

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Manzanas

3.1.1 Generalidades

Desde hace muchos siglos, el manzano se cultiva por sus frutos. Los primeros cultivadores seleccionaron las mejores variedades a partir de semillas silvestres y las reprodujeron mediante injerto (Hernández, 2001). Actualmente, es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial, fundamentalmente debido a:

- ❖ Su facilidad de adaptación a diferentes climas y suelos
- ❖ Su valor alimenticio
- ❖ La calidad y diversidad de productos que se obtienen en la industria transformadora

El manzano es un árbol que pertenece a la familia Rosaceae, de tronco derecho que normalmente alcanza de 2 a 2.5 m de altura, ramas gruesas y copa ancha poco regular. Sus hojas son sencillas, ovaladas, puntiagudas, de color verde por la haz y vellosas por el envés. Tiene una vida de 60 a 80 años (Hachette Castell, 1981).

Su fruto, la manzana, tiene su floración en primavera, generalmente por abril o mayo, las manzanas más precoces maduran en junio, aunque existen razas que mantienen el fruto durante la mayor parte del invierno e incluso se llegan a recoger en marzo o abril (Downing, 1989).

Las características físicas del fruto son apreciables. El color de la piel va desde el verde hasta el rojo oscuro. También la forma es variada desde ovoides a oblongos. El tamaño oscila

entre un poco mayor que el de una cereza y casi tan grande como una toronja (Hachette Castell, 1981).

Por proceder de climas muy fríos resiste las más bajas temperaturas, lo que ha permitido cultivarlo a gran escala en todos los países de clima relativamente fríos, y en particular en todos los de Europa (Hernández, 2001).

Las razas y variedades de manzano son innumerables ya que estas pasan del millar. La raza Golden Delicious (Deliciosa Dorada) es caracterizada por un fruto grande y de color amarillo dorado, más largo que ancho, con la carne blanca amarillenta, fija, jugosa. El pedúnculo es largo o muy largo y la piel delgada y resistente. Fruto de buena conservación natural y en frío. Recolección en septiembre-octubre (Hachette Castell, 1981).

La manzana entra dentro de las frutas climatéricas, es decir, que se cosechan inmaduras y su proceso de maduración se lleva a cabo fuera de la planta. Los tejidos de fruta de manzana deben generar un cierto nivel de energía con la respiración para mantener la integridad celular de los tejidos (Downing, 1989).

3.1.2 Contenido nutrimental de la manzana

Los datos proporcionados por el Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán se muestran en la Tabla I y II (INNSZ, 1998).

Tabla I. Composición de *Malus Sylvestris*, en 100g de fruta.

Humedad (%)	86
Cenizas (g)	0.3
Proteína bruta (g)	0.25
Carbohidratos (g)	12.45
Fibra cruda (g)	1

Las manzanas se caracterizan por su valor nutritivo y también por su contenido de fibra, el cual es mucho mayor al de naranjas, plátanos, uvas o duraznos.

Tabla II. Contenido vitamínico de *Malus Sylvestris*, en 100g de fruta.

Vitaminas	
	mg
Acido ascorbico	5.7
Tiamina	0.017
Rivoflavina	0.014
Niacina	0.077
Vitamina A	5.3

3.1.3 Cultivo de manzanas

Para entender la relación existente entre la calidad de un producto con las características propias de la manzanas, es importante considerar que la manzana, es un tejido vivo y como tal generador de distintos niveles de energía según su etapa de maduración. Durante la actividad respiratoria hay producción de diferentes niveles de CO₂ y requerimientos de O₂ por unidad de peso, dependiendo de las distintas etapas de maduración del fruto. Esta variación de niveles va incrementando hasta disminuir en su etapa de senectud, pero se dice que en el momento en que alcanza el mayor rango de generación de CO₂ es el momento óptimo para el manejo del fruto en cuanto a modificar sus condiciones a fin de prolongar el su vida o el tiempo para alcanzar su madurez (Lamikanra, 2002).

Se sabe que la maduración en la manzana es afectada por el etileno, el cual guarda una relación estrecha con la actividad respiratoria del fruto. Es decir que conforme el fruto alcanza mayor maduración, también mayor actividad respiratoria y una disminución importante en cuanto a la producción de etileno. Sin embargo, no se logra disminuir la actividad respiratoria del fruto si se aumenta el etileno (Downing, 1989).

Con el fin de prolongar el tiempo de almacenamiento del fruto o la vida del mismo a las óptimas condiciones para obtener un producto de calidad se han considerado varias opciones, entre las que se encuentra la cosecha del fruto antes de que se alcance una producción máxima de etileno para prevenir así la acumulación de este en el tejido a partir de distintas formas. Así mismo se puede controlar la actividad respiratoria del tejido. Uno de los métodos más efectivos y estudiados es el de cambios de temperatura o Q_{10} . Generalmente con un cambio de 10°C resulta efectivo para incrementar o reducir el ritmo de ciertas reacciones. Por lo tanto, reduciendo la temperatura de las manzanas por decir de 25° a 15° C resulta en una importante reducción de la actividad respiratoria de las mismas, prolongando así su conservación (Lamikanra, 2002).

Al reducir 10° la temperatura la velocidad de reacción disminuye, incrementando así la fase climatérica, se debe contar con ciertos límites de temperatura y otros factores propios en el manejo de la manzana ya que se pueden provocar problemas graves, como el daño por frío (Badui, 1986).

3.1.4 Jugo de manzana

Downing (1989) menciona que hay características de las manzanas para elaborar un producto derivado de alta calidad. Entre estas características están el color, tamaño, forma, firmeza, sólidos solubles, acidez, pH, daño, jugosidad, cantidad de taninos y otros. En el caso del jugo de manzana se observa que las características importantes son la madurez de la fruta, el color amarillo de la pulpa, un alto contenido de sólidos solubles, bajo contenido de taninos y buena jugosidad.

La Secretaría de Comercio y Fomento Industrial estableció la Norma Mexicana, NMX-F-045-1982 (Secretaría de Economía, 2006). En ella se dan las especificaciones para jugo de manzana. Dichas especificaciones podrán ser cumplidas si se utilizan materias primas e

ingredientes de calidad, se aplican buenas prácticas de manufactura y se utilizan instalaciones en condiciones higiénicas.

Según la Norma Mexicana “ALIMENTOS - FRUTAS Y DERIVADOS - JUGO DE MANZANA” define al jugo de manzana como: “El jugo de manzana es el producto alimenticio, líquido obtenido de la expresión de manzanas. (*Pyrus Malus*) maduras, sanas, limpias, finamente divididas y tamizadas; sin diluir, ni fermentar, adicionando de edulcorantes nutritivos y aditivos alimenticios permitidos envasados en recipientes herméticamente cerrados y sometido a un proceso térmico que asegure su conservación”.

El jugo de manzana en su único tipo y grado de calidad debe cumplir con las siguientes especificaciones:

- ❖ Color: Característico del jugo recién obtenido del fruto fresco y maduro de la variedad de manzanas empleadas.
- ❖ Olor: Característico del jugo recién obtenido del fruto fresco y maduro.
- ❖ Sabor: Característico del producto convenientemente elaborado y proveniente de frutas sanas maduras que no tengan sabor a cocido o cualquier otro sabor extraño u objetable.
- ❖ Apariencia: Líquido turbio, sin partículas negras o cáscara, semilla y cuando es clarificado debe ser translúcido.

Tabla III. Especificaciones químicas y físicas del jugo de manzana.

Especificaciones	Mínimo	Máximo
Densidad a 293 K (20°C)	1.04	1.06
Sólidos solubles por lectura Refractométrica a 293 K	11	14
Acidez titulable expresada en ácido málico en g/100 cm ³	0.3	0.6
pH	3.5	4
Contenido de CO ₂	No debe contener	
Contenido de etanol (%)	0	3

En la "NORMA GENERAL DEL CODEX PARA ZUMOS (JUGOS) Y NÉCTARES DE FRUTAS (CODEX STAN 247-2005)" definen al jugo de frutas como: "Líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha de conformidad con las disposiciones pertinentes de la Comisión del Codex Alimentarius.

Algunos zumos (jugos) podrán elaborarse junto con sus pepitas, semillas y pieles, que normalmente no se incorporan al zumo (jugo), aunque serán aceptables algunas partes o componentes de pepitas, semillas y pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

Los zumos (jugos) se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de los zumos (jugos) de la fruta de que proceden. Podrán ser turbios o claros y deberán proceder del mismo tipo de fruta. El zumo (jugo) de fruta se obtiene como sigue: exprimido directamente por procedimientos de extracción mecánica o a partir de concentrados.

3.1.5 Oscurecimiento de vegetales y frutas

El pardeamiento en frutas puede ser considerado como un conjunto de reacciones bioquímicas que van deteriorando la calidad del alimento. Esto ocasiona problemas en la industria procesadora de frutas, debido a la generación de características sensoriales indeseables.

Entre las causas que existen para describir este fenómeno se encuentran:

- ❖ Oscurecimiento enzimático
- ❖ Reacción de Maillard

- ❖ Caramelización
- ❖ Oxidación de ácido ascórbico

Las reacciones de pardeamiento no oxidativo, igual que las oxidativas pueden incluir enzimas en las primeras etapas. Durante la oxidación de ácido ascórbico este es convertido a ácido dehidroascórbico, que reacciona posteriormente con aminoácidos para producir polímeros rojos y pardos (Fennema, 1985).

Durante la reacción de Maillard ocurren un grupo de reacciones complejas en las que se forman compuestos de alto peso molecular de color oscuro llamados melaninas. Se requiere de un azúcar reductor y un grupo amino libre proveniente de un aminoácido o de una proteína. (Heimann, 1980).

La caramelización, también es llamado pirolisis y se presenta en alimentos tratados térmicamente de manera drástica. Los azúcares son calentados por encima de su punto de fusión (Heimann, 1980).

Tabla IV. Aspectos generales de las reacciones de oscurecimiento.

Mecanismo	O ₂ necesario	Grupos amino necesario	Temperatura elevada	pH óptimo	Azúcares reductores
Caramelización	no	no	si	alcalino/ácido	si
Maillard	no	si	no	alcalino ligeramente	si
Oxidación de ácido ascórbico	si	no	no	ácido ligeramente	no
Polifenoloxidasas	si	no	no	ácido	no

(Badui, 1986)

3.2 Enzimas

Las enzimas son catalizadores biológicos que llevan a cabo reacciones bioquímicas con un alto grado de especificidad. Estas están presentes en animales, vegetales, hongos, microorganismos, ya que están relacionadas a las etapas biológicas de los tejidos activos. Por ello,

los alimentos tienen una variedad de enzimas endógenas que les provocan cambios benéficos y dañinos (Badui, 1986).

Todas las enzimas son proteínas, tienen una estructura tridimensional globular, formadas generalmente por una sola cadena polipeptídica y logran ser activas cuando los polímeros desarrollan una conformación que permite establecer su centro activo (Fennema, 1985).

Las enzimas presentes en la mayoría de los materiales alimenticios frescos tienen la capacidad de causar cambios deseables o indeseables en los alimentos. Así, el manejo de estas enzimas naturales es una consideración importante en la tecnología de alimentos. Las enzimas específicas de las frutas y vegetales están involucradas en la síntesis de varios precursores del sabor, los cuales son convertidos al sabor en sí (Whitaker, 1994).

Las enzimas también están asociadas con los cambios en el color de los alimentos, por ejemplo, del verde al amarillo en la maduración de frutos o el oscurecimiento catalizado por fenolasas, lipólisis catalizada por lipasas y oxidaciones causadas por lipooxidasas (Fennema, 1985).

Las enzimas catalizan reacciones biológicas y al igual que otros catalizadores influyen en la velocidad a la cual se obtiene el equilibrio. Las enzimas tienen la capacidad de efectuar la reacción química a través de una ruta que requiere de una menor energía libre de activación que la necesaria cuando se efectúa sin catalizador (Whitaker, 1994).

3.2.1 Unidades enzimáticas

La potencia catalítica de una preparación enzimática se mide en unidades. Las unidades se definen como la cantidad de enzima que se requiere para transformar en producto una micromol de sustrato por minuto, en las condiciones de pH y temperatura óptimas para cada

enzima. A veces este término resulta difícil de caracterizar y se utiliza las unidades de actividad específica la cual es las unidades de actividad de la enzima en relación con la cantidad de proteína en miligramos. Esto quiere decir que mientras más pura sea la enzima, habrá mayor porcentaje de actividad por miligramo de proteína (Badui, 1986).

3.2.2 Velocidad de reacción

La velocidad de una reacción enzimática depende de la concentración de la enzima y cuando el sustrato está en exceso existe una proporcionalidad lineal entre dicha velocidad y la concentración de la enzima (Fig. 1) (Badui, 1986).

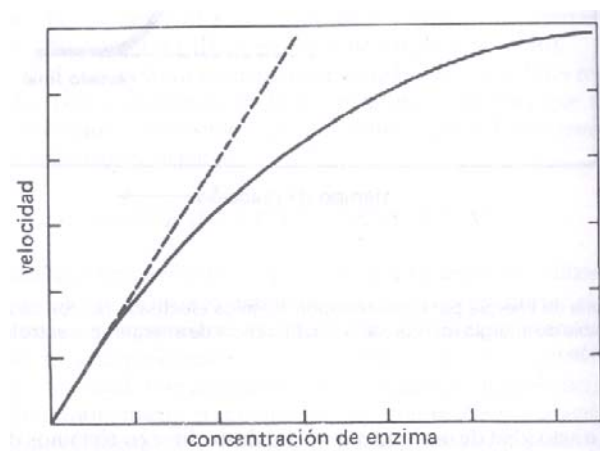


Figura 1. Velocidad de reacción.

La conversión de sustrato en el producto, en las reacciones enzimáticas, se caracteriza por una curva progresiva que representa la velocidad de formación del producto. A medida que avanza el tiempo, la velocidad va disminuyendo. A esta concentración constante de enzima, la velocidad de reacción catalizada enzimáticamente en función de la concentración de sustrato. La velocidad de formación de producto es proporcional a la concentración del sustrato (Fennema, 1985).

La temperatura, el pH, la actividad de agua (a_w), la fuerza iónica y la presencia de agentes inhibidores y activadores son factores que alteran fuertemente la actividad enzimática (Fennema, 1985).

La actividad enzimática residual en algunos alimentos procesados se ha usado como índice de control de calidad durante su elaboración, se considera que la presencia de estas es indicador del mal tratamiento térmico y su ausencia representa la destrucción de los microorganismos más lábiles. La pérdida de la actividad enzimática puede ser reversible siempre y cuando la exposición al agente desnaturizante no sea intensa (Whitaker, 1994).

Cada alimento tiene ciertas enzimas naturales que desempeñan un papel importante en la calidad organoléptica y nutricional. La acción de las enzimas suele ser muy variada y en algunos casos pueden causar daños similares a los microorganismos. Las enzimas pueden causar daños favorables o desfavorables sin embargo estos últimos pueden ser desnaturizados (Badui, 1986).

3.2.3 Cinética de inactivación

La cinética química es el estudio del mecanismo y velocidad por medio del cual una especie química es convertida a otra y de los factores que influyen esta velocidad. De acuerdo a la bibliografía, algunas de las reacciones de primer orden son el crecimiento y muerte de microorganismos, reacciones enzimáticas, pérdida de vitamina C, pérdida de vida de anaquel. Todas estas descritas por la siguiente ecuación:

$$A \rightarrow P$$
$$\frac{dA}{dt} = -k(A) = \frac{dP}{dt}$$
$$\log \frac{UAE}{UAE_0} = kt \quad \text{Ec. 1}$$

Una cinética de primer orden es caracterizada por el ritmo en el que se convierte el reactivo en reactante (Whitaker, 1995). Este modelo no siempre describe de la manera adecuada nuestros procesos por lo que se hace uso de otros modelos o incluso de modelos de distribución.

3.2.4 Distribución de Weibull

Una función de densidad de probabilidad es un modelo teórico para la distribución de frecuencias de una población de mediciones, la cual describe la población de estudio. Esta distribución teórica de frecuencias corresponde a la función de densidad de probabilidad para la variable y .

La función de densidad Weibull proporciona un buen modelo para la distribución de la duración de muchos dispositivos mecánicos así como plantas (Mendenhall et al., 1986).

La distribución de Weibull es una función casi perfecta para distribuciones simétricas. La cual es descrita por la siguiente ecuación:

$$\log \frac{UAE}{UAE_0} = (-bt^n)$$

Ec. 2

Donde:

- n factor de forma
- b factor de distribución
- t tiempo

(Peleg, 2006)

3.3 Polifenoloxidasa (PPO)

La polifenoloxidasa (E.C. 1.10.3.1) es una enzima que pertenece a las oxidoreductasas o fenolasas; también es nombrada o-difenol, oxígeno-oxidoreductasa, tirosinasa, catecol oxidasa o patato oxidasa (Mayel y Harel, 1979). Estas enzimas se encuentran en diversas formas y se encuentran en plantas y animales (Gomes y Ledward, 1996).

La PPO es una enzima endógena que se encuentra principalmente en frutas y vegetales causando oscurecimiento aeróbico del alimento durante el daño físico del tejido (Guerrero et al., 2005a).

La acción de la PPO resulta de la de quinonas reactivas que actúan con grupos amino y sulfhidrilo de proteínas y enzimas, así como otros sustratos tales como flavonoides y derivados. Estas reacciones secundarias pueden provocar cambios físicos, químicos y nutrimentales así como afectar las propiedades sensoriales de las frutas y vegetales. Las quinonas por su parte contribuyen en la pigmentación café, participando en reacciones de polimerización y condensación con proteínas (Lamikanra, 2002).

La PPO es activada como resultado de la disrupción de la integridad de la célula y cuando el contenido plásmico y vacuolar se mezclan. La actividad de la misma está presente en todos los organismos fotosintéticos y en algunas funciones esenciales de las plantas como la de hongos patógenos (Lamikanra, 2002).

3.3.1 Polifenoloxidasa en manzanas

Las manzanas contienen derivados de ácidos hidoxicinámicos, los cuales son los más importantes fenoles en los cultivos de manzanas maduros, de estos predomina el ácido cloragénico, los segundos más importantes son las catequinas. Estos sustratos son importantes

para que se lleve a cabo el oscurecimiento enzimático. En las plantas se encuentra predominantemente en la membrana de los cloroplastos; ya sea en un estado activo como latente (Lamikanra, 2002).

Diferentes estudios han informado que la actividad de la PPO en frutas como la manzana se encuentra principalmente en el centro de la fruta y de forma secundaria cerca de la cáscara. Así mismo se menciona la relación de la PPO en cuanto a su ubicación dentro de la célula y el momento de maduración de la fruta; siendo que cuando ésta está más madura la PPO se localiza en vacuolas dentro de la célula mientras que en la fruta inmadura se localiza en organelos diversos (Lamikanra, 2002).

En el caso de la manzana conforme avanza en su maduración la actividad de la PPO aumenta en la cáscara y disminuye en la pulpa; sin embargo el tiempo de maduración no es una influencia primordial en cuanto al oscurecimiento de la fruta, mientras que en el pepinillo la PPO su actividad se localiza únicamente en la cáscara, aunque existe actividad oxidativa en la fruta, ésta no es de importancia (Lamikanra, 2002).

3.3.2 Reacciones

Los sustratos más comunes para estas enzimas son compuestos insaturados (monofenoles, o-difenoles, flavonoides, taninos, dihiroxifenilalanina, ácido gálico y otras hidroquinonas, ácido cloragénico y tirosina). Las dos últimas siendo de mayor importancia en alimentos. Las PPO requieren de iones cobre (mono o divalente) como cofactor. El cobre sirve para llevar a cabo la oxidación o reducción reversible en el proceso de hidroxilación y oxidación. En la hidroxilación el Cu^+ es oxidado a Cu^{++} y en la oxidación es reducido (Whitaker, 1994).

Las fenolasas pueden presentar dos tipos de actividad enzimática, fenolhidrolasas o polifenoloxidasas también conocidas como catecolasas, las cuales actúan por medio de

reacciones de adición en las que una molécula de oxígeno es introducida a la molécula insaturada de sustrato que al polimerizarse produce compuestos pigmentados oscuros. La primera reacción requiere de fenoles, de oxígeno y cobre mientras que la segunda no interviene la enzima y es función de la temperatura y el pH. La o-quinonas formadas interaccionan con hidroxiquinonas u otras para formar polímeros. Los sustratos requeridos dependen de la fuente de polifenoloxidasas. Por tanto, la hidroxilación ocurre solo con fenoles con grupo hidroxilo y produce o-difenoles (Ramírez y Whitaker, 1999).

Las frutas y vegetales tienen tejidos biológicamente activos y por tanto tienen muchas enzimas. Después de la recolección, los frutos continúan su respiración y su actividad más común es por parte de las pectinasas, lipasas, peroxidasas, proteasas, polifenoloxidasas entre otras. La acción de estas es muy común cuando el alimento ha sido expuesto a daño físico lo que lo pone en contacto con el oxígeno y la luz, por lo que se empieza a oscurecer debido a las reacciones enzimáticas que dan como producto final pigmentos oscuros o bien melaninas (Badui, 1986).

En las frutas se encuentran de manera natural los sustratos para llevar a cabo las reacciones enzimáticas. El ácido cloragénico, ácido cafeico, ácido protocatequico, catecol, guayacol y resorcinol, son compuestos fenólicos que están en frutas y que permiten que se lleve a cabo las reacciones para formar los compuestos coloridos que varían su color desde un ligero amarillo hasta un café oscuro (Heimann, 1980).

3.3.3 Alimentos que presentan PPO

La PPO se encuentra en semillas de girasol, semillas de café, en manzana, pera, albaricoque, fresa, plátano, fresas, papas, tomate y otras pero no existen en frutos ácidos tales como toronja, naranja, melón y otros (Whitaker, 1994).

Durante el procesamiento de las frutas se presenta la desintegración de la estructura celular, debido a la cual se liberan enzimas endógenas que pueden perjudicar al producto; tal es el caso de las polifenoloxidasas que promueven el oscurecimiento enzimático de jugos, néctares, jaleas y otros derivados de las frutas (Fennema, 1985). Las melaninas formadas por las PPO afectan la venta de estas así como su calidad sensorial y nutricional (Weemas et al, 1999).

3.3.4 Métodos de inhibición

Se han encontrado diferentes métodos para inhibir las PPO como la adición de antioxidantes como ácido ascórbico o dióxido de azufre, la supresión de oxígeno, escaldado, entre otros (Gomes y Ledward, 1996). En la industria generalmente se la ataca con adición de óxido de azufre, ácido ascórbico y cítrico, o bien al evitar su exposición al oxígeno. Se menciona de igual forma la acción del calcio como un inhibidor de la PPO al conservar íntegra la membrana celular, o inhibiendo directamente sobre la misma enzima; esto demostrado hasta el momento en la reducción del oscurecimiento en lechugas (Lamikanra, 2002). El tratamiento de escaldado también es otra alternativa (Whitaker, 1995).

Sólo describiremos de manera concisa el tratamiento térmico y el pH. Estos métodos permiten prolongar la vida útil de un alimento con características organolépticas que los califican como aceptables (San Martín, 1996).

3.3.4.1 Tratamientos térmicos

Cada enzima tiene su temperatura óptima, la cual está usualmente entre 30 y 40°C. Por encima de los 60°C, la mayor parte de las enzimas son desnaturalizadas. Por lo que los tratamientos térmicos son usados para la inactivación de varias enzimas (Heimann, 1980).

En San Martín (1996), clasifican los tratamientos en base a las temperaturas.

- ❖ Tratamientos a bajas temperaturas (40-80°C)
- ❖ Pasterurización (60-85°C)

- ❖ Escaldado (70-105°C)
- ❖ Esterilización (100-130°C)

La inactivación térmica de las enzimas, se da debido al desdoblamiento de las proteínas, las cuales dan estructuras sin actividad catalítica. Para la mayor parte de las enzimas el calentamiento provoca una desnaturalización irreversible.

3.3.4.2 pH

Las enzimas presentan un pH óptimo, en donde presentan su máxima actividad. La actividad enzimática disminuye, de manera irreversible, a pH extremos debido a la desnaturalización proteica (Fennema, 1985). El uso de dióxido de azufre o de sulfitos son métodos usados para inactivar fenolasas.

También se inhibe la actividad con la adición de cantidades suficientes de acidulantes, como ácido cítrico, ácido málico o ácido fosfórico para producir un pH inferior a 3 (Heimann, 1980).

3.3.5 Reactivación de las enzimas

La pérdida de la actividad de las enzimas implica un proceso de desnaturalización, que en ciertas condiciones, puede ser reversible y permitir la regeneración de su poder catalítico (Badui, 1986). La posibilidad de reactivación es menor en cuanto la conformación de esta sea más compleja y mientras más intenso sea el tratamiento aplicado que en puede ser tanto altas presiones, calor y otro mencionados anteriormente.

3.4 Altas presiones

3.4.1 Nuevas tecnologías

La industria de alimentos ha dado lugar al uso de nuevas tecnologías como pulsos eléctricos, microondas, campos magnéticos, irradiación y altas presiones por mencionar sólo algunas ya que está buscándose la reducción de procesos térmicos para la preservación de productos alimenticios. Estos procesos no térmicos se están diseñando y aplicando en la industria de alimentos para conservación (Mertens y De place, 1993).

Los factores que influyen en la estabilidad del alimento como el pH, potencial redox, la flora competitiva, actividad de agua, la existencia de agentes anti, y procesos utilizados son importantes para llegar a un producto final deseado considerando las variables y la combinación de estos (Mertens y De place, 1993).

Debido a la demanda de los consumidores por alimentos de calidad, sin compuestos químicos pero con una larga vida de anaquel las altas presiones son una opción factible. Las altas presiones (AP) son una operación unitaria para la conservación de alimentos que ha tomado la atención de muchas industrias (Weemas et al., 1998).

3.4.2 Historia

Bert Hite, fue un químico quien decidió explorar las posibilidad de adaptar las altas presiones a los alimentos como un método de conservación. Diseñó en 1899 una máquina capaz de alcanzar 680 MPa. Estudió la posibilidad de adaptarlo a alimentos y bebidas, así como a la inactivación de virus (Hoover, 1993).

En el siglo XX se hicieron intentos para investigar la aplicación de altas presiones hidrostáticas en alimentos. En 1914, Dridgman trató de desnaturalizar las proteínas en los huevos. En 1965, Timson y Short vieron el efecto de las altas presiones sobre los microorganismos en leche cruda. En 1924 Cruess indicó que las altas presiones serían un método de conservación

para jugos y alimentos procesados debido a sus beneficios (Hoover, 1993). En 1980, Elgasim y Kenick trabajaron en el efecto de presiones sobre la calidad de la proteína de res (Aguilar, 2003).

En 1991, Japón lanza al mercado productos derivados de frutas tratados con altas presiones hidrostáticas (APH) (Knorr, 1993). En 1997 sale un artículo en el Food Technology informando del primer producto comercial tratado con altas presiones en Estados Unidos siendo de gran calidad. Actualmente se está estudiando sus efectos en un gran número de productos así como en las raciones militares (Mermelstein, 1997) ya que cada vez las AP son consideradas como un método de conservación eficaz.

Hoy en día, en el mercado existen una gama de productos como guacamole, jamón, yogures de frutas, carnes, mariscos y otros que son tratados con altas presiones como medio de conservación más no de esterilización (Guerrero et al., 2005a).

3.4.3 Base teórica

La industria de alimentos usa equipo de altas presiones isoestática, es decir, la presión se aplica de forma uniforme (Guerrero, et al., 2005 a). Se basa en el principio de Pascal, el cual dice que las altas presiones hidrostáticas actúan de manera homogénea, uniforme e inmediata en todo el producto independientemente de su geometría o tamaño (Aguilar, 2003).

Por lo tanto, se puede concluir que se basa en dos principios:

- ❖ Principio de Le Chatelier, que consiste en el decremento del volumen a medida que la presión aumenta
- ❖ La presión se transmite instantánea y uniformemente sin importar el tamaño ni la geometría del alimento (Anese et al., 1995).

El principio de Le Chatelier-Braun establece que los cambios en la presión y temperatura causan cambios en la energía y el volumen. Estas variables son dependientes de la magnitud de de presión, temperatura y en propiedades fisicoquímicas del sistema tales como la compresibilidad. Si X es la cantidad de una característica en equilibrio o la velocidad de un proceso, entonces la influencia de la temperatura y la presión están dadas por lo siguiente:

$$\left(\frac{\delta \ln X}{\delta T}\right)_P = \left(\frac{\text{Energía}}{RT^2}\right)$$

Ec.3

$$\left(\frac{\delta \ln X}{\delta P}\right)_T = \left(\frac{\text{Volumen}}{RT}\right)$$

Ec.4

Mediante el uso de estas ecuaciones se puede evaluar la cinética y termodinámica para la interpretación de los efectos de presión y temperatura en equilibrio así como la velocidad del proceso (Heremans, 2001).

3.4.4 Equipos

Los equipos funcionan en tres etapas:

1. Incremento de la presión
2. Mantener un tiempo dado esta presión
3. Despresurización

En la actualidad, los tipos de presiones mas utilizadas en los estudios son, las altas presiones hidrostáticas (APH) y las altas presiones dinámicas (APD) (Cubas, 2002). Las altas presiones pueden ser obtenidas por dos maneras: sistemas de compresión directa e indirecta. (Guerrero, et al. 2005a).

El las altas presiones hidrostáticas el tiempo de ciclo es determinado por el que se requiere para manejar al producto, la carga y descarga del equipo, el abrir y cerrar del recipiente, el tiempo en que se sostendrá la presión y la despresurización (Palou et al., 1999 a)

3.4.5 Procesos

El proceso de altas presiones o también llamados de ultra-altas presiones es un método que permite conservar los alimentos sin tratamientos térmicos, de refrigeración, químicos o exposición a radiación. Este proceso tiene un rango de presiones de 410 a 690 MPa en un periodo muy corto de tiempo (Mermelstein, 1997). Sin embargo, un rango de de 100 a 1000 MPa es de adecuado para preservación de alimentos (Guerrero et al., 2005 a).

El uso de altas presiones es una tecnología emergente que ayuda a la conservación de alimentos dando calidad a productos sensibles al calor, reduciendo su cuenta microbiana, inactivando enzimas y reteniendo sabor y color en el alimento (Palou et al., 1999b). Esta tecnología deja al alimento casi sin ningún cambio en su calidad sensorial o nutrimental (Weemas et al., 1998).

El uso de altas presiones tiene ventajas respecto a otros métodos al mantener la calidad del alimento, reteniendo también vitaminas y pigmentos (Guerrero et al., 2005 a). Así como ventajas económicas y ambientales ya que tienen un bajo consumo de energía y no contaminan el ambiente (Gomes y Ledward, 1996).

El proceso de altas presiones hidrostáticas es un tratamiento térmico mínimo que la tecnología aplica a los productos a temperatura ambiente (Guerrero et al., 2005 a).

3.4.5.1 Altas presiones hidrostáticas (APH)

La APH es una tecnología propuesta recientemente que utiliza presiones hasta 1500 MPa. Es una técnica que consiste en la aplicación de presión por medio fluido hidráulico como medio de presurización, sin embargo, el uso de agua potable es preferible debido a su compatibilidad con el alimento, su fácil operación y baja compresibilidad (Asaka y Hayashi, 1991).

El equipo debe contar con un recipiente de altas presiones y su tapa, un sistema de generación de presión, control de temperatura y un sistema para el manejo del material. El recipiente de presión es lo más importante del sistema, generalmente es cilíndrico construido de una aleación de acero con un espesor adecuado para resistir la presión máxima y el número de ciclos para la que fue diseñado (Mertens y Knorr, 1992).

Su funcionamiento es fácil, el producto a tratar se introduce en el recipiente y luego este es cerrado, se llena con el medio transmisor de presión y el aire es removido del recipiente (con una válvula automática de deaereación) para finalmente transmitir la presión del medio con lo que la alta presión hidrostática es generada (Mertens y Knorr, 1992).

En la industria de alimentos, la presión típica utilizada se encuentra en un rango de 100-500 MPa durante 5-10 min a temperatura ambiente (Cubas, 2002). La presión por si misma causa un incremento de temperatura del alimento por calentamiento adiabático por lo que se requiere tiempos cortos de proceso (Cubas, 2002).

Las altas presiones son procesos intermitentes o semicontinuos que causan inactivación microbiana, modificación en reacciones químicas y enzimáticas así como el cambio en la estructura y funcionalidad de los biopolímeros. Durante los tratamientos de altas presiones, la fuerza mecánica produce una deformación en los sólidos, especialmente en productos porosos (Palou et al., 1999a).

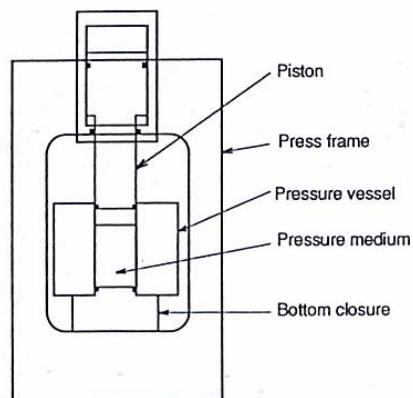


Figura 2. Diagrama de equipo de altas presiones hidrostáticas.

3.4.5.2 Altas presiones dinámicas (APD)

La APD u homogenización a alta presión es una tecnología desarrollada principalmente para la estabilización de productos y emulsiones lácteas (Hoover, 1993). El método indirecto o de las altas presiones dinámicas consiste en la presurización directa con un pistón. El pistón con un extremo de diámetro pequeño y otro grande. La parte pequeña genera presión en el medio y en el diámetro mayor del pistón hay una bomba que va ejerciendo presiones bajas. Este solo es posible usarlo en plantas pilotos o laboratorio debido a su configuración mecánica.

El líquido es forzado a pasar por una tubería angosta a altas velocidades y presiones. Una bomba de presión intensifica la presión del medio a través de un sistema de tuberías que van al contenedor hasta llegar a la presión deseada (Cubas, 2002). El calentamiento de la presión del medio usa la expansión de la presión del medio al aumentar la temperatura lo que genera altas presiones. Esta es usada cuando se combinan las APD con el tratamiento térmico lo que implica exacto control de la temperatura (Paulou et al., 1999 a).

La ADP se aplica mediante procesos mecánicos sobre líquidos, la presión es aplicada por una válvula ajustable incrementando los fenómenos reológicos como la caída de presión,

cavitación, turbulencia y colisión en la superficie estacionaria, provocando la reducción del tamaño de los glóbulos de grasa y la homogenización (Cubas, 2002).

Debido a que en la homogenización con alta presión las bacterias sólo son expuestas a la presión por un periodo de tiempo muy corto (unos cuantos segundos) se han propuesto recirculaciones sucesivas para así conseguir un efecto aditivo (Rugiero, 2005).

3.4.6 Generación de calor en equipos de altas presiones

Las altas presiones pueden ser generadas por compresión directa o indirecta así como también por el calentamiento de la presión del medio (Palou et al., 1999 b). Por tanto, los equipos pueden ser clasificados de acuerdo a la manera en la que generan calor o las temperaturas usadas en el proceso isoestático.

Procesos:

Presurizado isostático frío: Es una técnica en la que se trabaja a temperatura ambiente y se usan fluidos como agua o aceite. El rango de presiones usadas va de 50 a 600 MPa.

Proceso isostático tibio: La presión es aplicada de manera uniforme en combinación con temperaturas que van desde temperatura ambiente hasta 250° C. Esta es común cuando se desarrollan reacciones químicas durante el proceso.

Proceso con temperaturas elevadas: Es usado en la industria metalúrgica y las que trabajan cerámica. Emplea temperaturas de 2000 a 2200°C y con presiones de 100 a 140 MPa. El medio que genera la presión es argón, nitrógeno, helio o aire (Mertens y Deplace, 1993).

3.4.7 Variables del proceso

La efectividad del proceso depende de varios factores:

- ❖ Número de ciclos
- ❖ Tiempo de cada ciclo

- ❖ Volumen del producto
- ❖ Magnitud de presión aplicada
- ❖ Temperatura
- ❖ pH, actividad de agua, concentración de sal en los productos
- ❖ Composición del medio
- ❖ Tiempo requerido para alcanzar la presión deseada (Guerrero et al., 2005 a).

3.5 Efectos de las altas presiones

La tecnología de las altas presiones se ha propuesto recientemente en las industrias de alimentos debido a su efectividad. En los estudios hechos se ha demostrado que son útiles para:

- ❖ Inactivar microorganismos
- ❖ Modificar biopolímeros
- ❖ Formar geles
- ❖ Inactivar o activar enzimas
- ❖ Retener atributos sensoriales
- ❖ Retener calidad
- ❖ Cambiar funcionalidad del producto (Guerrero et al., 2005 a).

3.5.1 Efectos en los microorganismos

La inactivación de los microorganismos se debe a dos razones principalmente: al daño en la célula y la desnaturalización de proteínas (Guerrero et al., 2005 b). Al ser sometidos los microorganismos a altas presiones se producen cambios en la morfología, en los mecanismos genéticos, el metabolismo, las reacciones bioquímicas, en las membranas celulares y en las esporas del organismo.

Lechowich (1993) menciona que la membrana celular es el primer sitio de daño originado por la presión siendo este la causa de muerte microbiana. La membrana celular juega un papel importante en el transporte y la respiración. Durante la despresurización la membrana celular es dañada o rota aumentando así la permeabilidad y con ello la pérdida de contenido intracelular que es una de las causas principales de la muerte celular. De igual manera, la presión afecta la estructura de la célula y se desnaturalizan las proteínas que se encuentran en las membranas rodeadas de lípidos, con lo que se pierde la funcionalidad de la membrana (Guerrero et al., 2005 b).

La resistencia de los microorganismos a las altas presiones es muy variable, Las AP son útiles en la inactivación microbiana, siendo las células Gram-positivas más resistentes que las negativas y las esporas más resistentes que las células vegetales. Las células vegetativas en fase de crecimiento exponencial, los hongos y las levaduras son muy sensibles a la aplicación de las altas presiones, mientras que los virus son más resistentes. Por otro lado, las esporas bacterianas pueden soportar hasta 1000 MPa (Cubas, 2002).

La tecnología conocida como pasterización en frío, ha demostrado recientemente ser efectiva en la inactivación de *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* en leche. La tecnología de APD ha usado presiones de 200 MPa con 3 recirculaciones para la eliminación completa de las bacterias Gram negativas así como 300 MPa y 3 recirculaciones se eliminó completamente la *Listeria* (Hoover, 1993).

3.5.2 Efectos en las esporas

Las esporas son muy resistentes a las temperaturas, radiación, homogeneización y presión. Los microorganismos mueren a presiones de 100 MPa mientras las esporas pueden llegar a sobrevivir más de 1200 MPa. Se cree que esto se debe a las capas que protegen las esporas.

Sin embargo, las altas presiones pueden causar la germinación de las esporas (Lechowich, 1993). Causando daño a los alimentos si estos no son destruidos.

3.5.3 Efectos de las enzimas

Las altas presiones modifican la estructura de las proteínas cambiando el comportamiento enzimático (Gomes y Ledward, 1996). La integridad de la membrana es afectada con las altas presiones causando desnaturalización de enzimas que son importantes en el metabolismo de los microorganismos (Guerrero et al., 2005 b). Las proteínas pueden ser desnaturalizadas y los enlaces de hidrógeno se estabilizan, sin embargo, las interacciones proteína – proteína son desestabilizadas por las altas presiones a las que son sometidas. Los enlaces covalentes no son afectados, mas bien afecta los no covalentes, iónicos e hidrofóbicos. Estas interacciones pueden llevar a formación de geles, aglomeraciones u otros por parte de las mezclas de polímeros (Guerrero et al., 2005 a).

Los efectos de los tratamientos con altas presiones en las enzimas pueden relacionarse con cambios reversibles e irreversibles en la estructura de la proteína. La pérdida de actividad catalítica puede ser diferente considerando el tipo de enzima, sustrato y otros aspectos (Anese et al., 1995).

Por otro lado, se han estudiado los extractos de enzimas y han observado que son más resistentes que las propias enzimas en su estado natural en frutas o vegetales (Guerrero, et al. 2005 a). En general, se asume que en un pequeño cambio en la presión induce a cambios reversibles de las proteínas, como disociación de proteínas en subunidades o desdoblamiento parcial de las estructuras monoméricas. Las presiones mayores a 500 MPa generalmente causan desnaturalización irreversible debido a las interacciones hidrofobas debilitadas y la ruptura intramolecular (Anese et al., 1995).

3.5.4 Efectos en propiedades fisicoquímicas

El agua en los alimentos se encuentra formando parte de soluciones acuosas de proteínas, carbohidratos entre otros. Al aplicar una presión se afectan las propiedades del agua, se comprime reduciendo su volumen, por lo que aumentan su densidad y disminuyen el coeficiente de difusión de los solutos influyendo en la velocidad de reacción, ayudando a conservar más tiempo el alimento (Rugerio, 2005).

En los lípidos las altas presiones incrementan el punto de fusión de los triglicéridos y modifican la capa de los fosfolípidos provocando su cristalización y cambiando la permeabilidad de las membranas celulares.

Cuando una proteína se somete a altas presiones ocurren dos fenómenos; en el primero se produce el rompimiento de los enlaces de hidrógeno y la ruptura de interacciones hidrofóbicas y el segundo favorece la disociación del grupo ácido de las cadenas de aminoácidos laterales; en general las modificaciones que tiene la proteína ayuda a su capacidad funcional (Cubas, 2002).

En general, las altas concentraciones de sal, glicerol, azúcar y otros constituyentes tienen un efecto protector sobre las células (Cubas, 2002). En cuanto a la actividad de agua, se ha observado que la disminución de esta tiene un efecto baroprotector hacia algunas células. Cuando se aplica alta presión y la actividad de agua (a_w) del medio se reduce, el microorganismo sufre una deshidratación parcial (Palou et al., 1999b), demostrando así que la actividad de agua (a_w) tiene una influencia más grande que el pH en los tratamientos de altas presiones.

El pH del medio, favorece la inactivación microbiana durante el tratamiento de alta presión e inhibe el tratamiento de células dañadas sub letalmente por la presión. La presión produce mas daño a las células cuando el pH del medio es ácido que cuando es neutro. Normalmente la aplicación de alta presión causa una reducción del pH del medio ya que la presión favorece la ionización (Cubas, 2002).

3.6 Efectos de las altas presiones en la PPO

Las reacciones enzimáticas causadas por la PPO son un gran problema para alimentos donde son indeseables, principalmente en frutas y verduras. Las presiones requeridas para inactivar las enzimas dependen del sustrato y de condiciones de proceso. Se han hecho especulaciones de las presiones usadas para inactivar a la PPO son mayores de 800 MPa (Gomes y Ledward, 1996). Palou (1999 a) sin embargo, menciona que las presiones mayores a 700 MPa son requeridas para la inactivación total de la PPO. No se ha encontrado una literatura que reporte la completa inactivación de la PPO con el uso de presiones pero si en combinación con otros métodos (Gomes y Ledward, 1996).

Dada la resistencia de la polifenoloxidasas, se ha usado desde hace tiempo como un indicador de eficiencia de tratamientos (Badui, 1986). Las altas presiones hidrostáticas requeridas para inactivar la polifenoloxidasas son mayores a la requerida para inactivar células microbianas en estado vegetativo (Palou et al., 1999b).

Se mencionaran algunos de los estudios hechos sobre la PPO y los niveles para su inactivación. Se estudio la PPO presente en manzanas y peras con tratamientos de 300 a 900 MPa por 10 minutos, y se observo que no hubo inactivación completa (Anese et al., 1995). Las PPO presentes en los champiñones y aguacates son extremadamente resistentes. Palou et al. (1999 b) encontraron que en el puré de guayaba tratado con altas presiones en un rango de presión entre 400 y 600 MPa por 15 minutos a 25°C observaron la inactivación de

polifenoloxidasa, en un intervalo del 86 al 63%, el color del puré fue similar al del puré fresco y estable por 40 y 20 días a 4° C a 400 y 600 MPa respectivamente.

Al tratar las frutas y verduras con altas presiones se usan es presentación de purés, pulpas, jugos o néctares ya que se colapsan y se expanden al ser tratadas con APH. Se observa que después de ser tratadas las frutas y vegetales como (peras, papas, manzanas) se oscurecen al poco tiempo de haber sido tratadas con APH. Esto es un fenómeno desfavorable de la PPO ya que las presiones a las que fue sometida no son suficientes para desnaturalizar a las proteínas (Asaka y Hayashi, 1991).

Palou et al. (1999a) menciona la notable reducción de la actividad enzimática de la PPO cuando se combina con calor o pH bajos. El efecto sinérgico de las presiones altas con la temperatura es favorable para la inactivación de la tirosinasa (Mertens y Knorr 1992).

3.7 Métodos combinados

La demanda de los consumidores por alimentos con el menor uso posible de aditivos ha abierto nuevas oportunidades y un gran campo de investigación para nuevas tecnologías. Esto es un reto para la industria de alimentos, sin embargo, en el caso de alimentos ácidos es difícil obtener resultados favorables sin el uso de métodos combinados (Palou, 1999a).

Los tratamientos combinados de altas presiones con otros tratamientos físicos o agentes químicos basados en el concepto de la tecnología de obstáculos ha sido probada y aplicada para aumentar la seguridad y vida de anaquel de los alimentos, generalmente con un efecto destructivo mayor que la del tratamiento solo (Ruggerio, 2005).

3.8 Seguridad de alimentos tratados con altas presiones

El interés por las altas presiones como método de conservación por parte de las industrias de alimentos ha ido en aumento debido a la calidad obtenida de productos después de empacados (Lechowich, 1993). La calidad involucra los efectos de la presión en enzimas, microorganismos, esporas y otras (Hoover, 1993).

Las altas presiones son usadas de manera comercial desde el siglo pasado en algunos productos procesados como jamones, comidas ácidas y jaleas. Y aun cuando estos productos presenten cierta estabilidad por su pH bajo o su contenido de azúcares se les aplica un proceso de conservación con altas presiones para garantizar la seguridad.

Se han hecho estudios y se sigue estudiando el efecto de altas presiones en enzimas y su posible reactivación, cambios de nutrientes, así como efecto de temperatura (Lechowich, 1993). Se ha sugerido que el uso de presiones mayores a 100 MPa podía ser excedido para los alimentos procesados, sin embargo, un límite superior de 400 MPa podría resultar práctico para uso comercial (Hoover, 1993). Mertens y Knorr (1992) destacan que la calidad de los alimentos puede ser incrementada al combinar las altas presiones con otros procesos.

Los productos tratados con AP han sido bien aceptados por el consumidor. El uso de las AP es un método adecuado para asegurar la calidad de los productos finales sin embargo, algunos factores deben ser tomadas en cuenta durante el proceso como lo son la temperatura inicial, periodo de procesamiento, tiempo requerido para descompresión, tiempo para enfriar el producto y otros (Guerrero et al., 2005 a).

3.9 Activación de las enzimas tratadas con altas presiones

Se ha observado que después de un tiempo de almacenamiento los alimentos tratados con altas presiones presentan oscurecimiento enzimático debido a las enzimas. Lo que indica que las actividades enzimáticas se activan y esto es atribuido a la configuración reversible del sustrato y/o

enzimas. Otra opción es la presencia de la coenzima afectadas por diferentes pH óptimos (Guerrero et al., 2005 a).

El efecto de las altas presiones en enzimas está relacionado a los cambios de la estructura de las proteínas. Existe evidencia de reducción en el potencial catalítico de algunas enzimas, al cambiar es sustrato o produciendo cambios en cuanto a su conformación; por otra parte, se ha observado que las altas presiones pueden estabilizar algunas enzimas o incluso, incrementar las reacciones enzimáticas. Se han hecho estudios para la aplicación de altas presiones en productos diversos (Palou et al., 1999a).

En la industria muchas veces se usan enzimas como índices de calidad, por lo que la inactivación irreversible de ellas es una connotación de un buen tratamiento. Al someter enzimas a altas presiones puede ocurrir tanto la inactivación como la activación.

Anese et al (1995) reportan que la desnaturalización e inactivación de enzimas ocurre cuando se aplican tratamientos de alta presión. Los efectos de activación pueden presentarse relativamente a bajas presiones (100 a 300 MPa), debido a las reacciones reversibles o a los cambios conformacionales en las enzimas o en el sustrato. La reactivación después de la descompresión depende del grado de distorsión de la molécula. Los cambios en la reactivación decrecen con el incremento de presión arriba de 300 MPa (Palou et al., 1999b).

3.10 Otros aspectos

Existen diferentes tecnologías para evitar las reacciones enzimáticas dadas la poca aceptabilidad de los tratamientos térmicos. Los tratamientos térmicos llegan a dañar la consistencia y textura final del alimento por lo que se buscan métodos alternativos de conservación.

Los consumidores cada día piden alimentos seguros, estables, con el menor procesado posible y sin aditivos por esto las altas presiones han resultado una solución para la industria de alimentos (Weemas et al., 1998).

Actualmente los métodos como irradiación, altas presiones, luz UV, pulsos eléctricos, otros han tenido mucho auge debido a que la degradación por parte de la temperatura es poca. El comprar el equipo es muy costoso pero aseguran alimentos de alta calidad.

Las nuevas tendencias en el área de alimentos está permitiendo la búsqueda de mejores tecnologías para conservar los alimentos, así como las preferencias de los consumidores por alimentos sin aditivos y de mayor valor nutricional, así como el mayor ahorro energético dentro de las industrias (Lechowich, 1993).