tabla 3.6:

Tabla 3.6. Tipo y porcentaje de ácido

Trat.	Ranks
cítrico: 1,00	11,5 A
ascórbico: 1,50	11,50 A
citrico:1,50	14,50 A
ascorbico:1,00	17,50 A B
citrico:0,50	19,40 A B
ascorbico:0,50	20,50 A B
citrico:0,00	31,10 B C
ascorbico:0,00	38,00 C

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

Elaborado por los autores

Pérez (2003) en su experimentación en peras, otra fruta con alto índice de pardeamiento al igual que la manzana usada en este trabajo, utilizó una fusión un poco diferente a las experimentaciones anteriormente mencionadas, utilizó rodajas de la fruta inmersas en ácido ascórbico al 2% y la dejó reposar en un ambiente controlado sin xígeno, por el contrario usó nitrógeno al 100% a una temperatura de 10 °C dio como resultado que esta fusión ausenta el olor y el sabor que normalmente adquieren las frutas que se oxidan, de la misma manera no toma el color marrón característico del pardeamiento, este proceso tiene mayor eficacia que el método usado en esta investigación, sin embargo es mucho más tedioso controlar el ambiente físico donde reposarán las muestras.

De igual manera Bravo & Vélez (2016) para determinar el color en su experimentación con la pulpa de mate para prevenir el pardeamiento, utilizó a manera de inhibidor más efectivo el ácido ascórbico al 0.5% sin embargo complementó la refrigeración a 4 °C por un periodo de 4 minutos logró evitar el pardeamiento enzimático en dicha fruta, a

diferencia de esta investigación donde solamente se utilizó el ácido ascórbico a 0.5, 1.0 y 1.5% pero mejor eficiencia en el color tuvo el 1.5%.

En general todos los casos de experimentación citados han tomado como referencia el ácido ascórbico más que el cítrico ya que los resultados muestran que tiene mayor efecto de inhibición al pardeamiento enzimático no solo en la pulpa de manzana sino en otras frutas con alta propensión a la oxidación.

Como interés de esta investigación se busca alargar lo mayor posible la vida útil de las materias primas escogeremos como tratamientos ganadores el ácido cítrico al 1% y ácido ascórbico al 1.5%, por tener los valores más bajos en la escala hedónica de oxidación (visual).

CONCLUSIONES

La oxidación en las manzanas es la causante del pardeamiento enzimático, esto deteriora la fruta tanto en su sabor, textura y color, generando cuantiosas pérdidas a los productores y comerciantes.

Los ácidos orgánicos más utilizados para inhibir el pardeamiento enzimático en la pulpa de la manzana y otras frutas son el ácido cítrico y el ácido ascórbico.

El ácido cítrico al 1.5% disminuye de manera más eficiente el pardeamiento enzimático en las manzanas analizadas, la marcación más baja del color es de acuerdo a la escala aplicada lo tiene el ácido cítrico al 1% y el ácido ascórbico al 1.5%.

RECOMENDACIONES

Para evitar cuantiosas pérdidas a productores y comerciantes de manzanas es importante prevenir el proceso de pardeamiento enzimático, inhibiendo el pardeamiento se puede prolongar la vida útil tanto en su sabor, textura y color.

Se recomienda el uso del ácido cítrico y el ácido ascórbico en la pulpa de manzana para prolongar su vida útil, esto beneficia tanto en costo como en cuestiones de salud.

Se aconseja usar el ácido cítrico al 1.5% para evitar el deterioro del pH en la pulpa de manzana, para la marcación más baja del color se recomienda el ácido cítrico al 1% y el ácido ascórbico al 1.5%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzamora, S., Guerrero, S., Nieto, A., & Vidales, S. (2004). *Conservación de furtas y hortalizas mediante tecnología combinada*. Manual de Capacitación, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación.
- Anangonó, C. (2014). *El uso de ácidos orgánicos como preservantes en alimentos*. Tesis de Grado, ESPOL.
- Buisedera, G., Gil, M., & Salinas, S. (2005). Eliminación de glucosa en huevo líquido por vía enzimática. *Revista de investigación académica*(14), 155-158.
- Cabezas, A. (2013). *Estrategias dirigidas a retrasar el pardeamiento enzimático en productos destinados a la IV Gama: Alcachofas y patatas*. Tesis doctoral, Universidad de Córdoba.
- CAFI. (12 de Enero de 2016). *Cámara Argentina de Fruticultores Integrados*. Recuperado el 21 de Diciembre de 2016, de <http://www.cafi.org.ar/el-consumo-mundial-de-la-manzana-crece-2/>
- Calvo, M. (2011). *Bioquímica de los alimentos*. Recuperado el 21 de Diciembre de 2016, de <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/enzimas/tirosinasa.html>
- Cheftel, J. (1998). *Universidad Nacional Abierta y a Distancia*. Recuperado el 13 de Diciembre de 2016, de http://datateca.unad.edu.co/contenidos/202015/202015/leccin_38_pardeamiento_enzimatico.html
- Denoya, G., Ardanáz, M., & Sancho, M. (2012). Efecto de la aplicación de tratamientos combinados de aditivos sobre la inhibición del pardeamiento enzimático en manzanas cv. *Granny Smith mínimamente procesadas*, 38(3), 263-267.
- Escudero, F. (2010). Ácidos orgánicos y los diferentes tipos de uso. *Cosmopolitana*, 4(1), 27-38.
- Fuster, J. (2007). *desenvolupamentsostenible.org*. Recuperado el 6 de Octubre de 2016, de

http://www.desenvolupamentsostenible.org/index.php?option=com_content&view=article&id=237&Itemid=270&lang=es

- Garcés, S. (20 de Mayo de 2015). *Que!* Recuperado el 21 de Diciembre de 2016, de <http://www.que.es/blogs/201505200800-manzana-cortada-vuelve-color-parduzco.html>
- Gasull, E., & Becerra, D. (2006). Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana. (cv. Red Delicious). *Revista Industria Alimentaria*, 17, 70-77.
- Gómez, P. (2010). *Procesamiento mínimo de manzana: efecto de radiación UV-C y la luz pulsada de alta intensidad sobre a calidad*. Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires, Departamento de Industrias, Buenos Aires.
- González, M. (1992). Pardeamiento enzimático en uva y vino. *Revista española de ciencia y tecnología de alimentos*, 32(5), 481-491.
- Gutierrez, V. (2001). Inhibidor del pardeamiento enzimático en frutas y crustáceos. *Alimentación equipos y tecnología*(157), 69-72.
- Loor, S. (2010). *Depósito de documentos de la FAO*. Recuperado el 12 de Diciembre de 2016, de <http://www.fao.org/docrep/x5062S/x5062S08.htm>
- López, C. (2010). *Efecto del uso de los Ácidos Orgánicos en la Nutrición de Aves*. Congreso Nacional de Nutrición Animal, México.
- López, E., Martínez, T., Beryl, T., & Bautista, C. (2014). Actividad antioxidante y enzimática de albahaca "Nufar" (*Ocimum basilicum* L.) almacenada en refrigeración. *Agronomía Mesoamericana*, 25(2), 255-265.
- Méndez, Á. (8 de Enero de 2014). *Química*. Recuperado el 16 de Diciembre de 2016, de <http://quimica.laguia2000.com/quimica-inorganica/quelantes>
- Mora, A. (2007). Uso de los ácidos orgánicos. *Seguridad, Profesiones y productos químicos*, 7, 34-42.

- Morante, J., Agneska, A., & Carranza, M. (2013). Distribución, localización e inhibidores de las polifenol oxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Ciencia y Tecnología*, 7(1), 23-31.
- Netto, R. (2011). *Alimentación*. Recuperado el 13 de Diciembre de 2016, de <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/19261-acidos-organicos-presentes-la-vida-cotidiana>
- Pérez, C. (2008). *Natursan*. Recuperado el 16 de Diciembre de 2016, de <http://www.natursan.net/los-aditivos-antioxidantes/>
- Pérez, L. (2003). *Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Tecnología de alimentos, Valencia.
- Plan Educativo Nacional. (2009). Recuperado el 20 de Noviembre de 2016, de http://www.planeducativonacional.unam.mx/CAP_00/Text/00_05a.html
- Pojota, S. (2011). *Evaluación de acidificante orgánico en la crianza de pollos Broiler en la provincia de pichincha*. Universidad Estatal de Bolívar.
- Rodríguez, E. (2011). Uso de Agentes Antimicrobianos Naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 7(1), 153-170.
- Roldán, V. (2012). *Taringa*. Recuperado el 12 de Diciembre de 2016, de <http://www.taringa.net/post/ciencia-educacion/13876668/Avances-en-la-conservacion-de-los-alimentos.html>
- Santos Guerra, M. Á. (2013). *Imágen y Educación*. España: Magisterio del Río de la Plata.
- Suárez, P., Andreu, A., Colman, S., Clausen, A., & Feingold, S. (2009). Pardeamiento enzimático: caracterización fenotípica, bioquímica y molecular en variedades de papa nativas de la Argentina. *REvista latinoamericana de la papa*, 15(1), 66-71.
- Zavala, R., Proaño, E., & Viracocha, V. (2007). Pardeamiento en las frutas. *Ciencias Agropecuarias*, 6, 28-43.

ANEXOS

ANEXO 1

Resultados al 0.5 % (Día 1)



ANEXO 2

Resultados al 1.0% (Día 2)



MUESTRAS DE MANZANA CON ACIDO ASCORBICO AL 1.0%



MUESTRAS DE MANZANA DESPUES DE ESPERAR UNA HORA CON ACIDO ASCORBICO AL 1.0%



MUESTRAS DE MANZANA CON ACIDO CITRICO AL 1.0%



MUESTRAS DE MANZANA DESPUES DE ESPERAR UNA HORA CON ACIDO CITRICO AL 1.0%



MUESTRAS DE MANZANA SIN NADA



MUESTRAS DE MANZANA SIN NADA DESPUES DE ESPERAR 1 HORA

ANEXO 3

Resultados al 1.5% (Día 3)



ANEXO 4

Tabla hedónica de valoración de color

Puntaje	Clasificación	Color			
1	poco pardo	■			
2	parcialmente pardo		■		
3	pardo			■	
4	muy pardo				■
5	pardo oscuro				■

Fuente: Equipo investigador (2016)

ANEXO 5

Resultados de la medición del color del primer día

Día 1 medición de color					
Base		0.5% Aci. Ascórbico		0.5% Aci. Cítrico	
Muestra 1		Muestra 1		Muestra 1	
1 Poco pardo		1 Poco pardo		1 Poco pardo	
2 Parcialmente pardo		2 Parcialmente pardo	X	2 Parcialmente pardo	X
3 pardo	X	3 pardo		3 pardo	
4 Muy pardo		4 Muy pardo		4 Muy pardo	
5 Pardo oscuro		5 Pardo oscuro		5 Pardo oscuro	
Muestra 2		Muestra 2		Muestra 2	
1 Poco pardo		1 Poco pardo		1 Poco pardo	
2 Parcialmente pardo		2 Parcialmente pardo	X	2 Parcialmente pardo	
3 pardo	X	3 pardo		3 pardo	X
4 Muy pardo		4 Muy pardo		4 Muy pardo	
5 Pardo oscuro		5 Pardo oscuro		5 Pardo oscuro	
Muestra 3		Muestra 3		Muestra 3	
Poco pardo		Poco pardo	X	Poco pardo	
Parcialmente pardo	X	Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	X
pardo		pardo		pardo	
Muy pardo		Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	
Muestra 4		Muestra 4		Muestra 4	
Poco pardo		Poco pardo		Poco pardo	X
Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	X	Parcialmente pardo	
pardo	X	pardo		pardo	
Muy pardo		Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	
Muestra 5		Muestra 5		Muestra 5	
Poco pardo		Poco pardo		Poco pardo	X
Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	X	Parcialmente pardo	
pardo	X	pardo		pardo	
Muy pardo		Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	

Fuente: Equipo investigador (2016)

ANEXO 6

Resultados de la medición del color del segundo día

Día 2 medición de color					
Base		1.0% Aci. Ascórbico		1.0% Aci. Cítrico	
Muestra 1		Muestra 1		Muestra 1	
Poco pardo		Poco pardo		Poco pardo	X
Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	X	Parcialmente pardo	
pardo		pardo		pardo	
Muy pardo	X	Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	
Muestra 2		Muestra 2		Muestra 2	
Poco pardo		Poco pardo		Poco pardo	
Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	X	Parcialmente pardo	X
pardo		pardo		pardo	
Muy pardo	X	Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	
Muestra 3		Muestra 3		Muestra 3	
Poco pardo		Poco pardo		Poco pardo	X
Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	X	Parcialmente pardo	
pardo		pardo		pardo	
Muy pardo	X	Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	
Muestra 4		Muestra 4		Muestra 4	
Poco pardo		Poco pardo	X	Poco pardo	X
Parcialmente pardo		Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	
pardo		pardo		pardo	
Muy pardo	X	Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	
Muestra 5		Muestra 5		Muestra 5	
Poco pardo		Poco pardo	X	Poco pardo	X
Parcialmente pardo		Parcialmente pardo		Parcialmente pardo	
pardo		pardo		pardo	
Muy pardo	X	Muy pardo		Muy pardo	
Pardo oscuro		Pardo oscuro		Pardo oscuro	

Fuente: Equipo investigador (2016)

ANEXO 7

Resultados de la medición del color del tercer día

Día 3 medición de color																										
Base	1.5% Aci. Ascórbico	1.5% Aci. Cítrico																								
Muestra 1 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo		Muy pardo	X	Pardo oscuro		Muestra 1 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo	X	Muy pardo		Pardo oscuro		Muestra 1 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo	X	Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro	
Poco pardo																										
Parcialmente pardo																										
Muy pardo	X																									
Pardo oscuro																										
Poco pardo																										
Parcialmente pardo	X																									
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Poco pardo	X																									
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Muestra 2 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro	X	Muestra 2 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo	X	Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro		Muestra 2 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo	X	Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro	
Poco pardo																										
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro	X																									
Poco pardo	X																									
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Poco pardo	X																									
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Muestra 3 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo		Muy pardo	X	Pardo oscuro		Muestra 3 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo	X	Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro		Muestra 3 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo	X	Muy pardo		Pardo oscuro	
Poco pardo																										
Parcialmente pardo																										
Muy pardo	X																									
Pardo oscuro																										
Poco pardo	X																									
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Poco pardo																										
Parcialmente pardo	X																									
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Muestra 4 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo		Muy pardo	X	Pardo oscuro		Muestra 4 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo	X	Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro		Muestra 4 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo	X	Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro	
Poco pardo																										
Parcialmente pardo																										
Muy pardo	X																									
Pardo oscuro																										
Poco pardo	X																									
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Poco pardo	X																									
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Muestra 5 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo		Muy pardo	X	Pardo oscuro		Muestra 5 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo	X	Parcialmente pardo		Muy pardo		Pardo oscuro		Muestra 5 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Poco pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Parcialmente pardo</td><td style="text-align: center;">X</td></tr> <tr><td>Muy pardo</td><td></td></tr> <tr><td>Pardo oscuro</td><td></td></tr> </table>	Poco pardo		Parcialmente pardo	X	Muy pardo		Pardo oscuro	
Poco pardo																										
Parcialmente pardo																										
Muy pardo	X																									
Pardo oscuro																										
Poco pardo	X																									
Parcialmente pardo																										
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										
Poco pardo																										
Parcialmente pardo	X																									
Muy pardo																										
Pardo oscuro																										

Fuente: Equipo investigador (2016)

ANEXO 8

Evidencias de las practicas realizadas en los laboratorios de la Universidad Técnica de Manabí especialidad Zootecnia del cantón Chone



a. Preparación de la materia
ácidos



c. Barnizados de las muestras con



b. Preparación de los ácidos orgánicos



d. Medición del pH



e. Registro de los respectivos resultados