



**UNAP**



**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS  
ALIMENTARIAS**

**EXAMEN DE SUFICIENCIA PROFESIONAL**

**“CINÉTICA DE INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA Y  
DEGRADACIÓN DE COLOR DE ALIMENTOS”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**PRESENTADO POR:**

**HAMILTON JIMÉNEZ SÁNCHEZ**

**ASESOR:**

**Ing. LITTMAN GONZALES RÍOS, Dr.**

**IQUITOS - PERÚ**

**2018**



**ACTA DE EXAMEN DE SUFICIENCIA PROFESIONAL AÑO 2018**

En la ciudad de Iquitos, siendo las 17:00 horas, del día Miércoles 21 de noviembre del 2018, en el Auditorio de la Oficina General de Bienestar Universitario de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, se reunió el Jurado Calificador del Examen de Suficiencia Profesional Año 2018, designado con Resolución Decanal N° 254-FIA-UNAP-2018, con la presencia del Secretario Académico de la Facultad de Industrias Alimentarias, para dar inicio a la defensa de la Memoria Descriptiva titulado: **"CINETICA DE INACTIVACION ENZIMATICA Y DEGRADACION DE COLOR DE ALIMENTOS"**, por el Bachiller **HAMILTON JIMENEZ SANCHEZ**, con un tiempo de 15 minutos de exposición, 30 minutos de resolución de las preguntas y 15 minutos de deliberación del Jurado Calificador.

El Bachiller **HAMILTON JIMENEZ SANCHEZ**, en la primera fase del proceso de titulación por la modalidad de Examen de Suficiencia Profesional, en el examen escrito obtuvo la nota de **13**, la que será sumada y promediada con la nota de la presentación oral y defensa de la Memoria Descriptiva.

Luego de la deliberación del Jurado Calificador, el Bachiller **HAMILTON JIMENEZ SANCHEZ**, obtuvo la nota de 15 en la presentación oral y defensa de la Memoria Descriptiva titulada **"CINETICA DE INACTIVACION ENZIMATICA Y DEGRADACION DE COLOR DE ALIMENTOS"**.

Siendo las 17:45 horas del día Miércoles 21 de noviembre del 2018, el Jurado Calificador, conformado por don Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Presidente, don Elmer Trevejo Chávez, don Elmer Alberto Barrera Meza, doña Miriam Ruth Alva Angulo y don Juan Alberto Flores Garzatúa, al consolidar las notas del examen escrito y la presentación oral, con un valor de 50% cada una, tal cual lo establece el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad de Industrias Alimentarias en su Artículo 44° incisos a, b, c, d, y e, el Bachiller **HAMILTON JIMENEZ SANCHEZ** obtuvo la nota de ..... y declaran que, ha aprobado el **EXAMEN DE SUFICIENCIA PROFESIONAL** con el calificativo de bueno y esta apto para iniciar sus trámites administrativos para la obtención del Título Profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, en fe de lo cual suscriben la presente ACTA en ocho (8) ejemplares. Para constancia firmamos el presente documento;

  
 Presidente  
 Ingeniero en Industrias Alimentarias  
 C.P. 11003

  
 Miembro  
 C.P. 11002

  
 Miembro  
 Presidente de Industrias Alimentarias  
 C.P. 11003

  
 Miembro  
 Licenciada en Psicología  
 C.P. 11003

  
 Miembro  
 Ingeniero en Industrias Alimentarias  
 C.P. 11003

  
 ASESOR  
 LETTMAN FLORES RIOS  
 INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
 C.P. 11003

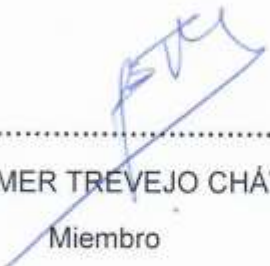



## MIEMBRO DE JURADO

Memoria Descriptiva aprobada en Sustentación Pública en la ciudad de Iquitos en las instalaciones del Auditorio de la Oficina General de Bienestar Universitario de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, llevando a cabo el día 21 de noviembre del 2018; siendo los miembros del jurado calificador los abajo firmantes:



.....  
ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO  
Presidente



.....  
ELMER TREVEJO CHÁVEZ  
Miembro



.....  
ELMER ALBERTO BARRERA MEZA  
Miembro



.....  
MIRIAM RUTH ALVA ANGULO  
Miembro



.....  
JUAN ALBERTO FLORES GARAZATUA  
Miembro alterno y Secretario Académico del FIA

## **Dedicatoria**

A Dios. Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi hijo Andy Dereck. Por estar siempre a mi lado en todo momento brindándome su cariño, amor y por ser el motor y motivo para seguir adelante.

A mis padres Eloísa y Jaime. Por haberme apoyado en todo momento con sus consejos, sus valores y por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que todo por su inmenso amor.

A mis hermanos Giovanni y Deysi que están siempre apoyándome, con sus consejos a pesar de la distancia que nos encontramos.

Hamilton Jiménez Sánchez

## **Agradecimiento**

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerza para superar obstáculos y dificultades, a lo largo de mi vida.

Al Dr. Littman Gonzales Ríos, por la orientación brindada a la realización del tema

Hamilton Jiménez Sánchez

## INDICE

	Página
<b>Acta de Examen de Suficiencia Profesional Año 2018</b>	2
<b>Miembro de Jurado</b>	3
<b>Dedicatoria</b>	4
<b>Agradecimiento</b>	5
<b>Índice</b>	6
<b>Resumen</b>	8
<b>Abstract</b>	10
<b>I.- Introducción</b>	12
<b>II.- Objetivos</b>	13
2.1. Objetivo general	13
2.2. Objetivo específico	13
<b>III.- Revisión Bibliográfica</b>	13
3.1. Principales enzimas responsables de cambios de color en vegetales	13
3.2. Factores que influyen la actividad enzimática	17
3.3. Efectos de la temperatura sobre la desnaturalización e inactivación de las enzimas	17
3.4. Inactivación enzimática	18
3.5. Cinética de destrucción microbiana, inactivación enzimática y de degradación de factores de calidad	21
3.6. Tiempo de inactivación térmica y valor D	23
3.7. Dependencia de la temperatura y valor Z	23
3.8. Penetración de calor	23
3.9. Curvas de penetración de calor	24
3.10. Método general: Cálculo de procesos de pasterización	24
3.11. Método de la fórmula	24
3.12. Letalidad	25
3.13. Efecto del tratamiento térmico en enzimas	25

	Página
3.14. Efecto del tratamiento térmico en la degradación de atributos sensoriales	26
3.15. Ozono	27
3.16. Generación de Ozono	28
3.17. Factores que influyen en la eficacia del tratamiento con Ozono	29
3.18. Efecto del ozono sobre los microorganismos	30
3.19. Uso del ozono en la industria de alimentos	31
3.20. Uso del ozono en jugos de frutas	32
3.21. Efectos del ozono en la calidad de los alimentos líquidos	32
3.22. Enzimas de importancia en la calidad de jugos	34
3.23. Polifenoloxidasa (PPO) (E.C.1.14.18.1)	35
3.24. Peroxidasa (POD) (E.C.1.11.1.7)	35
3.25. Pectinmetilesterasa (PME) (EC.3.1.1.11)	36
3.26. Fitasa	43
3.27. Influencia del tratamiento de ozono en las enzimas estudiadas	44
3.28. Modelos matemáticos usados para describir la cinética de inactivación enzimática	44
3.29. Determinación de tiempos de inactivación térmica (TIT) de PE	45
3.30. Determinación de los cambios sensoriales durante la aplicación del tratamiento térmico	46
3.31. Efectividad del tiempo de subida de la temperatura durante la aplicación del tratamiento térmico	46
<b>Conclusiones</b>	47
<b>Recomendaciones</b>	48
<b>Referencias bibliográficas</b>	49
<b>Glosario de términos</b>	62

## RESUMEN

El empleo de las enzimas en la industria alimentaria cada día va en aumento. Aproximadamente el 30% de las enzimas aisladas en el mundo se emplea en la industria alimentaria, alcanzando una facturación anual superior a los cien mil millones de dólares. Las enzimas poseen múltiples aplicaciones en la industria alimentaria que va desde su empleo en la industria láctea para retirar la lactosa de la leche para consumo de un sector de la población que es intolerante a la lactosa, para tal efecto se emplea la betagalactosidasa, así también es empleado en la industria quesera para la fabricación de quesos en el cual participa la renina microbiana obtenida por recombinación de genes. En la gastronomía las enzimas participan en el ablandamiento de carnes, así tenemos a la papaína y la bromelina. Asimismo la enzima glucosa oxidasa es empleado en la industria de deshidratación del huevo, gracias a esta enzima que elimina la glucosa presente en la clara de los huevos es que se evita obtener un producto deshidrata de color oscuro, debido a la reacción entre los aminoácidos y la glucosa durante la denominada reacción de Maillar. Las enzimas también están presentes en la industria panificadora, gracias a la amilasas se obtiene la glucosa a partir de los almidones presentes en la harina de trigo. En este caso la amilasa convierte parte del almidón en glucosa que junto con los aminoácidos y catalizado por el calor propicia el color dorado de la corteza del pan.

La amilasa y la glucoamilasa también participan en la producción de jarabes de glucosa a partir del almidón de maíz que luego con la participación de glucosa isomerasa da como producto final los jarabes ricos en fructosa que los Estados Unidos de América produjeron en el año 2016 la cantidad de 15 millones de toneladas.

La industria de la cerveza emplea grandes cantidades de proteasas como la papaína para clarificar los productos de cervecería. Asimismo la industria de los jugos por ejemplo los jugos a partir de la manzana emplean la pectinasa para clarificar los jugos.

Por otro lado así como las enzimas participan en procesos que mejoran la calidad y la productividad de muchos alimentos, así también algunas participan



proporcionando efectos perjudiciales en los alimentos, por ejemplo en la oxidación de los lípidos participan las lipasas que si no se controla a tiempo a estas enzimas obtendremos productos con características oxidadas. En muchos procesos algunas enzimas participan en reacciones de oscurecimiento como por ejemplo en la papa, algunas variedades de manzana y en muchos otros vegetales, las enzimas involucradas en dichos procesos son generalmente las polifenoloxidasas que requiere su inactivación, de lo contrario los productos sufrirán oxidaciones enzimáticas dando como resultado colores oscuros y al mismo tiempo afectando al sabor y valor nutritivo.

La inactivación de las enzimas generalmente se realiza con calor. Es importante tener en cuenta que cada enzima presenta diferente resistencia al calor. Por este motivo es importante el estudio de la cinética de inactivación enzimática, para obtener productos de calidad.

Un nuevo método para destruir bacterias e inactivar enzimas con mucha eficacia está siendo aplicado por muchas industrias y los investigadores han dirigido sus investigaciones para su aplicación en varias presentaciones de alimentos. Se trata del empleo del ozono como desinfectante de materias primas. La ventaja de emplear ozono radica en que una vez añadido al alimento en dosis recomendada es convertido en oxígeno como producto final. Este método de conservación es muy prometedor por su bajo costo, no deja residuos tóxicos, no requiere de calentamiento del producto y por lo tanto no altera las características organolépticas del producto.

## ABSTRACT

The use of enzymes in the food industry is increasing every day. Approximately 30% of the enzymes isolated in the world are used in the food industry, reaching an annual turnover of over one hundred billion dollars. Enzymes have multiple applications in the food industry that goes from their use in the dairy industry to remove lactose from milk for consumption by a sector of the population that is lactose intolerant, for this purpose *betagalactosidase* is used, as well as it is used in the cheese industry for the manufacture of cheeses in which the microbial renin obtained by recombination of genes participates. In gastronomy enzymes participate in the softening of meats, so we have *papain* and *bromelain*. Likewise, the *glucose oxidase* enzyme is used in the egg dehydration industry, thanks to this enzyme that eliminates the glucose present in the egg white, it is avoided to obtain a dark colored dehydrated product, due to the reaction between amino acids and glucose during the so-called Maillard reaction. Enzymes are also present in the bakery industry, thanks to *amylases* glucose is obtained from the starches present in wheat flour. In this case, the *amylase* converts part of the starch into glucose which, together with the amino acids and catalyzed by heat, promotes the golden color of the crust of the bread.

*Amylase* and *glucoamylase* are also involved in the production of glucose syrups from corn starch that later with the participation of *glucose isomerase* gives as end product the fructose-rich syrups that the United States of America produced in 2016 the amount of 15 million tons.

The beer industry uses large amounts of *proteases* such as *papain* to clarify brewery products. Likewise, the juice industry, for example, juices made from apples use *pectinase* to clarify juices.

On the other hand, just as enzymes participate in processes that improve the quality and productivity of many foods, so also some participate by providing harmful effects on foods, for example in the oxidation of lipids, *lipases* are involved, which if not controlled in time to these enzymes we will obtain products with oxidized characteristics. In many processes some enzymes participate in darkening reactions such as in potatoes, some apple varieties and in many other vegetables, the enzymes involved in these processes are generally the *polyphenoloxidases* that

require their inactivation, otherwise the products will suffer enzymatic oxidations resulting in dark colors and at the same time affecting the flavor and nutritional value.

The inactivation of enzymes is usually done with heat. It is important to keep in mind that each enzyme has different heat resistance. For this reason it is important to study the kinetics of enzymatic inactivation, to obtain quality products.

A new method to destroy bacteria and inactivate enzymes very effectively is being applied by many industries and researchers have directed their research for application in various food presentations. It is the use of ozone as a disinfectant of raw materials. The advantage of using ozone is that once added to the food in a recommended dose, it is converted into oxygen as the final product. This method of preservation is very promising because of its low cost, does not leave toxic residues, does not require heating of the product and therefore does not alter the organoleptic characteristics of the product.

## I. INTRODUCCIÓN

“El consumo de frutas tropicales y sus productos, tales como jugos, néctares, pulpas y purés ha crecido sin precedentes en las últimas décadas. Esto se debe al incremento de estos alimentos en la alimentación de los consumidores gracias a su contribución nutricional y otros beneficios en la salud. Las frutas tropicales poseen una variedad de sabores y colores atractivos al consumidor además de ser fuente de energía, vitaminas, minerales y fibra dietética”. (Somogyi *et. al.*, 1996<sup>a</sup>).

“Independientemente de su abundancia y excelentes atributos sensoriales, las frutas tropicales son relativamente baratas como frutas frescas en los países productores y tienen poca venta como productos de exportación dada su pobre estabilidad durante el transporte y almacenamiento”. (Argaiz y López Malo, 1995).

“En contraste la transformación en jugos, néctares, pulpas o purés de frutas pasteurizadas, tienen gran demanda en los países desarrollados. Uno de los procesos de transformación de frutas en productos de mayor estabilidad más común es la pasteurización de jugos, néctares y pulpas. El propósito de los tratamientos térmicos es alargar la vida de anaquel del alimento para asegurar una fuente alimenticia nutritiva y agradable” (Argaiz y López-Malo 1995).

“Sin embargo, los tratamientos térmicos de pasteurización causan en muchos de los productos de frutas tropicales cambios importantes en sus atributos sensoriales, incluyendo pérdidas de sabor, color y olor y desarrollan sabor a cocido durante el tratamiento térmico al cual son sometidos de manera tradicional para garantizar su estabilidad microbiológica”. (Argaiz y López- Malo 1996).

“Una de las demandas más importantes de los consumidores en este siglo 21 es la imagen fresca y natural de los productos. Es por eso que este trabajo se enfoca en la determinación de tratamientos térmicos óptimos para productos vegetales” (Sloan 2001).

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1. OBJETIVO GENERAL**

- Optimizar los procesos de pasterización en base a la dependencia en la temperatura de la inactivación enzimática y de la degradación de sabor y color en frutas tropicales.

### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Obtener, caracterizar y estandarizar los jugos de frutas tropicales
2. Determinar la cinética de degradación de sabor en jugos de frutas tropicales.
3. Determinar la cinética de inactivación de la enzima pectinesterasa durante la aplicación de procesos de pasterización en función de la temperatura.
4. Determinar los tiempos de inactivación térmica (TIT) de la enzima pectinesterasa en jugos de frutas tropicales.
5. Establecer la cinética de inactivación enzimática y degradación del color de alimentos.

## **III. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA**

### **3.1. Principales enzimas responsables de cambios de color en vegetales**

“Las enzimas son proteínas que forman parte de las células de todos los seres vivos. Debido a que son capaces de acelerar la velocidad de reacciones químicas es que se les considera catalizadores biológicos y son esenciales para que la célula esté metabólicamente activa. Sin ellas, muchas de las reacciones químicas dentro de la célula serían muy lentas, tanto, que no serían compatibles con la vida” (Voet, *et al.*, 2013).

“Estas proteínas se clasifican de acuerdo con las reacciones que catalizan en: oxidoreductasas (aceleran reacciones de óxido-reducción), transferasas (transfieren grupos químicos entre moléculas), hidrolasas (rompen o sintetizan enlaces covalentes de las moléculas), liasas (rompen enlaces formando a su vez dobles ligaduras), isomerasas (catalizan un rearrreglo espacial de grupos químicos en la molécula sin modificar su composición química) y ligasas (promueven unión covalente de dos moléculas acopladas con la ruptura de un enlace pirofosfato como fuente de energía)”. (Peña y Quirasco, 2014).

“Las enzimas pueden estar relacionadas directamente con las reacciones metabólicas de las células que constituyen un alimento. Por ejemplo, el que un fruto madure depende directamente de un grupo de enzimas que se expresan diferencialmente de acuerdo con la etapa de maduración. Este es el caso de las pectinasas del jitomate, manzanas y peras, entre otras, que son responsables del ablandamiento que sufren los frutos al madurar” (Quirasco y López-Munguía, 2013).

“De igual forma, el proceso de germinación de una semilla depende de que ésta se hidrate y de que enzimas hidrolicen (degraden) el almidón –polisacárido de reserva–, haciendo disponible la glucosa que el embrión requiere para desarrollarse. En dicho proceso se basa la producción de malta dentro de la semilla de cebada (por acción concertada de las enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -amilasas), que posteriormente se utilizará para la producción de cerveza” (Mathewson, 1998). “Los ejemplos anteriores muestran actividades propias del metabolismo de las plantas que dan como resultado un alimento listo para consumir o un sustrato o materia prima (la malta) apropiado para ser transformado. Particularmente, en el caso de la cerveza y otras bebidas alcohólicas obtenidas a partir de un proceso fermentativo, existe además el efecto de la actividad metabólica de las levaduras –del género *Saccharomyces*– para la producción de etanol a partir de los azúcares del mosto” (Voet, 2013).

“Las enzimas también son utilizadas en la preparación de alimentos. ¿Cuántos de nosotros empleamos ablandadores de carne como práctica en la cocina? El ingrediente activo de esa preparación culinaria son enzimas proteolíticas o proteasas, las cuales son de origen vegetal y se llaman papaína y bromelina (Tabla 1). Las proteasas hidrolizan proteínas, como las que forman parte de los filamentos mus-

culares y el colágeno de la carne, con la subsecuente modificación de la textura del tejido muscular, haciéndolo más blando” (Guerrero, 1999).

“Las enzimas proteolíticas han sido utilizadas por el hombre desde tiempos antiguos. Una de las aplicaciones que datan de las épocas más remotas de la civilización humana es la utilización de enzimas para la producción de queso. La renina o quimosina es una proteasa que se obtiene del cuarto estómago de rumiantes aún no destetados, es una enzima cuya actividad es muy específica ya que hidroliza un solo enlace de la proteína más abundante en la leche, llamada k-caseína. Al romper este enlace, se forma un coágulo que conocemos como cuajada. Ésta se separa del suero, se sala y se prensa, con lo que se obtiene el queso fresco que es altamente consumido en nuestro país” (Quirasco y López-Munguía, 2013).

Marilley y Casey sostienen que:

Si hablamos de quesos madurados, para su elaboración intervienen lipasas y proteasas extracelulares que producen, por ejemplo, hongos como *Penicillium camemberti* o *Penicillium roqueforti*, con lo que se obtienen los quesos camembert y roquefort, respectivamente. Las lipasas hidrolizan la grasa contenida en la leche de manera gradual, con la generación de compuestos de aroma y sabor como el ácido butírico, los cuales, a su vez, pueden ser transformados químicamente a otras moléculas llamadas aldehídos y cetonas que también aportan aromas característicos de los quesos. Por su parte, las proteasas hidrolizan parcialmente a las proteínas de la leche, con lo que se produce un cambio de textura en el producto, haciéndolo más suave. En algunos quesos fuertes, como el roquefort, es posible percibir un aroma a amoníaco, el que se produce por una posterior descomposición de los aminoácidos que se obtuvieron por la hidrólisis de las proteínas. (2004).

“Las enzimas están constituidas por proteínas globulares” (Fennema, 1993) “y la mayoría de ellas está compuesta por más de 100 aminoácidos” (Hicks, 2000). “Aceleran la velocidad de las reacciones químicas respecto de las reacciones no catalizadas” (Fennema, 1993), “dado que disminuyen la energía de activación, facilitando el inicio de la reacción; es decir, son catalizadores que pueden ser

definidos como agentes que afectan la velocidad de una reacción química, sin participar como reactantes y sin aparecer en los productos finales de la reacción” (Hicks, 2000).

“Unas de las principales características de las enzimas es su alta especificidad, la gran mayoría tiene la capacidad de catalizar reacciones más o menos específicas, es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de compuesto que debe reunir ciertas características para que pueda ser utilizado como sustrato” (Badui, 1999).

Según Badui:

El sistema de nomenclatura utilizado actualmente para la identificación de enzimas es el de la Comisión de Enzima (EC), perteneciente a la Unión Internacional de Bioquímica (IUB), el cual consiste en una clasificación numérica que tiene la forma “EC i.j.k.l”, donde “i”, el primer dígito, indica a qué grupo pertenece con respecto al tipo de reacción catalizada: Oxidorreductasas, Transferasas, Hidrolasas, Liasas, Isomerasas y Ligasas. El segundo dígito “j”, corresponde a la subclase de enzima, que por ejemplo, en el caso de las hidrolasas, se refiere al tipo de enlace que hidroliza. El tercer dígito es una subdivisión y ofrece más información con respecto al sustrato que utiliza la enzima. Finalmente, el cuarto dígito indica específicamente la acción de la enzima en cuestión. (1999).

“La potencia o actividad de una enzima no puede medirse en términos de su concentración, puesto que puede estar presente, pero en forma desnaturalizada y sin funcionalidad; por esta razón se emplea la Unidad Internacional de Actividad Enzimática, que se define como la cantidad de enzima requerida para transformar en producto un micromol de sustrato por minuto, en las condiciones óptimas de pH y temperatura” (Badui, 1999).

Las enzimas producen cambios tanto en el sabor y color así como en el valor nutritivo en las frutas y verduras. Las enzimas son proteínas muchas de ellas globulares que catalizan reacciones químicas entre un sustrato y el oxígeno. “Las oxidoreductasas están involucradas en las reacciones oxidativas en alimentos, como



son el oscurecimiento de frutas, la oxidación de ácidos grasos de origen animal o la degradación de vitaminas” (Peña y Quirasco, 2006).

La polifenoloxidasas es la responsable del oscurecimiento de los tubérculos, se origina por el contacto de la enzima con sustratos fenólicos.

### **3.2. Factores que influyen en la actividad enzimática.**

Según Fennema:

La importancia de las enzimas para la ciencia de los alimentos está, con frecuencia, determinada por las condiciones que prevalecen en el interior y el exterior del producto. Para regular la actividad enzimática durante la conservación y el procesamiento, es necesario controlar tales condiciones. Los principales factores que afectan la actividad enzimática son: temperatura, pH, actividad de agua, electrolitos y fuerzas iónicas, fuerzas de cizalladura y presión. La acción de estos factores produce la desnaturalización de la enzima, lo que se traduce en una pérdida de actividad. (1993).

“Cuando el efecto del agente desnaturalizante no es muy intenso, se puede recuperar nuevamente su actividad al adquirir otra vez su estructura tridimensional de origen, regenerándose el sitio activo” (Badui, 1999).

### **3.3. Efectos de la temperatura sobre la desnaturalización e inactivación de las enzimas.**

Según Fennema:

Las enzimas operan muy lentamente a temperaturas de congelación y su actividad aumenta cuando incrementa la temperatura. La mayor parte de las enzimas presentan su actividad (actividad óptima) en el rango 30 - 40 °C y, por encima de 45 °C, comienzan a desnaturalizarse. Tienden también a tener una temperatura de resistencia máxima a la

desnaturalización, por lo general claramente por debajo de la de máxima actividad. (1993).

Hicks sostiene que:

Dado que la estructura proteica determina la actividad de una enzima, cualquier factor que modifique su configuración afectará su función. El proceso de desnaturalización proteica debida a un incremento en la temperatura conducirá a una modificación de la actividad. Las enzimas presentan una marcada fragilidad térmica, ya que por el calentamiento a temperaturas cercanas a los 50 °C tienen una pérdida de la estructura terciaria y, como consecuencia de la configuración de la proteína, se alteran los sitios isostérico y alostérico. Las enzimas sometidas a desnaturalización por altas temperaturas pierden su capacidad catalítica de manera irreversible debido a que las fuerzas débiles de unión se rompen al aumentar la vibración térmica, lo cual afecta la estructura terciaria. (2000).

### **3.4. Inactivación enzimática**

Uno de los métodos del control enzimático es el escaldado que consiste en calentar los alimentos con vapor directo o indirecto utilizando el baño maría a temperaturas que oscilan entre 40 a 90 °C. Inicialmente la reacción enzimática es favorecida por el incremento de temperatura hasta alcanzar su temperatura óptima, cuando la temperatura continúa ascendiendo la actividad enzimática comienza a descender bruscamente provocado por desnaturalización de su estructura proteica ocasionado por el calor. Por ejemplo en el escaldado de la papa se busca la inactivación de las enzimas que puedan ser perjudiciales en la calidad del producto final como la enzima polifenoloxidasas que es la responsable del pardeamiento en los tubérculos procesados. “Esta reacción se genera cuando la enzima contenida en los cloroplastos contacta con el oxígeno y los sustratos fenólicos contenidos principalmente en la corteza y en los tejidos en donde la concentración disminuye desde la corteza hacia el centro” (Limbo y Piergiovanni. 2006).

El contacto se lleva a cabo cuando las frutas sufren golpes durante la cosecha y transporte o cuando se exponen a cortes, es en ese instante que se produce la liberación de las enzimas para reaccionar con los sustratos fenólicos y el oxígeno circundantes.

Según Limbo y Piergiovanni:

El escaldado se define como un tratamiento térmico cuyo fin es la estimulación (activación y/o inactivación) de las enzimas presentes en el tejido de las plantas. La actividad enzimática aparente se incrementa cuando aumenta la temperatura hasta alrededor de 50°C, donde alcanza un nivel máximo conocido como la temperatura óptima para la acción enzimática. A temperaturas más altas se observa una considerable disminución en la actividad debido a la desnaturalización de su estructura proteínica. En el escaldado de la papa se busca la inactivación de las enzimas que puedan ser perjudiciales en la calidad del producto final como la enzima polifenoloxidasa que es la responsable del pardeamiento en los tubérculos procesados. Esta reacción se genera cuando la enzima contenida en los cloroplastos entra en contacto con el oxígeno y los sustratos fenólicos contenidos principalmente en la corteza (alrededor del 50%) y en los tejidos en donde la concentración disminuye desde la corteza hacia el centro. El contacto se genera mediante ruptura de las membranas celulares y los organelos que contienen la enzima debido a procedimientos de poscosecha deficientes como golpes, sometimiento del tubérculo a esfuerzos y a etapas del proceso como pelado, cortado o troceado, escaldado y cocción, entre otros. (2006).

La detección de la actividad peroxidasa es sumamente sencilla cuando se compara con otras enzimas que requieren reactivos adicionales. Por esta razón es que se considera a la peroxidasa como indicativo de la efectividad de los tratamientos térmicos. “Se acepta una disminución en su actividad superior al 90% como control para un escaldado adecuado” (Polata *et al.*, 2009). La función primordial de esta enzima en los seres vivos es que controla la proliferación de los radicales libres, es decir actúa controlando los niveles de peróxidos que se producen en casi todos los

seres vivos. “Existe la hipótesis de que la enzima peroxidasa se desactiva siguiendo dos etapas gobernadas por el mecanismo Lumry-Eyring” (Polata *et al* 2009).

Para definir la hipótesis, Polata *et al*, define estas dos formas de la siguiente manera:

La enzima tiene dos isoformas con distintas estabilidades térmicas, la relación entre la isoforma termolábil con la isoforma termoestable es de 30:70, sin embargo los mecanismos de desactivación son distintos dependiendo del material vegetal, en papas la pérdida de actividad de la isoforma estable de la enzima peroxidasa consta de dos fases, una transformación reversible en el primer paso que es muy rápida, seguida por una transformación lenta e irreversible de un intermediario. (2009).

“Otro efecto de los procesos de escaldado es el cambio de textura que sufre el tubérculo debido principalmente a gelatinización de almidones y solubilización de sustancias pépticas, lo que produce pérdida de firmeza en el tejido” (Abu-Ghannam y Vrowley. 2006). En las papas el calor aplicado conduce al rompimiento de la piel debido a dilatación del producto por efecto térmico.

“El proceso de escaldado generalmente se hace a temperaturas que oscilan entre 80°C y 100°C y tiempos entre 20 s y 15 min, sin embargo, se han reportado tratamientos entre 55°C y 75°C en los que se obtienen productos con alta firmeza debido a la menor separación celular que se genera; adicionalmente, se ha propuesto que la enzima metil-pectin-esterasa juega un rol importante en este fenómeno debido a que posibilita la formación de redes con iones calcio y magnesio” (Abu-Ghannam y Vrowley, 2006), (Liu y Scanlon, 2007). “Generalmente, el cambio de textura en vegetales sometidos a escaldado sigue una cinética de primer orden” (Nisha y Pandit. 2006, Troncoso y Pedreschi, 2007).

“El proceso térmico es uno de los métodos más usados para asegurar la preservación de los alimentos y la seguridad, aún cuando es comparado con recientes avances de otras técnicas” (Ghani *et al.*, 1999; Ghani *et al.*, 2001; Farid y Ghani, 2004).

“La demanda creciente para alimentos seguros con alta calidad nutricional y sensorial crea la necesidad de incrementar el conocimiento del proceso involucrado en la producción de alimentos. El empleo de modelos alimenticios para el estudio de procesos térmicos fiables, conducción simple, costo efectivo y experimentos continuos sin cambios significativos en los productos” (Berto et al., 2003). “Sin embargo, el principal beneficio de usar modelos alimenticios es mejorar experimentalmente la reproducibilidad por diversos grupos de investigadores, minimizando los efectos de la inherente variación en la característica de los alimentos. Sin embargo, aunque existen algunos estudios relacionado al crecimiento microbiano en modelos alimenticios, existe limitada información en la literatura sobre caracterización de modelos de sistemas alimenticios asociados con cinética de inactivación de microorganismos, a menudo resultan en la no homogeneidad en la conducción de estudios de transferencia de calor. Debido a la resistencia a la pasteurización, bajo pH y capacidad para producir sabores de *Alicyclobacillus* spp. Es a menudo mencionado por los investigadores como un agente de deterioro y como un importante patrón en el control de calidad de bebidas ácidas tales como jugos de frutas” (Splittstoesser, et al., 1994; McIntyre, 1995; Yamazaki et al., 1996; Baumgart, 1997; Walls y Chuyate, 1998; Splittstoesser, 1998).

“El empleo de esporas de *Alicyclobacillus acidoterrestris* en estudios sobre procesos térmicos es interesante debido a su resistencia térmica e incidencia que facilita el empleo de tales esporas como blancos modelos en procesos térmicos para productos a base de frutas” (Eiroa et al., 1999; Silva y Gibbs, 2001).

### **3.5. Cinética de destrucción microbiana, inactivación enzimática y de degradación de factores de calidad**

Según Ohlsson:

Los cambios en la calidad sensorial y nutricional son ocasionados por reacciones químicas en los alimentos que tienen una dependencia con la temperatura, al igual que la inactivación de sistemas biológicos como

enzimas y microorganismos que también son dependientes de la temperatura. El valor de Z corresponde a la temperatura necesaria para producir un cambio en relación a una reacción química o una inactivación biológica. (1980).

El crecimiento microbiano exhibe un comportamiento logarítmico, del mismo modo, la destrucción de bacterias y los factores de calidad se destruyen de forma logarítmica cuando son expuestos al calor durante determinados tiempos. “La proporción de muerte permite comparar la resistencia al calor de diferentes especies de microorganismos a una misma temperatura o la resistencia de una especie a diferentes temperaturas. Así también se debe conocer la dependencia en temperatura para determinar el efecto de destrucción (inactivación o degradación) a través de un perfil de temperaturas que depende principalmente del tiempo de subida (CUT) necesario para alcanzar la temperatura de procesado” (Somogyi *et al.*, 1996<sup>a</sup>).

El pH de los alimentos determina el tipo de tratamiento térmico al cual serán sometidos los alimentos, al respecto Rahman sostiene:

El pH del producto determina la severidad del tratamiento térmico. En alimentos considerados de baja acidez (pH mayor a 4.5), se desea la destrucción de bacterias patógenas, en cambio en alimentos ácidos (pH menor a 4.5) se desea la destrucción de microorganismos deteriorativos y la inactivación de enzimas. La mayoría de frutas tienen valores de pH cercanos a 4.5 por lo que son susceptibles a ser atacados por microorganismos deteriorativos como mohos, levaduras y bacterias ácido lácticas. También contienen ciertas enzimas como catalasa, peroxidasa, polifenoloxidasas o pectinesterasa, las cuales presentan una elevada termo resistencia principalmente la peroxidasa. (1999).

“La destrucción de microorganismos e inactivación de enzimas siguen en general una cinética de reacción de primer orden” (Jay, 2000).

### **3.6. Tiempo de inactivación térmica y valor D**

La destrucción térmica de microorganismos se realiza a diferentes temperaturas es decir cada microorganismo presenta diferente resistencia frente al calor de tal manera que para evaluar y obtener los parámetros del tratamiento térmico se utilizan los valores D, Z y F. “El valor D o tiempo de reducción decimal es el tiempo requerido a una temperatura constante para destruir el 90% de las enzimas, esporas o células vegetativas de un organismo dado” (Somogyi *et al.*, 1996<sup>a</sup>). “Graficando el ( $\log N/N_0$ ) contra el tiempo se obtiene una línea recta cuya pendiente es  $1/D$ ” (Lwiss y Heppell, 2000).

### **3.7. Dependencia de la temperatura y valor z**

“El valor z es el intervalo necesario de temperatura para atravesar un ciclo logarítmico en la curva de destrucción térmica. Este valor se obtiene del recíproco de la pendiente de la gráfica del logaritmo de los valores D contra las temperaturas a las que fueron obtenidos. La ecuación de Arrhenius se emplea para relacionar la dependencia de la temperatura en la cinética enzimática” (Somogyi *et al.*, 1996<sup>a</sup>)

### **3.8. Penetración de calor**

La conducción de calor cuando se realiza tratamiento térmico puede ocurrir por convección o conducción.

“La penetración de calor por el mecanismo de conducción es lenta y el producto que se encuentra junto a las paredes se calienta primero y sufre la acción degradante del calor si no se procesa en condiciones adecuadas y selectivas. En cambio, la transmisión de calor en la convección es mucho más rápida, por lo que la degradación que sufre el alimento es mucho menor. Además de la consistencia y naturaleza del alimento, es importante considerar la geometría y tipo de material del envase, el grosor de las paredes y la temperatura inicial del alimento, ya que afectan la velocidad de transferencia de calor” (Rodrigo *et al.*, 1980<sup>a</sup>).

### **3.9. Curvas de penetración de calor**

“Es necesario contar con una historia de temperatura del producto y de las características de termo resistencia del parámetro evaluado ( $z$  y  $F_0$ ) en el establecimiento de un esquema del tratamiento térmico. El registro de las temperaturas durante el procesamiento térmico permite la elaboración de las curvas de penetración del calor en el producto. La historia de temperatura del producto durante el proceso depende de ciertos factores como el proceso de calentamiento, el medio de calentamiento, las condiciones de calentamiento, el tipo de producto y el tipo de empaque” (Somogyi et al., 1996<sup>a</sup>)

“Existen dos tipos de métodos para el cálculo de procesos: método general basado en datos de tiempo- temperatura durante el procesamiento térmico que se usan para obtener los efectos de letalidad y el método fórmula, el cual emplea los datos de penetración de calor obtenidos de datos experimentales de tiempo-temperatura” (Somogyi et al., 1996<sup>a</sup>).

### **3.10. Método general: cálculo de procesos de pasterización**

“Consiste en un procedimiento gráfico de integración de los efectos letales de varias combinaciones tiempo-temperatura en el alimento enlatado durante su proceso térmico, este método fue descrito por Bigelow et al.”(1920<sup>b</sup>)

### **3.11. Método de la fórmula**

Es un método matemático para evaluar la letalidad de los tratamientos térmicos desarrollado por Ball:

Se pueden obtener los datos de penetración de calor y los factores como ventaja sobre el método anterior y así se pueden aplicar a procesos semejantes del mismo producto, incluso bajo condiciones diferentes de procesamiento.



Además, este método considera el tiempo de subida a la temperatura deseada (CUT). Se puede considerar que el 40% del tiempo total del CUT es el que tiene efecto letal. (1923).

### **3.12. Letalidad**

Según Stumbo:

En el método general, el tiempo está representado por las abscisas y el valor de letalidad en las ordenadas, cada uno corresponde a sus tiempos. El área bajo la curva se expresa en unidades de letalidad. Para calcular el tiempo de proceso necesario para una unidad de letalidad, la parte de enfriamiento de cualquier curva de letalidad se desplaza de derecha a izquierda hasta obtener un área equivalente a uno. Una vez que la curva ha sido ajustada, el tiempo necesario para lograr la esterilización se considera como el tiempo representado por la intersección de la curva de enfriamiento y el eje X es un procedimiento de prueba y error. (1973).

“Los tiempos de calentamiento a otras temperaturas ( $F_T$ ) se pueden convertir a minutos equivalentes ( $F_0$ ) a la temperatura de referencia a través de la siguiente expresión:  $F_0 = F_T 10^{(T-T_0)/z}$ . Esta ecuación se conoce como la primera ley de destrucción térmica de microorganismos, factores de calidad o de inactivación enzimática” (Somogyi *et al.*, 1996<sup>a</sup>).

### **3.13. Efecto del tratamiento térmico en enzimas**

“Las enzimas presentes en alimentos son capaces de degradar el color, aroma, textura y sabor produciendo el deterioro de éstos. La resistencia de enzimas al calor varía dependiendo de características de la fruta como tipo, pH, contenido de sólidos solubles” (Somogyi *et al.*, 1996<sup>a</sup>).

Según Anthon *et al*:

Se puede predecir los cambios de calidad durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos por medio del conocimiento de las cinéticas de inactivación de las enzimas importantes. Se necesitan dos parámetros para caracterizar la estabilidad térmica de una enzima, la velocidad de inactivación a una temperatura específica expresada como valor D y conocer la variabilidad en la velocidad a diferentes temperaturas, como energías de activación o valor Z. (2002<sup>b</sup>).

Harris y Karmas sostienen que:

En general, la velocidad de destrucción enzimática es mayor a temperaturas bajas que la de los microorganismos, en cambio a temperaturas altas se invierten los términos destruyéndose más rápido los microorganismos que las enzimas. Para un determinado producto, hay siempre una temperatura de referencia en las que se igualan las velocidades de destrucción. (1975).

### **3.14. Efecto del tratamiento térmico en la degradación de atributos sensoriales**

Los cambios físicos y químicos son los principales sucesos ocurridos durante el tratamiento térmico. Los cambios más importantes son los cambios de textura, sabor, olor, color y en el contenido nutricional.

De acuerdo con Lewis y Heppel:

Estos cambios debidos a tratamientos de pasteurización son cambios en sabor debidos a desarrollo de sabor a cocido y con consecuencia de desarrollo de sabores/olores oxidados, cambios texturales, tales como sedimentación, espesamiento o gelatinización, cambios en el contenido de nutrientes, debido a la pérdida de vitaminas y minerales y cambios en color. (2000).

“El uso de las tecnologías convencionales, como el tratamiento térmico para la inactivación microbiana y la extensión de la vida útil ha resultado muy eficaz,

sin embargo estas tecnologías resultan en la degradación acelerada de la calidad sensorial, nutritiva, y funcional de los productos alimenticios. Los avances tecnológicos más recientes han permitido la aplicación de tratamientos menos drásticos a los alimentos con la promesa de obtener productos seguros y de buena calidad. Estas tecnologías se denominan tecnologías de procesamiento mínimo, y los productos alimenticios obtenidos por sus aplicaciones se conocen como alimentos mínimamente procesados” (Ngadi y col., 2012). “El objetivo de estos métodos incluye procedimientos que causen los mínimos cambios posibles en la matriz del alimento. Estas tecnologías han sido diseñadas para obtener alimentos naturales, simil frescos, con un mínimo deterioro en el color, la textura, el flavor y el contenido de nutrientes. Al mismo tiempo estas tecnologías deben proveer alimentos con la suficiente vida útil para ser transportados desde su lugar de producción hasta el consumidor” (Alzamora y col., 2000; Ngadi y col., 2012). “Entre las tecnologías emergentes encontramos: alta presión, campos de pulsos eléctricos, radiación ionizante, luz pulsada de alta intensidad, luz ultravioleta (UV-C), ultrasonido de alta intensidad, ozono, antimicrobianos naturales, etc. En el caso de los jugos, tradicionalmente se pasteurizan y aunque se trata de un tratamiento corto, normalmente a este método convencional se lo asocia con la pérdida de las propiedades nutritivas y organolépticas. Los productores de jugo de frutas han encontrado en las tecnologías de procesamiento mínimo una alternativa para producir jugos mínimamente procesados con leves cambios en la calidad de los mismos” (Cullen y col., 2010; Franz y col., 2009; Patil y col., 2010a, b).

### **3.15. Ozono**

“El ozono ( $O_3$ ) resulta de la reordenación de los átomos de oxígeno cuando sus moléculas son sometidos a descarga eléctrica de alto voltaje, la reacción de los radicales libres de oxígeno diatómico con el oxígeno dan lugar a la formación de moléculas de oxígeno triatómicas. El gas obtenido (ozono) posee un olor acre o picante asociado al olor del aire fresco después de una tormenta, es de color azulado a temperaturas ordinarias y tienen fuertes propiedades oxidantes” (Patil y Bourke, 2012; Zeynep y col., 2003). “Aunque en bajas concentraciones

el ozono no es un gas extremadamente tóxico, las altas concentraciones de este gas pueden ser fatales para los humanos. En los EE.UU., la Administración Federal de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) especificó límites de exposición al ozono con un umbral de 0,1 ppm para la exposición continua durante un período de 8 horas y de 0,3 ppm durante un período de 15 minutos” (Karaca y Velioglu, 2007; Zeynep y col., 2003). “El ozono se caracteriza por su alto potencial de oxidación que transmite propiedades bactericidas y viricidas. Es un potente agente antimicrobiano de amplio espectro activo frente a bacterias, hongos, virus, protozoos, y esporas bacterianas y fúngicas. Como desinfectante es más eficaz y rápido que el cloro, reacciona con muchos materiales orgánicos y produce menos productos de descomposición” (Cullen y col., 2010). “El ozono, es parcialmente soluble en agua, relativamente estable en el aire, pero muy inestable en agua, se descompone en un tiempo muy corto, consecuentemente no se puede almacenar y se debe generar continuamente. El ozono a temperatura de 20 °C tiene una vida media de 20 minutos y este tiempo aumenta conforme disminuye la temperatura. El único producto de ozono que se genera cuando se descompone es oxígeno, por lo tanto, los productos alimenticios tratados con ozono no dejan residuos en los alimentos. Estas ventajas hacen del ozono una tecnología de procesamiento atractiva para la industria alimentaria” (Karaca y Velioglu, 2007; Cullen y col., 2010). 2.3.2.1.

### **3.16. Generación de Ozono**

“En la naturaleza, la generación de ozono se produce cuando las moléculas de oxígeno reaccionan en presencia de descargas eléctricas y por la acción de la radiación electromagnética de alta energía. Existen varios métodos para la generación de ozono entre ellos tenemos: de descarga eléctrica (arcos eléctricos de alta tensión), fotoquímicos (radiación UV), métodos químicos, térmicos, y métodos electrolíticos” (Patil y Bourke, 2012).

### **3.17. Factores que influyen en la eficacia del tratamiento con ozono**

“Hay diferentes parámetros que afectan la eficacia de desinfección del tratamiento con ozono, así tenemos los parámetros extrínsecos: velocidad de flujo, concentración de ozono y temperatura, que afectan a la difusión y la solubilidad del ozono en los medios de desinfección; parámetros intrínsecos: pH y la matriz orgánica que afectan a la reactividad del ozono” (Patil y Bourke, 2012). “La eficiencia del ozono en la inactivación microbiana o la eliminación de residuos dependen en gran medida de factores medioambientales. Un aumento en la temperatura del medio acuoso resulta en la disminución de la solubilidad del ozono, y por lo tanto, disminuye su eficiencia. La descomposición de ozono también se acelera con el incremento de temperatura. La estabilidad y la eficiencia del ozono se incrementan al disminuir el pH. El incremento de la humedad es otro factor que refuerza la eficacia del ozono” (Karaca y Velioglu, 2007). “Además de los factores mencionados anteriormente, la eficiencia del ozono se ve afectada por otro factor llamado “demanda de ozono del medio”. El ozono es una molécula muy reactiva y reacciona con casi todos los compuestos orgánicos e inorgánicos” (Karaca y Velioglu, 2007). “El término “ozono residual” es usado para una concentración detectable en el medio de tratamiento, después que el ozono se ha aplicado a un producto alimenticio específico. La efectividad del ozono (para la inactivación microbiana o degradación de residuos) depende de la cantidad aplicada, pero más del ozono residual en el medio. La estabilidad de ozono bajo condiciones de uso y la presencia de sustancias que demandan ozono en el medio de tratamiento afectan en gran medida el nivel de ozono residual” (Kim y col., 2003). “El ozono aplicado en sistemas alimenticios, alimentos ricos en materia orgánica, reacciona con todos los compuestos y por ende la cantidad de ozono requerida (para la inactivación microbiana o degradación de residuos) es mayor” (Karaca y Velioglu, 2007).

### 3.18. Efecto del ozono sobre los microorganismos

“Los efectos bactericidas del ozono han sido estudiados para una variedad de organismos, incluyendo bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así como las esporas y células vegetativas. La eficacia antimicrobiana del ozono con respecto a los microorganismos relacionados con los alimentos ha sido estudiado para levaduras (*Candida albicans* y *Zygosaccharomyces bacilos*), esporas de *Aspergillus niger* y bacterias Gram positivas: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*. Gram negativas: *Pseudomonas aeruginosa* y *Yersinia enterocolitica*” (Zeynep y col., 2003).

El ozono es muy inestable tanto en fase gaseosa o en solución, descomponiéndose en radicales hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ), hidropéroxido ( $\bullet\text{HO}_2$ ) y superóxido ( $\bullet\text{O}_2^-$ ). La reactividad del ozono se atribuye al poder oxidante de los radicales libres, que son responsables de la inactivación microbiana. La inactivación por el ozono es un proceso complejo que actúa sobre diversos componentes de la membrana y pared celular (por ejemplo, las grasas no saturadas) junto con el contenido de los componentes celulares (por ejemplo, enzimas y ácidos nucleicos)” (Cullen y col., 2010). “Los microorganismos son inactivados por la ruptura de la envoltura celular o desintegración que conduce a la lisis celular. Tanto el ozono molecular y los radicales libres producidos por su descomposición juegan un papel en este mecanismo de inactivación, pero no hay consenso sobre sus mecanismos de acción. La disrupción o destrucción de células por lisis asociado con el ozono es un mecanismo de inactivación más rápida que la de otros desinfectantes que requieren que el agente desinfectante penetre a través de la membrana celular. En general, con respecto al espectro de la acción microbiana cada microorganismo tiene una sensibilidad inherente al ozono. Las bacterias son más sensibles que las levaduras y hongos. Las bacterias Gram positivas son más sensibles al ozono que los organismos Gram-negativos y las esporas son más resistentes que las células vegetativas” (Pascual y col., 2007).

### **3.19. Uso del ozono en la industria de alimentos**

“El ozono tiene numerosas aplicaciones potenciales en la industria alimentaria debido a sus ventajas significativas sobre los agentes antimicrobianos tradicionales tales como el cloro, sorbato de potasio, etc.” (Cullen y col., 2010). “El ozono como oxidante se utiliza en el tratamiento de agua natural, en el lavado y desinfección de frutas y verduras y en el procesamiento de jugos para la inactivación de microorganismos patógenos y de deterioro” (Cullen y col., 2009). “También se ha utilizado tratamientos con ozono en la carne, aves de corral, huevos y alimentos secos” (Karaca y Velioglu, 2007). “Los alimentos se tratan principalmente con ozono gaseoso o agua ozonizada. El tipo de tratamiento aplicado al producto depende del alimento (líquido o sólido) y del proceso (lavado o limpieza o si es aplicación directa). Estudios previos han demostrado que el ozono acuoso es más eficaz que el ozono gaseoso en la descontaminación de productos intactos, mientras que el ozono gaseoso presenta la ventaja como aditivo antimicrobiano directo en alimentos líquidos” (Cullen y col., 2010). “Aunque el ozono es altamente efectivo contra los microorganismos en suspensiones de células puras, es poco probable que se utilice directamente en los alimentos cuya demanda de ozono sea alta, ya que los componentes orgánicos de tales alimentos compiten con los microorganismos por el ozono, y por lo tanto, pueden ser necesarias altas dosis de este agente para la eliminación eficaz de los microorganismos. Estos altos niveles de ozono también pueden alterar los atributos sensoriales, y afectar negativamente la aceptabilidad de los alimentos” (Karaca y Velioglu, 2007). “En 1997 la United States Food and Drug Administration (FDA) reconoció al ozono como GRAS (Generally Recognized As Safe) para su utilización en contacto con alimentos. No obstante fue en 2001 cuando este organismo aprobó la normativa del uso de ozono como aditivo directo de alimentos, ello generó interés entre investigadores y en la industria de alimentos” (Tiwari y col., 2008b).

### **3.20. Uso del ozono en jugos de frutas**

“La ozonización u ozonación en jugos de frutas se encuentra aún en sus inicios. La aprobación del ozono como aditivo directo llevó a la aplicación de ozono en el procesamiento de varios jugos de frutas, incluyendo sidra de manzana” (Choi y Nielsen, 2005), “jugo de naranja” (Tiwari y col., 2008a, b), “jugo de mora” (Tiwari y col., 2009c), “jugo de fresa” (Tiwari y col., 2009d), entre otros. “En los Estados Unidos, la FDA emitió una norma definitiva que exige a los productores de jugos de frutas y vegetales la reducción de 5 ciclos log de los patógenos más resistentes (E. coli, Salmonella, Listeria monocytogenes)” (Patil y col., 2010a, b; Cullen y col., 2010). “Por lo general, los estudios sobre la absorción de ozono en sistemas acuosos se llevan a cabo en reactores de tanque agitado o columnas de burbujeo” (Cullen y col., 2009).

### **3.21. Efectos del ozono en la calidad de los alimentos líquidos**

“El ozono en algunos casos puede promover el deterioro oxidativo en los alimentos. La aplicación de ozono en dosis que conducen a una descontaminación eficaz de microorganismos puede afectar las cualidades sensoriales y nutricionales de los alimentos” (Patil y Bourke, 2012). “Números estudios se han realizado en jugos de frutas con tratamiento de ozono y en ellos se ha reportado una pérdida significativa de los pigmentos de color, y en consecuencia una pérdida de color del jugo” (Cullen y col., 2010). “El contenido de antocianinas disminuyó significativamente por efecto del ozono en jugos de frutilla, mora y uva. Una reducción significativa del 98,2 % en el contenido de pelargonidina-3-glucósido fue observada en jugo de frutilla tratado con una concentración de ozono del 7,8% (p/p) y 10 minutos de exposición” (Tiwari y col., 2009d). “En jugo de mora fue reportada una reducción mayor al 90% en el contenido de cianidina-3-glucósido en condiciones similares de tratamiento a la utilizada en jugo de frutilla” (Tiwari y col., 2009c). “En el caso del jugo de uva se observaron cambios significativos en el contenido de antocianinas” (Tiwari y col., 2009e). “La degradación de las antocianinas o el ácido ascórbico durante el tratamiento con ozono en jugos de frutas podría ser debido a una reacción



directa con el ozono, o a reacciones indirectas con oxidantes secundarios tales como hidroxilo  $\bullet\text{OH}$ ,  $\bullet\text{HO}_2$ ,  $\bullet\text{O}_2$  - y  $\bullet\text{O}_3$ ” (Tiwari y col., 2009 a).

“Sin embargo, es bien sabido que la matriz de un alimento presenta un comportamiento distinto a la matriz de otro alimento y el comportamiento de los valores PNE puede ser distinto en otros jugos. En la sidra de manzana se observó importantes cambios en los  $^{\circ}\text{Brix}$  luego de 21 días de almacenamiento, y a pesar de no haber observado cambios significativos en los valores de turbidez luego del tratamiento de ozonización; a los 21 días de almacenamiento observaron una importante sedimentación (Choi y Nielsen, 2005). La turbidez de los jugos cítricos es una suspensión coloidal de orgánulos celulares, membranas, fragmentos de pared celular, gotitas de aceite, cromatóforos, cristales de flavonoides y biopolímeros tales como pectina, celulosa, hemicelulosa y proteína. Un aspecto turbio se considera una característica deseable en jugos cítricos ya que no proporciona sólo la turbidez y color en los jugos, sino también sabor y aroma” (Carbonell y col., 2005). “En comparación con otras alternativas químicas, el ozono tiene importantes ventajas: (1) es uno de los agentes oxidantes más activos y fuerte; (2) se descompone rápidamente en oxígeno sin dejar trazas; (3) no produce compuestos tóxicos halogenados; (4) su acción es muy rápida, y (5) es eficaz contra una amplia gama de microorganismos. Sin embargo, la eficacia del ozono en la inactivación microbiana depende del tipo de microorganismo, tipo de producto, la cantidad y tipo de materia orgánica, temperatura, pH, concentración de ozono, su estado físico (líquido o gaseoso), y tiempo de contacto. La optimización de las condiciones de procesamiento de ozono debe ser evaluada para cada producto en particular. Sólo un equilibrio entre la seguridad y la calidad puede llevar a resultados favorables. Por lo tanto, los estudios sobre el efecto de tratamiento con ozono en los distintos productos es necesario con el fin de lograr productos seguros (desde una perspectiva microbiológica) y con características de alta calidad” (Miller y col., 2013).

### **3.22. Enzimas de importancia en la calidad de jugos**

“Los jugos de frutas son susceptibles al deterioro microbiano y la actividad enzimática, lo cual limita su vida útil” (Bayındırlı y col., 2004). “La peroxidasa (POD) y polifenoloxidasa (PPO) están involucradas con frecuencia en múltiples cambios de deterioro, tales como pardeamiento enzimático y en consecuencia la pérdida de las propiedades sensoriales y nutricionales de las frutas, verduras y subproductos (jugos, purés, etc.). Otro grupo de enzimas han sido relacionadas con la degradación de antocianinas en jugos, en este grupo se incluyen la peroxidasa (POD), polifenoloxidasa (PPO) y las  $\beta$ -glucosidasas” (Patil y Bourke, 2012; Vidal y col., 2012). “Cuando la integridad del tejido se daña, las enzimas como la PPO y POD, degradan a los compuestos fenólicos, transformando a los sustratos incoloros en pigmentos pardos a través del oscurecimiento enzimático. Aunque las antocianinas no reaccionan fácilmente con la PPO, la enzima POD si las afecta por la ruptura del anillo heterocíclico al degradarse rápidamente cuando existe catecol, ya que este al convertirse en o-quinona oxida estos pigmentos. La degradación enzimática de antocianinas por la  $\beta$ -glucosidasa se debe principalmente a la pérdida de la fracción glicosídica en la posición 3 que conduce a la formación de aglicona (antocianidinas), afectando en consecuencia el color del jugo” (Badui, 2006; Patil y Bourke, 2012). “Otro de los principales problemas en la industria de jugo de fruta es el mantenimiento de la turbidez de los jugos. Como lo nombramos en los párrafos anteriores la turbidez de los jugos de frutas se produce principalmente por las partículas suspendidas en forma coloidal, que se mantienen por las moléculas de pectina. La disminución de la estabilidad de la turbidez se da principalmente por la desesterificación de la pectina por parte de la pectinmetilesterasa (PME)” (Van den Broeck y col. 2000; Cullen y col., 2010).

### **3.23. Polifenoloxidasas (PPO) (E.C. 1.14.18.1)**

“La PPO abunda en frutas como la manzana, el durazno, el plátano, la pera, la fresa y otras, pero no en productos muy ácidos como la lima, la toronja, el melón y el limón. Los sustratos más comunes para la PPO son compuestos insaturados, principalmente los que tienen estructuras de monofenoles o de o-difenoles, entre los que se destaca la tirosina, flavonoides, taninos, antocianinas, ácido clorogénico, entre otros. Los productos finales de las reacciones enzimáticas que desencadena la PPO son macromoléculas con estructuras químicas muy complejas (melaninas), resultado de la copolimerización de diversos compuestos (quinonas); dependiendo de la intensidad de esta transformación, las melaninas varían su color desde amarillo hasta café oscuro” (Badui, 2006). “El pardeamiento enzimático y la pérdida de color por acción de la PPO es uno de los mayores problemas que se enfrentan durante el procesamiento de frutas y verduras. Se inicia con la oxidación enzimática de los fenoles a difenoles, y en un segundo paso, la oxidación de orto-di-fenoles a orto-quinonas en presencia de oxígeno. Las orto-quinonas así formadas pueden polimerizarse fácilmente y producir las correspondientes melaninas” (Bayındırlı y col., 2004, Zhao y col., 2010, Badui, 2006; Pankaj y col., 2013). “La PPO contiene cobre y no es una enzima muy estable al calor, y la exposición corta a temperaturas entre 70 y 90 °C es suficiente para inactivarla” (O’Donnell y col., 2010, Tiwari y col. 2009a).

### **3.24. Peroxidasas (POD) (E.C. 1.11.1.7)**

“La enzima POD es parte de un gran grupo de enzimas conocidas colectivamente como oxidorreductasas. La POD cataliza la oxidación de una amplia gama de sustancias naturales presentes en los alimentos vegetales, especialmente aquellos que contienen grupos aromáticos. La peroxidasa es una enzima que cataliza la oxidación de ciertos compuestos dadores de hidrógeno, como fenoles y aminas aromáticas, por medio de peróxidos (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). El peróxido de hidrógeno es con frecuencia el agente oxidante, aunque, en algunos casos, el oxígeno puede también activar la enzima. La POD contribuye

a los cambios de deterioro en el sabor, la textura, el color y calidad nutricional en frutas y verduras procesadas, también conduce al desarrollo de pigmentos de pardeamiento y ha sido involucrada principalmente en reacciones que desarrollan mal sabor en jugos de naranja. La POD es una enzima que se utiliza para evaluar la eficiencia del escaldado en vegetales debido a su alta estabilidad térmica” (Bayındırlı y col., 2004; Elez-Martínez y col., 2006; Pankaj y col., 2013; Tiwari y col. 2009 a).

### **3.25. Pectinmetilesterasa (PME) (EC. 3.1.1.11)**

“Las frutas constituyen un grupo de alimentos necesarios para la salud y bienestar, sus derivados como son los jugos, se han convertido en un componente básico en cualquier dieta sana y equilibrada” (Vila, 2006).

Según García et al:

Existe la posibilidad de generar un mercado a nivel internacional debido a su carácter exótico-nutricional y al cambio en los hábitos alimenticios de la población, además esta fruta posee características tanto fisicoquímicas como organolépticas que permiten obtener diversos productos transformados, como son el contenido en pulpa (70%), los sólidos solubles (14%), el pH alrededor de 3.4 y su color, aroma y sabor son parámetros que, favorecen su aprovechamiento industrial. (2008).

“Un problema común asociado a los jugos de fruta es la pérdida de turbidez, consistencia, separación de fases, decoloración y gelificación, provocada por enzimas pécticas, particularmente la enzima pectinmetilesterasa (PME)”, (Basak et al., 1996; Carbonell et al., 2006).

“La PME (EC 3.1.1.11) se presenta de forma natural en plantas, ataca los grupos carboxilo de la pectina presente en la pared celular de los frutos, Hidroliza los enlaces éster de la pectina presente en los jugos de fruta provocando la pérdida de turbidez que es atribuida a la suspensión de partículas como proteínas, pectinas, lípidos, hemicelulosas, celulosas y otros componentes minoritarios” (Baker y Cameron, 1999).

“La PME provoca cambios importantes en las sustancias pécticas, carbohidratos, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y otros componentes que afectan las características sensoriales como color, aroma, sabor y textura, afectando de alguna manera el procesamiento de esta importante fruta de los andes tropicales” (Willats et al., 2001).

“La presencia de PME provoca que en las bebidas de estos frutos se formen dos fases, una de ellas clara en la parte superior y otra turbia en la parte inferior dejando un aspecto visible indeseado en el producto final; sin embargo, para reducir la actividad PME en alimentos con alto contenido de pectina una alternativa es la pasteurización” (Cinquanta et al., 2010; Anthon et al., 2002), “con la cual, se logra reducir a niveles aceptables  $\leq 10\%$  la actividad enzimática residual, factor problema en la calidad de jugos” (Osorio et al., 2008; Carbonell et al., 2006), “sin embargo los jugos comerciales conservados por pasteurización sometidos a temperaturas altas y tiempos prolongados, reducen también componentes deseables como nutrientes, color, aroma y textura que se destruyen en diferentes porcentajes, resultando en pérdidas significativas de calidad” (Tribess y Tadini, 2006; Raviyan et al., 2005), “de ahí la importancia de optimizar el tratamiento térmico aplicado mediante la aplicación de diseños experimentales, que permitan conservar al máximo los atributos de calidad del jugo” (Montgomery y Runger, 2003).

“Las pectinas son un grupo heterogéneo de polisacáridos complejos constituidos principalmente por cadenas largas de unidades de ácido D-galacturónico unidos entre sí por enlaces  $\alpha$ -1-4, cadenas que forman el ácido poligalacturónico o ácido péctico”. (Devia J, 2003; Feoli et al., 1997; Yegres et al., 2001).

“Estas unidades pueden estar parcialmente metiladas, esterificadas en el C-6 con alcohol metílico variable según el origen de la pectina. La pectina también contiene con frecuencia residuos de ramnosa, arabinosa y galactosa. Generalmente la ramnosa forma parte de la cadena principal, mientras que la arabinosa y la galactosa se encuentran en las cadenas laterales unidas a la cadena principal formando ramificaciones”. (Beltran et al., 2011).

“Según el tratamiento que se haga a las materias primas (manzanas, frutas cítricas, piña, guayaba dulce, tomate de árbol, maracuyá y remolacha) se obtienen diferentes

calidades de pectinas, de acuerdo con las necesidades de los productos terminados. Estas pectinas son, en la actualidad, ingredientes muy importantes en la industria de los alimentos, para hacer gelatinas, helados, salsas, queso". (Devia J, 2003; Bayoumi et al., 2008).

"La presencia de estas sustancias pécticas en el zumo de frutas, origina importantes problemas en su procesamiento industrial. Ello se debe a que, por su escasa solubilidad, retienen el jugo espesándolo y disminuyendo el rendimiento de la extracción y para su empleo en la extracción, clarificación y reducción de viscosidad en jugos de frutas, extracción de aceites de vegetales y cítricos, fermentación de café y té, entre otras numerosas aplicaciones industriales". (Silva D, et al., 2002; Nadaroglu et al., 2010; Kashyap et al 2001).

"Las pectinasas actúan de manera sinérgica y secuencial y, además de encontrarse de manera natural en frutas y vegetales, también son producidas por microorganismos, tales como: bacterias, levaduras y hongos filamentosos". Yegres et al., 2001). "Tanto la actividad enzimática como los mecanismos que controlan su síntesis y su secreción están bajo la influencia de diversos factores ambientales, tales como el pH del medio, la temperatura de incubación y la naturaleza y cantidad de la fuente de carbono". (Beltran et al., 2011).

"La inhibición y estabilidad enzimática son consideradas la mayor consternación en el desarrollo de procesos biotecnológicos; la estabilidad enzimática está influenciada por parámetros físicos (pH y temperatura) y parámetros químicos (inhibidores y activadores); asimismo, la hidrólisis enzimática de las sustancias pécticas también depende de varios factores fisicoquímicos, como por ejemplo, del tiempo de contacto, concentración de enzima, temperatura de incubación y pH. El efecto de la temperatura fue estudiado entre 0°C y 90°C así como el pH entre 4 y 11". (Nadaroglu et al., 2010; Kashyap et al 2001; Arroyo G, 2002; Soriano M, 2004).

"Se han desarrollado estudios sobre la producción de enzimas pécticas, utilizando la fermentación en medio sólido, sobre diferentes substratos: bagazo de caña de azúcar; salvado de trigo; sin embargo, pocos estudios han sido efectuados sobre la influencia de la composición del medio, en cultivo sobre soporte sólido. La composición del medio de cultivo es un factor importante en la inducción de

pectinasas ya que influye sobre la diversidad y la cantidad de dichas enzimas pécticas”. (Cabeza et al., 2009; Trejo M, 1991).

“Al mismo tiempo, existe una preocupación creciente por los efectos de la contaminación ambiental, por ello la presión pública ha influido tanto en la industria como en los gobiernos para su disminución. Las enzimas microbianas presentan aplicación industrial debido a su elevada eficiencia catalítica, su uso no daña el ambiente y su alta rentabilidad económica”. (Soriano M, 2004).

Alzamora *et al*, sostiene que:

La pectinesterasa (PE) es una enzima que cataliza la desesterificación del ácido galacturónico en pectinas, liberando metanol; es decir hidroliza los ésteres metílicos de la pectina. Ataca a la cadena de pectina desde el extremo reductor a partir de grupos carboxilo libres y procede linealmente a través de la molécula dejando bloques sucesivos de residuos de ácido galacturónico con grupo carboxilo libres. Esto provoca la liberación de metanol incrementando la firmeza del tejido. (2000).

Por otra parte Baduí indica que:

La pectinesterasa se encuentra principalmente en las frutas y provoca junto a la poligalacturonasa que las pectinas se degraden y que la fruta adquiera una textura más adecuada para ser consumida. Esto debido a que producen mayor número de grupos carboxilos libres que pueden interaccionar con iones divalentes como el calcio para establecer estructuras tridimensionales rígidas que aumenta la dureza de la fruta que la contiene. Sin embargo, una actividad excesiva puede provocar el ablandamiento de los tejidos causando la pérdida de la textura y propicia las condiciones para el ataque microbiano, así como también aumenta la concentración del ácido galacturónico. Ciertos jugos como los cítricos, presentan viscosidad y turbidez debido a las pectinas que se encuentran en suspensión. La actividad de la pectinesterasa produce la hidrólisis, desesterificación y desestabilización de coloides, causando su precipitación y pérdida de sus propiedades. Es por esto que durante la manufactura de jugos es importante la inactivación enzimática mediante

tratamientos térmicos, considerando el pH, concentración o grados Brix de éstos. (1999).

“La enzima pectinesterasa es causante de la pérdida de viscosidad en jugos de frutas. La presencia de nube es importante en la apariencia y retención de ciertos componentes relacionados con el sabor de productos que están asociados con la nube” (Sadler et al.1992).

“La maracuyá es una planta de origen tropical cuyos frutos (tipo bayas) presentan un sabor particular intenso y una alta acidez, muy apreciado en los países americanos y europeos que lo demandan con gran interés” (Serna y Chacón, 1995). “La gran aceptación en los mercados internacionales, hacen de este cultivo uno de los más promisorios y rentables dentro del renglón de los frutales en Venezuela, lo cual resalta la importancia e interés de investigar y ahondar aún más sobre sus características, ya que en el presente no se cuenta con suficiente información. Los frutos, en la mayoría de los casos, presentan cambios visibles en sus características externas por efecto del proceso de maduración y senescencia” (Proctor y Peng, 1989); “entre estos cambios los del tipo cromático son muy frecuentes, así se tiene que la evaluación del color de los frutos es un índice de uso común para determinar el estado de madurez de éstos y en el caso particular de la parchita maracuyá, los cambios de tonalidades que van desde el verde al amarillo como índices de madurez han sido estudiados por Villanueva-Arce y Evangelista (2000), concluyendo que la medición de color es útil para determinar la madurez del fruto”. “Otra de las características de la maduración del fruto está constituida por la pérdida de la firmeza (liberación del agua ligada y desintegración del tejido), la cual está estrechamente relacionada con la alteración enzimática de la laminilla media y pared celular de los frutos las cuales están constituidas principalmente por sustancias pécticas, celulosa y hemicelulosa” (Proctor y Miesle, 1991; Salisbury y Ross, 1994). “La celulosa se ha vinculado con la hidrólisis de la celulosa de la pared celular lo cual resulta en la pérdida de cohesión de la estructura fibrilar de la matriz de polisacáridos de la pared” (Donoghue et al., 1994); “la PME ha sido consecuentemente relacionada con la degradación de las sustancias pécticas de la laminilla medianera de la célula, componente de la pared celular que actúa como



agente cementante o ligando entre las células y puede también controlar los movimientos de materiales solubles; esta enzima ha sido establecida en numerosas plantas superiores y está activa especialmente en frutos” (King, 1990; Proctor y Miesle, 1991). “El control de la actividad de la PME se encuentra referido a través del conocimiento de su dependencia a ciertos parámetros, como la temperatura y el pH, y ocupa gran importancia en la industria alimenticia quienes procuran mantener las características texturales de los frutos y sus productos procesados” (Castaldo et al., 1989). “Las PME han sido purificadas y caracterizadas a partir de varias plantas y frutos, como tomates, naranjas, lechosas, manzanas y toronjas de pulpa blanca y se ha establecido que las PME de varias fuentes tienen características diferentes; en lo que se refiere a peso molecular, actividad específica y otras. En realidad diferentes variedades de un mismo fruto tienen PME con características diferentes” (Fayyaz et al., 1994). “Como se ha mencionado, la PME está involucrada en la pérdida de la estabilidad de los jugos vegetales a través de la desesterificación de las pectinas, seguida por la coprecipitación de los pectatos con los materiales insolubles presentes en los jugos. La desestabilización es observada frecuentemente cuando los productos vegetales han sido sujetos a tratamientos térmicos obteniéndose productos estériles y estables; puede ser causada por actividades enzimáticas residuales que hayan pasado el tratamiento térmico. Sin embargo, no se han publicado evidencias que digan la existencia de actividad residual en el jugo de naranja pasteurizado, pero sí en la industria de productos de tomate donde demuestran la clarificación por la presencia de la actividad residual de esta enzima” (Castaldo et al., 1996). “La PG es otra enzima involucrada también con la degradación de las sustancias pécticas y se ha sugerido que en los frutos en maduración la PME prepara la pared para la hidrólisis a ser ocasionada por el efecto de la PG, la cual ataca los residuos pécticos desmetilados” (Gray et al., 1994). Carrington et al., mencionan que:

La principal responsable de la solubilización total de las pectinas insolubles es la PG conllevando de esta manera al ablandamiento del fruto por cambios en la estructura de la pared. Se ha encontrado que la enzima PME incrementa su actividad en el estado pre-climatérico observado en frutos de lechosa, la PG no es detectada en este estado

pero sí, y además con aumento de su actividad, en el climaterio (maduro) disminuyendo después de éste (1993).

“La actividad de la celulosa se incrementa en forma gradual y al mismo tiempo que la PME” (Paull y Chen, 1983).

“La pérdida de turbidez en los jugos por acción de PME ha sido bastante estudiada por numerosos autores, ya que es uno de los principales problemas de calidad que presentan los jugos. La textura de las frutas y verduras, así como la estabilidad de la suspensión coloidal (turbidez) de los jugos se debe a la presencia de pectinas” (Badui, 2006). “La pectina no es el principal constituyente de suspensión coloidal de los jugos de frutas pero desempeña un papel principal en el mantenimiento de la estabilidad coloidal a través de un mecanismo complejo y no bien entendido” (Carbonell y col., 2005). “A pesar de que la turbidez es deseable para algunos consumidores, es importante mencionar que para otros grupos, los jugos claros son de preferencia, por tanto la industria ha invertido en métodos que optimicen el proceso de clarificación de jugos. Las partículas en suspensión pueden ser retiradas a través de filtración, sin embargo, la presencia de pectina puede dificultar el proceso. Uno de los procesos que se ha propuesto para la reducir turbidez en jugos de frutas, es la despectinización a través del uso de enzimas exógenas (pectinasas). Las preparaciones comerciales de pectinasas son en realidad mezclas de pectinmetilesterasa, poligalacturonasa y pectinoliasa. Las pectinasas degradan la pectina, esto causa la reducción de la viscosidad y la formación de agrupaciones, lo que facilita la separación a través de centrifugación o filtración. Como resultado, el jugo presenta mayor claridad y un color y sabor más concentrado” (Greice y col., 2011, Badui, 2006). “La pectina contiene moléculas de  $\alpha$ -D-poligalacturónicos lineales, con la preponderancia de restos carboxílicos esterificados con metanol. La PME es una enzima unida a la pared celular que cataliza la remoción de grupos metoxilo de los poligalacturonanos metiladas, generando grupos carboxílicos libres; una vez que se alcanza un grado crítico de esterificación, los cationes divalentes (principalmente Ca) pueden entrecruzar los grupos carboxílicos libres pertenecientes a cadenas de pectina adyacentes, dando macropolímeros insolubles que atrapan a otros

componentes de la suspensión coloidal. Por tanto, la PME está involucrada en la pérdida de la estabilidad de los jugos a través de la desesterificación de las pectinas, seguida por la coprecipitación de los pectatos con los materiales insolubles presentes en los jugos, y en consecuencia la desestabilización de los coloides (disminución de la turbidez)” (Carbonell y col., 2005; Badui, 2006).

### **3.26. Fitasa.**

“Fitasa es un término genérico utilizado para describir una enzima que hidroliza los enlaces fosfomonoéster del ácido fítico (myo-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 - hexaquis dihidrógeno fosfato), liberando ortofosfato inorgánico” (Mullaney y Ullah, 2003).

“Dos clases de enzimas degradadoras de fitato son reconocidas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada y la Unión Internacional de Bioquímica (IUPAC-IUB); 3-fitasa (EC 3.1.3.8) y 6-fitasa (EC 3.1.3.26)” (Konietzny y Greiner, 2002). “La 3-fitasa hidroliza primero el grupo fosfato que se encuentra en posición 3 de la molécula de fitato, mientras que la 6-fitasa hidroliza primero el fosfato en posición 6” (Ullah y Sethumadhavan, 2003).

“Los animales monogástricos, tales como cerdos, aves y peces, no son capaces de utilizar el fósforo del ácido fítico, puesto que presentan niveles muy bajos de actividad de fitasa en sus tractos digestivos. Por lo tanto, el alimento para estos animales comúnmente es suplementado ya sea con fosfato inorgánico o con alguna fitasa de origen fúngico” (Wyss et al., 1999).

Según Vohra y Satyanarayana:

La enzima fitasa puede ser obtenida a partir de diversas fuentes, las que a continuación se señalan: - Plantas: Se ha reportado la presencia de fitasa en arroz, trigo, maíz, soya, haba, centeno y otras legumbres y semillas de oleaginosas. - Animales: La presencia de fitasa animal en hígado y sangre de ternero fue detectada por primera vez en 1908. Sin embargo, la investigación de fitasa sanguínea en mamíferos no tuvo éxito; sí se detectó fitasa en la sangre de vertebrados inferiores tales como aves, reptiles y tortugas marinas. Se ha observado actividad de fitasa en

el intestino de ratas, cerdos, ovejas y humanos, siendo esta última 30 veces inferior comparada con la de una rata. Los rumiantes probablemente digieren el fitato a través de la flora microbiana del rumen. (2003).

### **3.27. Influencia del tratamiento de ozono en las enzimas estudiadas**

“El tratamiento térmico ha sido el método más usado para la inactivación de enzimas y microorganismos deteriorantes en jugos de frutas. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, las altas temperaturas de procesamiento provocan cambios no deseados como la pérdida de nutrientes, alteraciones en el color y desarrollo de off – flavors” (Quintão-Teixerira y col., 2013). “La ozonización representa una alternativa no térmica para el tratamiento convencional térmico de jugos de frutas y verduras. Hasta nuestro conocimiento, no se encuentran reportados estudios en los que se haya investigado el efecto del ozono sobre la actividad de enzimas deteriorativas presentes en jugos de frutas y verduras. Sin embargo, el efecto del ozono sobre la inactivación enzimática en algunas frutas y verduras frescas o cortadas ha sido estudiado. Algunos autores observaron que la aplicación de ozono provocó una disminución significativa en la actividad de las enzimas POD y PPO presentes en diversas frutas y vegetales” (Rico y col., 2006; Yang y col., 2006; Zhang y col., 2004).

### **3.28. Modelos matemáticos usados para describir la cinética de inactivación enzimática**

“La cinética de inactivación de enzimas en función del tiempo, es un proceso que debe ser expresado o explicado por un modelo matemático para poder explicar el comportamiento del mismo. La velocidad de inactivación se refleja por los valores numéricos de las estimaciones de los parámetros cinéticos. El primer paso del procedimiento de análisis de datos implica la identificación de una ecuación de velocidad de inactivación adecuada (por ejemplo, de primer orden, bifásica, entre otras); mientras que el segundo paso es la selección de un método de regresión para estimar los valores de los parámetros cinéticos” (Van Loey y col., 2002). “La

inactivación de las enzimas es un proceso complejo que implica varios eventos, tales como la formación y/o la perturbación de diferentes interacciones y/o enlaces, la descomposición, agregación y/o disociación de los aminoácidos. Se ha sugerido que, en caso aparente de procesos de inactivación de primer orden, una de estas reacciones predomina sobre las demás. Si se producen varias reacciones más o menos a la misma velocidad, se espera que ocurran inactivaciones complejas pero no de primer orden” (Van Loey y col., 2002). “La validez del comportamiento de inactivación de primer orden puede ser examinada graficando la actividad residual enzimática versus tiempo de tratamiento en una escala semilogarítmica y evaluando la calidad de ajuste a través de promedios, por ejemplo test de falta de ajuste, coeficiente de determinación ( $R^2$ ), análisis de distribución de residuales. El modelo para la inactivación enzimática en concordancia con la cinética de primer orden puede aplicarse en muchos casos. Dado que inactivaciones más complejas pueden ocurrir en procesos paralelos o consecutivos, o debido a la presencia de otros agentes químicos, se han propuesto otras expresiones matemáticas para el modelado del comportamiento de inactivaciones diferentes a las de primer orden, por ejemplo, modelo de inactivación bifásico, modelo de conversión fraccionada, modelo de pasos consecutivos” (Van Loey y col., 2002).

### **3.29. Determinación de tiempos de inactivación térmica (TIT) de PE**

Se emplearon los valores D obtenidos para la inactivación de la PE para aplicar tratamientos térmicos equivalentes a tiempos entre 1.5 y 3D con el fin de determinar el intervalo de tiempos en el cual se logra la total inactivación de la pectinesterasa. Se seleccionaron los equivalentes de valores D en base a los reportados por Argaiz (1994). La evaluación de la inactivación enzimática se hizo de acuerdo a la prueba descrita por Rostchild *et al*, (1975).

### **3.30. Determinación de los cambios sensoriales durante la aplicación del tratamiento térmico**

Se determinó el cambio de sabor en el jugo a partir de las evaluaciones sensoriales; donde se tomó como señal (H) la bebida tratada térmicamente y ruido (F) la bebida fresca.

Según O'Mahony:

Se utilizaron 4 categorías: estoy seguro que el producto es fresco, creo que el producto es fresco pero no estoy seguro, creo que el producto es cocido pero no estoy seguro, estoy seguro que el producto es cocido. (1992).

La significancia de los resultados de la evaluación sensorial se determinó empleando las tablas de Bi y O'Mahony:

Con un  $\alpha = 0.1$  y una cola. Si el valor obtenido se encuentra por abajo del reportado en las tablas la prueba es negativa, lo cual significa que el juez no detectó ningún cambio en el jugo tratado. En cambio, si el valor se encuentra por arriba, la prueba es positiva indicando que el juez ha detectado el primer cambio en sabor (FCF). (2000).

### **3.31. Efectividad del tiempo de subida de la temperatura durante la aplicación del tratamiento térmico.**

Para determinar la efectividad del tiempo de subida (CUT) durante el tratamiento térmico en los parámetros estudiados se empleó el método de Ball y Olson:

Este método consiste en realizar una regresión lineal de los valores del logaritmo del valor D contra la temperatura, la ecuación obtenida se escribió en términos de D y posteriormente de K. (1957).

## CONCLUSIONES

1. Los consumidores cada vez más optan por los alimentos mínimamente procesados. Y ello requiere que se evite en lo posible el tratamiento térmico de los alimentos, debido a que ocasionan pérdida de nutrientes y afecta la calidad sensorial de los alimentos.
2. El tratamiento térmico es efectivo para controlar la proliferación microbiana y la inactivación de enzimas, pero este método cada vez más está quedando rezagado por la aparición de nuevos métodos de conservación de los alimentos como la ozonización por ejemplo.
3. El pH del producto es clave para decidir el tipo de tratamiento térmico que se aplicará a un alimento particular. Si el pH es igual o superior a 4.5, se aplica la esterilización a temperaturas superiores a 100°C y si el pH es inferior a 4.5, el tratamiento es la pasteurización a temperaturas inferiores a 100°C.
4. Durante el tratamiento térmico de los alimentos, en primer lugar se activan las reacciones microbianas y enzimáticas hasta que la temperatura alcanza un valor que es letal para la supervivencia de los microorganismos o destructivos para las enzimas, luego de ello se produce una caída de la actividad microbiana y enzimática.
5. El control de la actividad enzimática es vital para evitar cambios indeseables en el color y otros atributos sensoriales.
6. La inactivación de la pectinmetilesterasa (PME) se realiza cuando las pulpas van a ser destinadas a la fabricación de mermeladas. Si no se inactiva a la PME la pectina natural presente en la pulpa es hidrolizada y con ello pierde su capacidad para formar la triple red entre el azúcar, el ácido y el polisacárido que viene a ser la pectina.
7. Cuando las pulpas van a ser destinadas a la preparación de jugos claros y transparentes, es deseable conservar a la PME, ya que esta enzima producirá una hidrólisis sobre la pectina y con ello se facilitará su filtración.
8. La papa destinada para pollería, después del pelado y cortado debe ser tratado con bisulfito de sodio para inactivar a la polifenoloxidasas. Con este tratamiento la papa picada podría ser congelada durante semanas o meses sin sufrir cambios de coloración.

## **RECOMENDACIONES**

1. Realizar investigaciones de la cinética de inactivación térmica de pectinesterasa empleando un método más sensible. Además de hacer estos estudios ampliando el rango de temperatura y tiempos más cortos.
2. Realizar investigaciones sobre cinética de parámetros de calidad como degradación de vitaminas y color para establecer el proceso óptimo.
3. Realizar investigaciones de vida de anaquel para determinar la efectividad de los tratamientos y su inocuidad.
4. Realizar investigaciones de desarrollo del primer cambio en sabor empleando un mayor número de jueces para asegurar su plena identificación.
5. Realizar estudios de conservación de frutas y hortalizas empleando ozono como método de higienización y así alargar la vida en anaquel.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alzamora, S.M. Tapia, M.S. y López-Malo, A. 2000. Minimally processed fruits and vegetables. Fundamental Aspects and Application. Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg. Maryland, EUA.
- Abu-Ghannam, N. y Crowley, H. 2006. The effect of low temperature blanching on the texture of whole processed new potatoes. *Journal of Food Engineering* 74: 335-344.
- Anthon, G.E. Sekine, Y. Watanabe, N. Barret, D.M. 2002<sup>b</sup>. Thermal inactivation of pectinmetylesterase, poligalacturonase and peroxidase en tomate juice. *J. Agric Food Chem.* 50:6153-6159.
- Argaiz A. 1994. Thermal inactivation Kinetic of pectinesterasa in acidified papaya nectar and purees. *Revista Española de ciencia y tecnología de alimentos*, 34(3):301-309.
- Argaiz A. y López-Malo, A. 1995. Cinéticas del primer cambio en sabor, desarrollo de sabor a cocido e inactivación de pectinesterasa en néctares y purés de mango y papaya. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos.* 35(1) 92-100.
- Argaiz A. y López –Malo, 1996. Kinetic of first change on flavor, cooker flavor development and pectinesterase inactivation on mango and papaya néctars and purees. *Fruits procesing.* 6:145, 148-150.
- Arroyo G. 2002. Producción de enzimas pectinasas por actinomycetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja. [Tesis Msc.]. UNMSM. Perú.
- Badui, D.S. 1999. *Química de los Alimentos.* Ed Longman de México. México. 348 p.

- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los Alimentos*. 4ta edición. Pearson, México.
- Baker, R. A. y R. G. Cameron. 1999. Clouds of citrus juices and juice drinks, *Food Technology*: 53 (1), 64–69.
- Ball, C.O. Olson, F.C.W. 1957. *Sterilization in food Technology*. Mc-Graw Hill Book, Co. Inc. New York.
- Ball, C.O. 1923. Thermal process time for canned Foods. *Bull. Natl. Res. Council*, 7, Parte I. 37-76.
- Basak, K. y H. S. Ramaswamy. 1996. Ultra high pressure treatment of orange juice: a kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase, *Food Research International*: 29 (7), 601–607.
- Bayındırlı, A., Alpas, H., Bozoglu, F. & Hizal, M. (2004). Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in apple, orange, apricot and sour cherry juices. *Food Control*, 17, 52–58.
- Bayoumi R, Yassin H, Swelim M, Abdell-All E. 2008. Production of bacterial pectinase(s) from agro-industrial wastes under solid state fermentation conditions. *J App Sci Research*. 4(12): 1708-1721.
- Baumgart, J., Husemann, M y Schmidt, C. 1997. The impact of *Alicyclobacillus acidoterrestris* on the quality of juices and soft drinks. *Fruit Processing*, 7, 251-254, 2000.
- Beltrán A, Larrondo C, Ramirez M, Ruiza A, Salgado L. 2011. Producción de pectinasas por *Aspergillus niger* a partir de cáscaras de naranja y de toronja como fuente de carbono. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Berto, M. I., Gratao, A.C.A., Vitali, A.A; Silveira, J.R.V. 2003. Rheology of sucrose-CMC model solution. *Journal of Texture studies*, 34, 391-400.

- Bigelow, W. D. & Astry, J.R. 1920. Thermal death point in relation to time of typical thermophilic organism. *J. Infectious Diseases*. 27: 602-617.
- Cabeza M, Merín M, Martín M, Sabaté D, Audisio M, Morata V. 2009. Effect of a Pectinase-Surfactin Preparation on Extraction of Pigments and Total Polyphenol from Malbec Grape Skins. *American Journal of Enology and Viticulture*. 60(4): 477- 483.
- Carbonell, J., Contreras, P., Carbonell L. & Navarro J. (2005). Pectin methylesterase activity in juices from mandarins, oranges and hybrids. *European Food Research and Technology*, 222, 83-87.
- Carrington, C.; L. Greve; J. Labavitch. 1993. Cell wall metabolism in ripening fruit. VI. Effect of the antisense polygalacturonase gene on cell wall changes accompanying ripening in transgenic tomatoes. *Plant Physiol*. 103:429-434.
- Castaldo, D.; L. Quagliuolo; L. Servillo; C. Balestrieri; A. Giovane. 1989. Isolation and characterization of pectinmethylesterase from apple fruit. *J. Food Sci*. 54(3):653-655.
- Castaldo, D.; L. Servillo; R. Loiudice; C. Balestrieri; B. Laratta; L. Quagliuolo; A. Giovane. 1996. The detection of residual pectin-methylesterase activity in pasteurized tomato juices. *Int. J. of Food Sci. and Techn*. 31:313- 318.
- Choi, L.H. & Nielsen, S. (2005). The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. *Journal of Food Quality*, 28, 13–29.
- Cinquanta, L. y otros tres autores. 2010. Effect on Orange Juice of Batch Pasteurization in an Improved PilotScaleMicrowave Oven, *Journal of Food Science*: 75 (1), E46-E50.

- Cullen, P.J., Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P. & Muthukumarappan, K. (2009). Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. *Trends in Food Science and Technology*, 20, 125–36.
- Cullen, P.J., Valdramidis, V.P., Tiwari, B.K., Patil, S., Bourke, P. & O'Donnell, C.P. (2010). Ozone processing for food preservation: an overview on fruit juice treatments. *Journal of the International Ozone Association*, 32,166-179.
- Devia J. 2003. Proceso para producir pectinas cítricas. *Rev. Univ. EAFIT*. (129): 21-30.
- Donoghue, E.; D. Huber; J. Timpa; G. Erdos; J. Brecha. 1994. Influence of avocado (*Persea americana*) Cx-cellulase on the structural features of avocado cellulase. *Planta* 194:573-584.
- Eiroa, M.N.U., Junqueira, V.C.A., And Schmidt, F.L. 1999. Alicyclobacillus in orange juice: Occurrence and Heat Resistance of Spores. *Journal of Food Protection*, 62, 883.
- Elez-Martínez, P., Aguiló-Aguayo I. & Martín-Belloso O. (2006). Inactivation of orange juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as influenced by process parameters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 71-81.
- Farid, M.; Ghani, A.G.A. 2004. A new computational technique for the estimation of sterilization time in canned food. *Chemical Engineering Process*, 43 (4), 523-531, 2004.
- Fayyaz, A.; B. Asbi; Y. Ghazali; Y. Che Man; S. Jinap. 1994. Purification and molecular properties of papaya pectinesterase. *Food Chem.* 49:373-378.
- Fennema, O. 1993. *Química de los Alimentos*. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 1095 p.

- Feoli M, Gómez Z, Muños A. 1997. Aislamiento y caracterización de microorganismos con actividad pectinolítica a partir de *Mangifera indica*. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* (26): 33-37.
- Franz, C., Specht, I., Cho, G.S., Graef V. & Stah, M.R. (2009). UV-C-inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. *Food Control*, 20,1103-1107.
- García, H., B. Brito y M. C. García. 2008. Desarrollo tecnológico para el fortalecimiento del manejo postcosecha de frutales exóticos exportables de interés para los países andinos: Uchuva (*Physalis peruviana* L.), granadilla (*Passiflora ligularis* L.), y tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* (Cav) S.
- Ghani, A.G.A.; Farid, M.M.; Chen, X. D.; Richards, P. 1999. Numérical simulation of natural convection heating of canned food by computational fluid dynamic. *Journal of Food Engineering*, 41, 55-64.
- Ghani, A.G.A.; Farid, M. M.; Chen, X. D.; Richards, P. 2001. Thermal sterilization of canned food in a 3-D pouch using computational fluid dynamics. *Journal of Food Engineering*, 48, 147-56.
- Gray, J.; S. Picton; J. Giovannoni; D. Grierson. 1994. The use of transgenic and naturally occurring mutants to understand and manipulate tomato fruit ripening. *Plant, Cell and Environment* 17:557-571.
- Greice, S.I., Claudete, F.R., Menim B.D. & Moura, M.S. (2011). Clarification of fruit juices by fungal pectinases. *Food Science and Technology*, 44, 2217-2222.
- Guerrero, I. 1999. "Productos cárnicos". En García M., Quintero R., López-Munguía A. (comp.) *Biotecnología alimentaria*, México D.F.: Limusa, p. 231.
- Harris R.S, Karmas, E. 1975. Nutritional Evaluation of food procesing. The avi publising co inc. Wespom con EUA.

- Hicks, J. 2000. Bioquímica. Ed. McGraw-Hill Interamericana, S.A. México. 900 p.
- Jay J.M. 2000. Modern Food Microbiology. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland EUA.
- Karaca, H. & Velioglu S. (2007). Ozone applications in fruit and vegetable processing. *Food Reviews International*, 23, 91-106.
- Kashyap D, Vohra P, Chopra S, Tewari R. 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*. 77: 215-227.
- Kim, J.G., Yousef, A.E. & Khadre, M.A. (2003). Ozone and its current and future application in the food industry. *Advances in Food and Nutrition Research*, 45, 168- 275.
- King, K. 1990. Partial characterization of the in situ activity of pectinesterase in Bramley apple. *Int. J. Food Sci. Tech.* 25:188-197.
- Konietzny, U. y Greiner, R. 2002. Molecular and Catalytic Properties of Phytate-Degrading Enzymes (Phytases). *International Journal of Food Science and Technology*. 37: 791–812.
- Liu, E. Z. y Scanlon, M. G. 2007. Modeling the effect of blanching conditions on the texture of potato strips. *Journal of Food Engineering* 81: 292–297.
- Limbo, S. y Piergiovanni, L. 2006. Shelf life of minimally processed potatoes Part 1. Effects of high oxygen partial pressures in combination with ascorbic and citric acids on enzymatic browning. *Postharvest Biology and Technology* 39: 254–264.
- Marilley, L. & Casey, M.G. 2004. “Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains”, *International Journal of Food Microbiology*, 90, pp.139-59.

- Mathewson, P. 1998. *Enzymes. Practical Guide for the Food Industry*. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, , pp. 59-63.
- Mcintyre, S., Ikawa, J. Y., Parkinson, N., Haglund, J., y Lee, J. 1995. Characterization of an acidophilic Bacillus strain isolated from shelf-stable juices. *Journal of food protection*. 58, 319.
- Miller, F.A., Silva, C.L. & Brandão T.R. (2013). A review on ozone-based treatments for fruit and vegetables preservation”. *Food Engineering Reviews*, DOI 10.1007/s12393-013-9064-5.
- Montgomery, D. C. y G. C. Runger. 2003. *Applied Statistics and Probability for Engineers*, Third Edition, John Wiley & Sons, Inc., New York, United States of America.
- Mullaney, E. y Ullah, A. 2003. The term phytase comprises several different classes of enzymes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 312: 179–184.
- Nadaroglu H, Taskin E, Adigüzel A, Güllüce M, Demir N. 2010. Production of a novel pectin lyase from *Bacillus pumilus* (P9), purification and characterization and fruit juice application. *Romanian Biotechnological Letters*. 15(2): 5167-5175.
- Ngadi, M., Bajwa, S.S. & Alakali, J. (2012). Minimally Processed Foods. En: impson, B.K., Nollet L., Toldrá F., Benjakul, S., Paliyath, G., & Hui Y.H.(eds), *Food Biochemistry and Food Processing*. Willey-Blackwell, United Kingdom. Pág.746-762.
- Nisha, P., Singhal, R. S. y Pandit, A. B. 2006. Kinetic modelling of texture development in potato cubes (*Solanum tuberosum* L.), green gram whole (*Vigna radiate* L.) and red gram splits (*Cajanus cajan* L.). *Journal of Food Engineering* 76: 524–530.

- O'Donnell, C.P., Tiwari, B.K., Bourke, P. & Cullen, P.J. (2010). Effect of ultrasonic processing on food enzymes of industrial importance. *Trends in Food Science and Technology*, 21,358-367.
- Osorio, O., N. Martínez, G. Moraga y J. V. Carbonell. 2008. Effect of Thermal Treatment on Enzymatic Activity and Rheological and Sensory Properties of Strawberry Purees, *Food Science and Technology International*: 14 (5), 103-108.
- Pankaj, S.K., Misra, N.N. & Cullen, P.J. (2013). Kinetics of tomato peroxidase inactivation by atmospheric pressure cold plasma based on dielectric barrier discharge. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19,153-157.
- Pascual A, Llorca I & Canut A. (2007). Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends in Food Science and Technology*,18, S29-S35.
- Patil, S. & Bourke, P. (2012). Ozone Processing of Fluid Foods. En: Cullen, P.J., Tiwari, B.K. & Valdramidis,V.P.(eds). *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*. Academic, London, United Kingdom. Pág. 225-261.
- Patil, S., Valdramidis, V.P., Cullen, P.J., Frias, J. & Bourke, P. (2010a). Inactivation of *Escherichia coli* by ozone treatment of apple juice at different pH levels. *Food Microbiology*, 27, 835-840
- Patil, S., Valdramidis,V.P., Cullen, P.J., Frias, J.M. & Bourke, P. (2010b). Ozone inactivation of acid stressed *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in orange juice using a bubble column. *Food Control*, 21, 1723-1730.
- Paull, R.; N. Chen. 1983. Postharvest variation in cell wall-degrading enzymes of papaya (*Carica papaya* L.) during fruit ripening. *Plant Physiol.* 72:382-385.



- Peña y Quirasco.2014. ¿Enzimas en los alimentos?. Bioquímica de lo comestible. Revista Digital Universitaria. Vol. 15. N° 12. ISSN 1607-6079.
- Polata, H., Wilinska, A., Bryjak, J. y Polakovic, M. 2009. Thermal inactivation kinetics of vegetable peroxidases. Journal of Food Engineering 91: 387–391.
- Proctor, A.; L. Peng. 1989. Pectin transitions during blueberry fruit development and ripening. J. Food Sci. 54(2):385-387.
- Proctor, A.; T. Miesle. 1991. Polygalacturonase and pectinmethylesterase activities in developing highbush blueberries. HortScience 26(5):579-581.
- Quintão-Teixeira, L., Soliva-Fortuny, R., Mota Ramos, A. & Martín-Belloso, O. (2013). Kinetics of peroxidase inactivation in carrot juice treated with Pulsed Electric Fields”. Journal of Food Science, 78, 222-228.
- Quirasco, M., López-Munguía, A. 2013. Enzimas. En BaduÍ, S. (ed.) *Química de los Alimentos*, 5ª. Ed., México: Pearson, , pp. 275 - 339.
- Rodrigo M. Lorenzo, P Safon J., 1980<sup>a</sup>. Optimización de las técnicas de esterilización de alimentos por calor II. Concepto actualizado de la esterilización por el calor y efectos de la misma sobre los alimentos. Cinética y parámetros. Revista de agroquímica y tecnología de alimentos: 20(4): 425- 443.
- Rostchild G van Vliet, C. Karcenti, A. 1975. Pasterización condition for fruit juices and comminutes products of israelis citrus frutis. Journal of food tegration. 10 (1), 29.
- Salisbury, F.; C. Ross. 1994. Fisiología vegetal. México. Grupo Editorial Iberoamericana. 759 p.
- Serna, J.; C. Chacón. 1995. El Cultivo del Maracuyá. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. 29 p.

- Sloan, A. E. 2001. Top 10 trends to watch and work on. In: *Third Annual Report Food Technology* 55(4).38-58.
- Silva, F. M., Gibbs, P. 2001. Alicyclobacillus acidoterrestris spore in fruit products and design of pasteurization processes. *Trends in Food Science y Technology*, 12, 68-74.
- Silva D, Da Silva E, Da Silva R, Gomes E. 2002. Pectinase production by *Penicillium viridicatum* RFC3 by solid state fermentation using agricultural wastes and agro-industrial by products. *Brazilian Journal of Microbiology*. (33): 318-324
- Splittstoesser, D. F., Churey, J.J., y Lee, C.Y. 1994. Growth characteristics of aciduric sporeforming bacilli isolated from fruit juices. *Journal of Food Protection*, 57, 1080.
- Splittstoesser, D. F., Lee, C.Y. y Churey, J.J., y 1988. Control of Alicyclobacillus in the juice industry. *Dairy, Food, and Environmental Sanitation*, 18, 585.
- Somogyi L. Ramaswami H y Hui Y 1996: *Processing Fruits and science and technology*. Vol. 1 Biology, Principles and Applications. Technomic Publishing Co. Lancaster PA EUA.
- Soriano M. 2004. Análisis de sistemas pectinolíticos bacterianos. Aislamiento y caracterización de las pectinasas PelA de *Paenibacillus* sp. BP-23 e YvpA de *Bacillus subtilis*. [Tesis Doctoral]. Universidad de Barcelona.
- Stumbo C. R. 1973. *Thermobacteriology en Food Processing*. 2ª Edition. Academic Press New York EUA.
- Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C. P., Chenchiah, M., & Cullen, P.J., (2008a). Effect of ozonation on the rheological and colour characteristics of hydrocolloid dispersions. *Food Research International*, 41, 1035–1043.

- Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C.P. & Cullen, P.J. (2008b). Kinetics of freshly squeezed orange juice quality changes during ozone processing". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6416–6422.
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Muthukumarappan, K. & Cullen, P.J. (2009c). Anthocyanin and color degradation in ozone treated blackberry juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 70-75.
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., Brunton, N. & Cullen, P.J. (2009d). Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. *Food Chemistry*, 113, 1119-1126.
- Tiwari, B.K., O'Donnell, C.P., Patras, A., Brunton, N.P., & Cullen P.J. (2009e). Anthocyanin and colour degradation in ozonated grape Juice. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2824–2829.
- Trejo M. 1991. Producción de pectinasas de *Aspergillus niger* por fermentación sólida sobre soporte. *Micol. Neotrop. Apl.* (4): 49-62.
- Tribess, T. B. y C. C. Tadini. 2006. Inactivation kinetics of pectin methylesterase in orange juice as a function of pH and temperature/time process conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*: 86 (9), 1328-1335.
- Troncoso, E. y Pedreschi, F. 2007. Modeling of textural changes during drying of potato slices. *Journal of Food Engineering* 82: 577–584.
- Ullah, A y Sethumadhavan, K. 2003. PhyA Gene Product of *Aspergillus ficuum* and *Peniophora lycii* Produces Dissimilar Phytases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 303: 463–468.
- Van den Broeck, I., Ludikhuyze, L.R., Van Loey, A.M., & Hendrickx M.E. (2000). Inactivation of orange pectinesterase by combined high-pressure and

- temperature treatments: A kinetic study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 1960- 1970.
- Van Loey, A., Chantal Smout, I. & Hendrickx, M. (2002). From experimental design to kinetic modeling. En: Whitaker, J.R., Voragen , A.G.J., Wong D.W.S.(eds) *Handbook of Food Enzymology*. Marcel Dekker, New York, EEUU.
- Vidal Fonteles, F., Maia Costa, M., Tibério de Jesus, A., Alcântara de Miranda, M., Narciso Fernandes, F. & Rodrigues, S. (2012). Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: effects on quality parameters. *Food Research International*, 48, 41-48.
- Vila, L. R., 2006. Caracterización fisicoquímica del membrillo japonés y desarrollo fisiológico y conservación frigorífica, Tesis de Doctorado, Departamento de Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología, Universidad de Murcia, Murcia-España.
- Villanueva-Arce, R.; S. Evangelista. 2000. Evaluación del color del fruto de maracuyá durante su desarrollo. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha*. 2(2):169-171.
- Voet, D., Voet, J., *Pratt, C.* 2013. *Fundamentals of Biochemistry. Life at the Molecular Level*, 4ª. Ed., New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, pp. 440, 493.
- Vohra, A. y Satyanarayana, T. 2003. Phytases: Microbial Sources, Production, Purification, and Potential Biotechnological Applications. *Critical Reviews in Biotechnology*. 23: 29–60.
- Walls, I., E. Chuyate, R., 1998. Alicyclobacillus-Histotical perspective and preliminary characterization study. *Dairy, Food, and Environmental Sanitation*, 18, 499.
- Willats, W., L. Mccartrney, W. Mackie, J. Knox. 2001. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis, *Plant Molecular Biology*: 47, 9-27.

- Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Rémy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, G., Lehmann, M. y Van Loon, A. 1999. Biochemical Characterization of Fungal Phytases (myo-Inositol Hexakisphosphate Phosphohydrolases): Catalytic Properties. *Applied and Environmental Microbiology*. 65: 367-373..
- Yamazaki, K., Teduka, H., and Shinano, H. 1996. Isolation and identification of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from acidic beverages. *Bioscience, Biochemistry and Biochemistry*, 60, 534.
- Yegres S, Sánchez J, Belmar M, Riveros W, Belmar D. 2001. Producción de enzimas pécticas-ensayos preliminares. *Rev. Univ. Or.* 13(1): 55-59.
- Zhao, W., Yang, R., Hua, X., Zhang, W., Tang, Y., & Chen, T. (2010). Inactivation of Polyphenoloxidase of Pear by Pulsed Electric Fields. *International Journal of Food Engineering*, 6, 1-15.
- Zeynep B., Guzel-Seydima, Greeneb, A.K. & Seydima A.C. (2003). Use of ozone in the food industry. *Lebensmittel-Wissenschaft & technologie*, 37, 453-460.

## **GLOSARIO DE TÉRMINOS**

TIT= Tiempo de Inactivación Térmica

CUT= Tiempo de Subida

PE= Pectinesterasa

UPE= Unidad de Pectinesterasa

Ea= Energía de Activación

FCF= Primer Cambio en Sabor

PPO= Polifenoloxidasas

POD= Peroxidasas

PME= Pectinmetilesterasa