

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
TINGO MARÍA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Departamento Académico de Ciencia, Tecnología  
e Ingeniería de Alimentos**



**“Obtención de Zumo de Cócona (*Solanum topiro*) mediante  
el uso de la Enzima Poligalacturonasa”**

**T E S I S**

**Para optar el Título de:**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**JUAN FRANCISCO ROBLES RUIZ**

**TINGO MARÍA - PERÚ  
2001**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
Tingo María  
FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

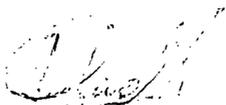
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 01 de marzo del 2001, a horas 5:00 pm., en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentada por el Bachiller en Ciencias Industrias Alimentarias: **Juan Francisco ROBLES RUIZ**.

“Obtención de Zumo de Cocona (*Solanum topiro*) Mediante el Uso de la Enzima Poligalacturonasa”

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, la declaran aprobada con el calificativo de **Bueno**, en consecuencia el Bachiller: **Juan Francisco ROBLES RUIZ**, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art.22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 43° y 45° del Estatuto y los artículos 95° y 96° del Reglamento General de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, marzo 02 del 2001

  
Blgo. Julio Giraldo Huayta  
Presidente



  
Ing. Jorge Castro Gracey  
Vocal

  
Ing. Pedro Peláez Sánchez  
Asesor

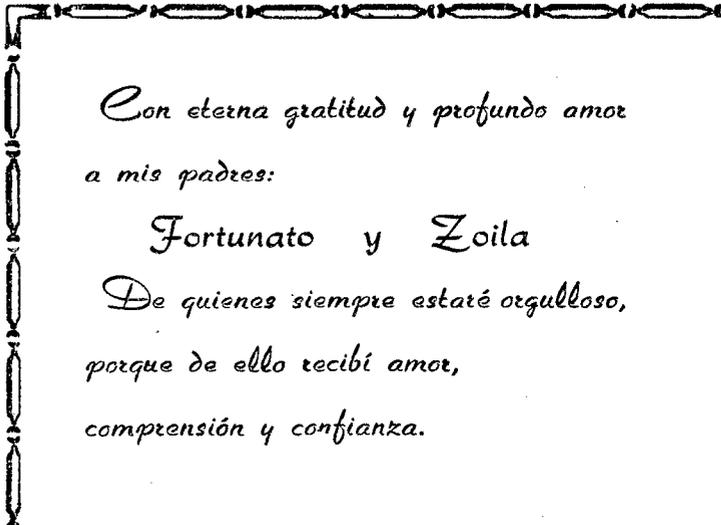


## *A Dios*

*Autor y consumador de nuestra fé, que en su sublime amor y gracia infinita nos protege a lo largo de nuestro caminar por este mundo y nos dá la fortaleza necesaria para seguir adelante.*

*A El lo pido que acreciente cada día en mi la vocación de servicio e ilumine mi entendimiento para comprender y hacer comprender que El es la luz y la vida.*





*Con eterna gratitud y profundo amor  
a mis padres:*

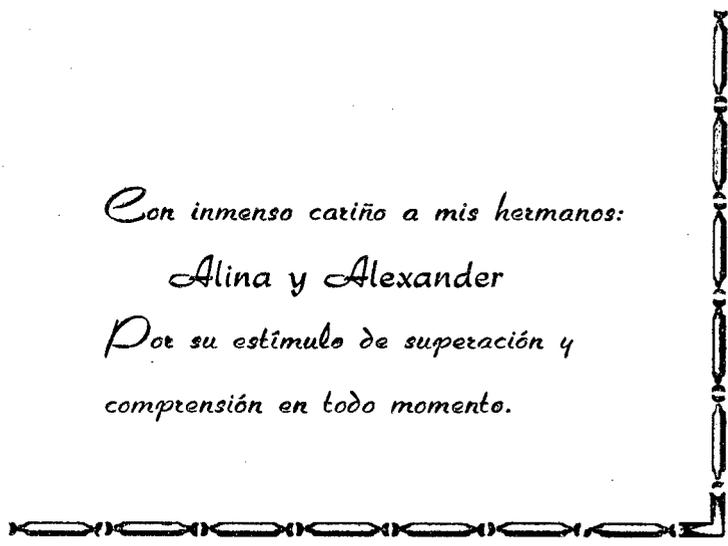
*Fortunato y Zoila*

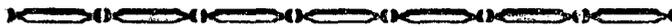
*De quienes siempre estaré orgulloso,  
porque de ello recibí amor,  
comprensión y confianza.*

*Con inmenso cariño a mis hermanos:*

*Alina y Alexander*

*Por su estímulo de superación y  
comprensión en todo momento.*

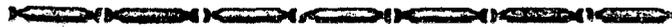




*Con profundo amor a:*

*Gessy*

*Por su cariño, comprensión, apoyo  
incondicional y aliento para  
seguir adelante.*



## **AGRADECIMIENTO**

Al Ing. MSc. Pedro Pablo Peláez Sánchez, patrocinador del trabajo de Investigación.

A los docentes de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria de la Selva - Tingo María por las enseñanzas talladas en mi persona que permitieron la culminación de la presente investigación.

A todas las personas que colaboraron desinteresadamente en la realización del presente trabajo.

# INDICE

## RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN BIBLIOGRAFICA	3
	A. Antecedentes sobre trabajos realizados con cocona	3
	B. Aspectos generales de la cocona	5
	1. Clasificación taxonómica	5
	2. Descripción botánica	5
	3. Variedades	6
	4. Características del cultivo	6
	5. Producción de cocona a nivel nacional	6
	6. Características fisicoquímicas de la cocona	8
	7. Índices de madurez	9
	C. Enzimas	9
	1. Definición	9
	2. Clasificación de las enzimas	10
	a. Oxidoreductasas	10
	b. Transferasas	10
	c. Hidrolasas	11
	d. Liasas	11
	e. Isomerasas	11
	f. Ligasas	11

3.	Factores que afectan la actividad Enzimática	11
a.	Efecto de la temperatura	12
b.	Efecto del pH y el estado iónico	13
c.	Efecto de la humedad	14
d.	Efecto de las radiaciones	14
e.	Sitio activo y especificidad Enzimática	15
f.	Efecto del tiempo	16
g.	Efecto de la concentración del sustrato	17
h.	Efecto de la concentración de la enzima	17
4.	Enzimas pécticas o pectinasas	17
a.	Poligalacturonasa	19
b.	Pectin esterasa	20
c.	Petin Liasa	20
D.	Elaboración de Zumos	21
1.	Definición	21
2.	Requisitos generales	21
3.	Operaciones en la elaboración de zumos	22
4.	Envases de vidrio	24
5.	Tipos de tapas	24
E.	Empleo de enzimas en el procesamiento de frutas	25
1.	Extracción de jugos	25
2.	Generalidades sobre pectinas y sustancias pécticas	26
3.	Influencias de pectinas sobre pulpas y turbidez de los zumos de frutas	27

F.	Aspectos Reológicos de pulpas y zumos de frutas	30
1.	Reología	30
2.	Viscosidad	30
3.	Tipos de fluidos alimentarios	30
a.	Fluido newtoniano	31
b.	Fluido pseudopástico	32
III.	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	33
A.	Materia prima e insumos	33
1.	Materia prima	33
2.	Enzima Poligalacturonasa	33
B.	Equipos, materiales y reactivos	33
1.	Equipos de laboratorio	33
2.	Materiales de laboratorio	34
3.	Reactivos y soluciones	35
4.	Envases	36
C.	Métodos de análisis	36
1.	Caracterización de la materia prima	36
a.	Determinaciones físicas	36
b.	Análisis físico químico	36
c.	Análisis físico químico	37
2.	Actividad Enzimática de la Poligalacturonasa (PG) y Obtención de zumo	38
a.	Actividad Enzimática	38
b.	Obtención de zumo	40

3.	Viscosidad de la pulpa y el zumo	41
4.	Caracterización del zumo y almacenamiento	41
D.	Metodología experimental	41
1.	Índices de madurez y caracterización de la cocona	42
2.	Actividad Enzimática de la Poligalacturonasa (PG) y obtención del zumo	42
a.	Actividad enzimática de la poligalacturonasa	42
b.	Obtención de zumo	42
1).	Acondicionamiento de la pulpa	42
2).	Tratamiento enzimático	45
3).	Obtención del zumo.	45
3.	Aspectos Reológicos de la Pulpa y el Zumo	49
4.	Caracterización del zumo y almacenamiento	49
a.	Análisis físico químico del zumo de cocona	49
b.	Análisis microbiológico	49
c.	Evaluación sensorial	50
E.	Diseño Experimental.	50
1.	Tratamiento Enzimático.	50
F.	Análisis Estadístico	50
IV.	<b>RESULTADO Y DISCUSIONES.</b>	53
A.	Indices de madurez y caracterización de cocona	
	Seleccionada	53
1.	Índice de Madurez	53
2.	Caracterización de la Cocona	59

a.	Determinación físicas	59
b.	Análisis químico proximal	60
c.	Análisis físico químico de la cocona	60
B.	Actividad Enzimática de la Poligalacturonasa (PG) y obtención del Zumo	62
1.	Actividad Enzimática	62
2.	Obtención del Zumo	65
a.	Acondicionamiento de la pulpa	65
b.	Tratamiento enzimático de la pulpa	65
c.	Diagrama de flujo final y balance de materia	73
1).	Diagrama de flujo y balance de materia	73
C.	Aspectos Reológicos de la Pulpa de cocona	77
D.	Caracterización del zumo y almacenamiento	79
1.	Análisis físico químico	79
2.	Análisis sensorial	81
3.	Análisis microbiológico	82
V.	<b>CONCLUSIONES</b>	84
VI.	<b>RECOMENDACIONES</b>	85
VII.	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	86
VIII.	<b>ANEXOS</b>	92

## ÍNDICE DE TABLAS

### Tabla

1. Producción mensual de cocona, según Región	7
2. Composición físico-química de la cocona	8
3. Característica de cinco grados de madurez de cocona tipo amaroñado	53
4. Medidas biométricas promedio de la cocona tipo amaroñado	59
5. Análisis químico proximal de la cocona madura	60
6. Características físicas químicas de la cocona en 100g de parte comestible	61
7. Resultados experimentales para la determinación de la actividad enzimática de Poligalacturonasa ( PG)	62
8. Rendimiento de zumo extraído por acción Enzimática de la PG sobre la pulpa	67
9. Análisis de Varianza para el rendimiento de zumo extraído, por acción de la Poligalacturonasa	68
10. Promedios ordenados de la prueba de Tukey al 95 por ciento de confianza para el rendimiento de zumo	69
11. Rendimiento de zumo de pulpa de cocona, empleando diferentes concentraciones de enzimas PG a 50° y 90min	72
12. Resultados de la prueba de pectina y almidón	72
13. Balance de materia y rendimiento por operación durante la obtención de zumo de cocona, en base a 100 kg	76

14. Análisis Físico – químico del zumo de cocona durante el almacenamiento	80
15. Resultados de la Evaluación sensorial del zumo de cocona, almacenadas a 60 días	81
16. Análisis Microbiológico del zumo de cocona durante el Almacenamiento	83
17. Análisis de varianza de los rendimientos de zumo de pulpa de cocona por porcentaje de enzima	94
18. Prueba de Rangos múltiples para el rendimiento de la pulpa de cocona por porcentaje de enzima	94
19. Resultados de la Variación de la viscosidad de la pulpa de cocona en el tratamiento enzimático	95
20. Resultados para el diagrama reológico de la pulpa de cocona antes del tratamiento con PG	96
21. Resultados para el diagrama reológico de la pulpa de cocona después del tratamiento con PG	97

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Figura

1. Estructura química del ácido poligalacturónico con localización del sitio de acción Enzimática de la poligalacturonasa ( PG), de la pectin esterasa (PE), de la pectin liasa (PL) 18
2. Medición de la acción de la enzima por el cambio de la viscosidad relativa y test de alcohol 29
3. Diagrama de bloques para el acondicionamiento de la pulpa de cocona 43
4. Diagrama de bloques definitivo para la obtención de zumo de cocona mediante hidrólisis Enzimática de la pulpa. 48
5. Diagrama del diseño experimental para el tratamiento enzimático. 52
6. Variación del contenido de humedad 56
7. Variación del contenido de sólidos solubles 56
8. Variación de la relación Pulpa/ Cáscara. 57
9. Variación del pH. 57
10. Variación de la acidez titulable 58
11. Actividad Enzimática de la Poligalacturonasa (PG) 64
12. Diagrama de bloques para el acondicionamiento de la pulpa de cocona 66
13. Diagrama de bloques para la obtención de zumo de cocona, mediante hidrólisis Enzimática de la pulpa 74
14. Variación de la viscosidad de la pulpa de cocona, por acción de la poligalacturolosa (PG) 78
15. Diagrama reológico de la pulpa de cocona antes y después del tratamiento enzimático 78

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad Nacional Agraria de la Selva Tingo María y la Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo. Se tuvo como objetivos: seleccionar y caracterizar un determinado estado de madurez de la cocona y determinar el efecto enzima poligalacturonasa (PG) sobre la pulpa para obtener el mayor rendimiento de zumo, el cual fue caracterizado física química, microbiológica y sensorialmente durante el almacenamiento.

Se evaluó cinco estados de madurez de cocona (*Solanum tojiro*) que comprendió de verde hasta maduro; seleccionándose el fruto maduro, el cual fue utilizado para el tratamiento enzimático y la obtención de zumo. Este estado presentó un índice de madurez de 6,0 con un contenido de humedad de 92,78 por ciento, carbohidratos 4,2 por ciento y proteínas 1,74 por ciento.

La actividad de la PG fue de 292 U/ml a 30°C y pH 5,0, utilizando el método iodimétrico. El mejor resultado se obtuvo al hidrolizar la pulpa con 0,03 por ciento de PG a 50°C/90 min, con el cual se logró un rendimiento de 83,39 por ciento después del prensado y 78,86 por ciento después del centrifugado, en base a la pulpa acondicionada.

El zumo fue almacenado en frascos de vidrio transparente de 180 ml por 60 días a temperatura ambiente y refrigeración; seleccionándose como más estable los zumos almacenados a refrigeración (4°C), caracterizándose sensorialmente como bueno, en los atributos sabor y aroma y presentando un color amarillo claro.

## ABSTRACT

The present research is accomplished in laboratories of the university: Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María and the university: Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo-Perú.

It having as objective to select and to characterize a given maturity state of the cocona fruit (*Solanum topiro*) and to determine the enzyme effect polygalacturonase (PG) on the pulp in order to obtain the greater juice yield, the one which was characterized chemical, physical, microbiology and sensorial during storage.

It is evaluated five ripe states of cocona fruit from green until ripe; it was select the ripe fruit which was used for the enzyme treatment and the obtention off juice. This state presented a maturity index of 6,0 with a moisture content of 92,78 percent, carbohydrates 4,2 percent and proteins 1,74 percent.

The activity of the PG was of 292 U/ml at 30°C and pH 5,0 using iodimetric method.

The best result was obtained to hydrate the pulp with 0,03 percent of PG at 50°C during 90 minutes; with this procedures were obtain a yield of 83,39 percent after pressed and 78,86 percent after to the centrifuged, in base to the conditioned pulp.

The juice was stored in transparent glass flasks of 180 ml during 60 days at room temperature and refrigeration; they were selected as more stables the juices stored at refrigeration (4°C) characterized sensorial as good in the flavor attributes and the aroma and presenting a clear yellow color.

## I. INTRODUCCIÓN

La amazonía peruana presenta una considerable producción de frutos de distintas especies y variedades, las cuales constituyen un desafío para el hombre ya que la gran demanda de alimentación hace pensar en buscar la tecnología necesaria para poder aprovecharlas, y permitir un mayor aprovechamiento del fruto; lo cual puede incidir en los índices de producción agrícola beneficiando al agricultor de la zona.

La cocona (*Solanum topiro*), un frutal nativo dentro de la gran variedad de frutales con que cuenta el país y que posee cualidades organolépticas muy aceptables, al igual que la mayoría de productos alimenticios es perecedero por deterioro físico, químico y biológico. Frente a este problema se plantea la necesidad de desarrollar métodos adecuados de procesamiento. El proceso para la obtención de zumos de frutas tropicales es una alternativa de fácil aplicación, sin embargo, como todos los procesos tecnológicos esta sujeto a ciertas limitaciones, que en definitiva son superables.

Algunos de los problemas que se presentan en el procesamiento de zumo de frutas son la estabilidad del color, la clarificación debido a la presencia de agentes enturbiantes, la viscosidad excesiva y los bajos rendimientos, ocasionados por la alta concentración de polisacáridos estructurales de la pared celular, los que inducen a realizar una hidrólisis enzimática de la pulpa previo a la extracción del zumo.

En tal sentido se planteó el siguiente trabajo de investigación cuyos objetivos fueron seleccionar y caracterizar el grado de madurez óptimo para la obtención de

zumo de cocona, determinar la actividad enzimática de la poligalacturonasa y las mejores condiciones para un mayor rendimiento de zumo así como evaluar las características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales del zumo durante 60 días de almacenamiento. El trabajo fue ejecutado de Junio de 1997 a Mayo de 1998.

## II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### A. ANTECEDENTES SOBRE TRABAJOS REALIZADOS CON COCONA

**Determinación de los parámetros tecnológicos para el procesamiento de conservas de cocona (*Solanum topiro*) en almíbar;** se realizó con la finalidad de preservar la cocona en forma de conserva en almíbar mediante la determinación del flujo de procesamiento y los parámetros óptimos.

Se estudiaron los principales parámetros de cada operación y las características de control de calidad para obtener un flujo adecuado en la elaboración de conserva de cocona. El flujo definitivo para la elaboración de conserva de cocona es el siguiente: Selección, Lavado, Pelado ( NaOH 2%; ebullición por 10 min), Cortado, Despepitado, Blanqueado (Temperatura de ebullición por 3,5 min), Llenado (Almíbar a 80° C), Envasado, cierre, tratamiento térmico (25 min a 100° C, temperatura de retorta), Enfriado (35 a 40° C), Almacenaje (Temperatura ambiente y luz moderada) (Manayay, 1986).

**Evaluación de las propiedades reológicas de la pulpa y néctar de dos tipos de cocona (*Solanum topiro*);** los objetivos fueron evaluar el comportamiento reológico la pulpa y néctar de cocona y estudiar la aplicación de las propiedades reológicas en cálculos para ayudar en el diseño de máquinas y equipos en posteriores trabajos de investigación. Este trabajo se divide en tres etapas:

1. El estudio de la materia prima con el objeto de conocer las características físicas, la composición química proximal y el análisis

físico-químico para relacionarlo con las propiedades reológicas.

2. La obtención de la pulpa y la evaluación reológica con el objeto de cumplir con los parámetros recomendados por INDECOPI (ITINTEC) y determinar sus propiedades reológicas.
3. La obtención de néctar de cocona y evaluación reológica, con el objeto de determinar la variabilidad de sus propiedades reológicas con relación a los de pulpa (Carmona, 1989).

**Estudio para la prevención de la cocona (*Solanum tojiro*) al estado fresco por método de Parafinado;** el estudio se realizó en dos etapas, en la primera se estudiaron los parámetros óptimos en las operaciones de flujo a seguirse en el tratamiento con parafina. La segunda comprende la prueba definitiva del tratamiento con parafina con el siguiente flujo de operaciones: Recolección, Selección, Lavado, Clarificación, Desinfección, Secado, Parafinado, Enfriado, Escurrido, Empacado, Pesado y Almacenado .

Se realizaron controles físico-químico semanalmente en las muestras parafinadas. Habiéndose logrado la conservación al estado fresco de la cocona del tipo aperado mediante el parafinado hasta seis semanas (Guere, 1990).

## B. ASPECTOS GENERALES DE LA COCONA.

### 1. Clasificación Taxonómica

Reino	:	Vegetal
División	:	Tracheophyta.
Subdivisión	:	Pteropsidia
Clase	:	Angiospermae
Subclase	:	Dicotiledóneas
Orden	:	Tubiflorales
Familia	:	Solanáceas
Género	:	Solanum
Especie	:	<b><i>Solanum topiro</i> H.R.K.</b>
Nombre Común	:	Cocona.

En Ecuador, Colombia y Perú es conocido como cocona y en Venezuela como topiro ( Hill, 1964; Calzada, 1980).

### 2. Descripción botánica

La Cocona, planta nativa del alto Amazonas del Perú, de rápido crecimiento, al principio herbácea y después se torna leñosa.

Alcanza una altura de 0.5 a 2 m, el tallo es cilíndrico con abundante pubescencia en su primera edad, ramifica desde el suelo. Las hojas son ovaladas, grandes de 30 a 50 cm de largo y de 20 cm a 30 cm de ancho con lóbulo acuminado; las flores de 4 a 5 cm, de diámetro se presentan en racimos axilares cortos, los frutos varían desde casi esféricos u ovoides hasta ovalados de 5 a 12 cm de ancho y de 3 a 6

cm de largo, color desde el amarillo hasta el rojo; la cáscara del fruto es suave como la del tomate y la pulpa es oscura de color amarillo fijo, fraganciosa y de sabor suigéneris (ácido y dulce). La semilla esta envuelta en un mucílago transparente. (Calzada, 1980).

### **3. Variedades**

No se habla de la existencia de variedades de cocona, tan solo se hace mención de tipos de cocona, diferenciándose nueve tipos clásicos de fruta: amaroñado, aperado, oblongo, atomatado, cilíndrico, alagado, oblado, redondo, elipsoideo y aciruelado ( Calzada, 1980).

### **4. Características del cultivo**

La cocona crece en climas cuya temperatura oscila entre 18° C y 27°C, con humedad relativa de 70% y 90%, con una precipitación pluvial de 1500 a 4000 mm<sup>3</sup> , al año: estas condiciones solo lo hacen adaptable a clima de selva. Se adapta bien a suelos con un pH de 4 a 7, de textura arcillosa a franca y ricos en materia orgánica. Por ser una planta muy agotante del suelo no puede repetirse el cultivo en el mismo terreno(Calzada, 1980).

### **5. Producción de cocona a nivel nacional**

En la tabla 1, se muestra la producción de cocona a nivel nacional según la región; apreciándose que las mayores producciones en el año 1999 correspondieron a las regiones Ucayali y Loreto con 5317 y 352 T.M.

**Tabla 1. Producción mensual de Cocona, según Región, 1999 (TM)**

REGIÓN	Total	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Set.	Oct.	Nov.	Dic.
NACIONAL	6200	493	572	644	452	374	299	354	561	700	540	677	534
Tumbes	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Piura	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lambayeque	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cajamarca	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cajamarca	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Chota	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Jaén	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amazonas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
La Libertad	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ancash	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lima	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Huancavelica	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ayacucho	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apurímac	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Abancay	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Andahuaylas	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arequipa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Puno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Moquegua	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tacna	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cuzco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Madre de Dios	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ucayali	5317	456	533	601	411	317	263	314	433	555	415	529	490
Huánuco	189	22	20	18	17	18	10	14	14	16	11	16	17
Pasco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Junín	73	1	6	3	13	8	12	3	3	7	5	4	8
San Martín	269	14	13	22	11	31	14	15	37	42	23	28	19
Loreto	352	-	-	-	-	-	-	12	74	80	86	100	-

Fuente: Direcciones Regionales de Agricultura. Oficina de Información Agraria.

Elaboración: MINAG-OIA.

## 6. Características físico químicas de la cocona

La cocona es un frutal climatérico que presenta dos períodos en su desarrollo. El primer período es de reserva de almidón en el cual la fruta presenta un contenido bajo en azúcar soluble, fija sus reservas de almidón a expensas de los azúcares reductores. El siguiente período es de maduración, y aquí los azúcares reductores solubles son formados a partir del almidón (Wills, 1990, citado por Peláez, 1998 ).

A continuación presentamos en la tabla 2 las características físico-químicas de la cocona.

**Tabla 2. Composición físico-química de la cocona**

ANÁLISIS	PINTONA	MADURA	SOBRE MADURA
Humedad	92,50	93,30	87,58
Sólido Total	7,50	6,70	12,42
Sólido Sol.	4,10	4,40	4,60
Acidez Titul.	8,69	7,06	5,20
Indice de Mad.	5,06	6,23	8,35
pH	3,83	3,89	4,25
Vitamina C	2,80	3,50	4,20
Azúcares red.	1,09	1,10	1,15

Fuente: Manayay (1986)

## **7. Índices de madurez**

El índice de madurez puede ser determinado de muchas formas, incluyendo la estimación de la duración de desarrollo; mediciones de tamaño, peso o densidad, atributos físicos, tales como color, firmeza y humedad o contenido de sólidos; atributos químicos, como almidón, azúcares o contenido de ácidos; evaluación morfológica. (Shewfelt, 1993).

La madurez fisiológica se refiere a aquel estadio en el desarrollo de la fruta en el que se ha logrado el crecimiento y la maduración máximas.

## **C. ENZIMAS**

### **1. Definición**

Las enzimas son biocatalizadores complejos de naturaleza proteica de gran especificidad y eficiencia, producidos por células de organismos vivos, que aumentan la velocidad de las reacciones biológicas a través de vías bien definidas y cuya actividad está sujeta a regulación (Schmidt-Hebbel, 1982).

A diferencia de un catalizador inorgánico, las enzimas producidas por los organismos vivos habitualmente sólo catalizan un tipo de reacción o sólo una reacción determinada; la especificidad de las enzimas es tan marcada que en general, actúan exclusivamente sobre sustancias que tienen una configuración precisa.

Las enzimas por lo tanto, se consideran como catalizadores altamente específicos que:

- a. Modifican la velocidad de los cambios promovidos por ellas.
- b. Determinan que sustancias particulares, de preferencia a otras distintas, son las que van a sufrir los cambios.
- c. Impulsan dentro de los distintos cambios posibles que pueda seguir una sustancia, cuál de ellos en especial será el utilizado.

Los sistemas enzimáticos, en general, están formados por la enzima propiamente dicha (apoenzima), el sustrato o los sustratos, un grupo prostético (o coenzima) y sustancias activadoras. La estructura formada por la apoenzima y la coenzima se denomina holoenzima (Braverman, 1980; Adrián, 1990).

## **2. Clasificación de las enzimas**

Para uniformizar la nomenclatura la comisión IUPAC-IUB en Biochemical Nomenclature-Revision Enzyme Nomenclature 1984, nombra y clasifica a las enzimas en seis epígrafes, de acuerdo al tipo de reacción química y a su mecanismo de acción. Se clasifican en :

### **a. Oxidorreductasas**

Catalizan reacciones de óxido reducción por transferencia de hidrógeno o por la incorporación de oxígeno al sustrato. Ejemplo: reductasas, oxidasas, oxigenasas, catalasas, hidroxilasas y otros.

### **b. Transferasas**

Catalizan varios tipos de transferencia de grupos de una molécula a otra (Transferencia de grupos amino, carboxilo, carbonilo, metilo, glicosilo, acilo o fosforilo). Ejemplo: aminotransferasas (transaminasas).

**c. Hidrolasas**

Catalizan reacciones que implican la ruptura hidrolítica de enlaces químicos tales como C=O, C-N, C-C. Sus nombres comunes se forman añadiendo el sufijo -asa al nombre del sustrato. Ejemplo: lipasas, peptidasas, amilasas, pectinoesterasa, maltasa y otras.

**d. Liasas**

También catalizan la ruptura de enlaces C-C, C-S y algunos C-N, excluyendo enlaces peptídicos, pero no por hidrólisis. Ejemplos: descarboxilasas, citrato-liasa, deshidrolasas y aldolasas.

**e. Isomerasas**

Catalizan transposiciones intermoleculares, tales como: la isomerización y la mutarrotación. Ejemplo, epimerasas, racemasas y mutasas.

**f. Ligasas**

Catalizan la formación de enlace entre C y O, S, N y otros átomos. Generalmente, la energía requerida para la formación del enlace deriva de la hidrólisis del ATP. Las sintetetasas y carboxilasas están en este grupo (Schmidt Hebbel, 1982; Robinson, 1991).

**3. Factores que afectan la actividad enzimática**

La importancia de las enzimas para la ciencia de los alimentos, esta con frecuencia determinada por las condiciones que prevalecen en el interior y el exterior del producto. Para regular la actividad enzimática es necesario conocer tales condiciones. Por lo que a continuación presentamos los principales factores que afectan a la actividad de las

enzimas.

### **a. Efecto de la Temperatura**

La temperatura óptima para la mayoría de las reacciones enzimáticas con pocas excepciones está entre 30 y 40°C, donde la actividad es máxima, en casi todas las enzimas la velocidad de reacción se duplica a triplica cuando la temperatura se incrementa en 10°C. Por otro lado, sin embargo, ese mismo aumento de temperatura acelera también la inactivación de la enzima, por desnaturalización térmica. Cuando se calientan a temperaturas superiores a los 50°C la mayoría de las enzimas, pero no todas, se desnaturalan, y unas pocas muestran desnaturalización cuando se enfrían aproximadamente a 5°C (Schmidt-Hebbel, 1982).

Al principio de la desnaturalización los enlaces hidrófobos iónicos y electrostáticos se debilitan y ante un aumento en la energía cinética permite en conjunto la rotación de las uniones, lo que cambia la posición normal de los grupos radicales importantes (Segel, 1982).

A medida que aumenta la temperatura, ocurren dos reacciones simultáneas:

- 1) La velocidad de reacción aumenta como sucede en la mayoría de las reacciones químicas.
- 2) La estabilidad de las enzimas disminuye por inactivación térmica (Quintero, 1987).

Como se sabe, las enzimas son moléculas proteicas complejas, su actividad catalítica se debe a una estructura terciaria altamente

ordenada y exacta que yuxtaponen a los grupos R- de aminoácidos específicos.

La estructura terciaria de una enzima se conserva en primer lugar por un gran número de enlaces débiles no covalentes, es decir una molécula de enzima es una estructura frágil y muy delicada. Si la molécula absorbe demasiada energía, la estructura terciaria se rompe y la enzima se desnaturaliza, perdiendo actividad catalítica (Segel, 1982).

#### **b. Efecto del pH y el estado iónico**

La actividad enzimática guarda también relación con el estado iónico de la molécula y especialmente, de la parte proteica, puesto que las cadenas polipeptídicas contienen grupos que pueden ionizarse (principalmente grupos carbolíxicos y aminos de los aminoácidos constituyentes) en un grado que depende del pH existente. El pH óptimo de los enzimas varía ampliamente, sin embargo, la gran mayoría tiene un óptimo entre 4 y 8. Cualquier enzima que se someta a valores extremos de pH se desnaturaliza (Schmidt-Hebbel, 1982).

Los sitios activos de los enzimas se componen a menudo de grupos ionizables que deben encontrarse en forma iónica adecuada, con el fin de mantener la conformación del sitio activo, unir los sustratos o catalizar la reacción, además uno o más de los sustratos pueden contener grupos ionizables y solamente una forma iónica del sustrato puede unir al enzima o experimentar la catálisis (Segel,

1982).

El pH es el factor que más influye en la titulación de los grupos ionizables que mantienen la carga en la superficie, actúan en el sitio activo o estabilizan la enzima; cualquier modificación del o debida al pH altera estas condiciones; se puede decir, pues que existe un pH óptimo para la enzima (Quintero, 1987).

### **c. Efecto de la Humedad**

En los alimentos, al igual que en cualquier sistema biológico, el agua es uno de los componentes más importantes.

Por ser un solvente, el agua sirve para poner en contacto a las diversas moléculas que interactúan. Además, la reactividad de muchas sustancias depende de la disociación iónica y de la configuración molecular y, por lo tanto de la hidratación. El agua es a menudo uno de los reactantes o uno de los productos de la reacción. La disponibilidad de agua, medida como actividad del agua, tiene una fuerte influencia sobre la velocidad de las reacciones por enzimas, es decir, la actividad enzimática aumenta al aumentar el contenido de agua libre y ello ocurre no sólo en las reacciones hidrolíticas, en las que el agua es uno de los reactantes obvios, sino también en las reacciones no-hidrolíticas (Schmidt-Hebbel, 1982).

### **d. Efecto de las Radiaciones**

Las radiaciones del tipo-electromagnético o corpuscular pueden tener una acción desnaturalizante sobre los enzimas esto es provocado por la ruptura de enlaces, desaminación y

descarboxilación de los residuos de ácidos aminados o la ruptura de enlaces peptídicos, o sea directamente modificando las características físicas del medio (Scriban, 1988).

La inactivación por luz ultravioleta se debe a la fotólisis de grupos disulfuro y aromático de los aminoácidos que constituyen las proteínas; por lo que la luz ultravioleta no es de aplicación práctica en la tecnología alimentaria. En cambio, la irradiación de los alimentos con radiaciones ionizantes (radiaciones beta, gamma, etc.) es de considerable importancia en el procesamiento de alimentos (Schmidt-Hebbel, 1982).

#### **e. Sitio activo y Especificidad Enzimática**

Cuando una enzima reacciona con su sustrato, sólo ciertas regiones de la molécula de proteína, conocidos como "sitios activos", participan en el proceso, los sitios activos consisten en grupos especiales de residuos de aminoácidos, cercanos entre si debido a la secuencia y al plegamiento particular de la proteína enzimática. La existencia de un complejo enzima-sustrato se dedujo a partir de:

- El alto grado de especificidad que presentan las enzimas.
- La forma de la curva de velocidad frente a concentración de sustrato.
- El hecho de que frecuentemente los sustratos protegen a las enzimas de la inactivación.

El alto grado de especificidad explica que el enzima posee esta región llamada sitio activo, que es complementaria en tamaño, forma

y naturaleza química de la molécula del sustrato. El sitio activo de una enzima ocupa sólo una porción muy pequeña de la molécula, de hecho puede haber solamente una docena, más o menos, de residuos de aminoácidos rodeando la cavidad de absorción y de estos, dos o tres pueden realmente participar en la unión con el sustrato y/o en las catálisis (Braverman, 1980; Segel, 1982).

Dos características estructurales determinan la especificidad de una enzima por su sustrato:

- El sustrato debe poseer el enlace químico específico o unión, que debe ser atacado por la enzima.
- El sustrato debe poseer habitualmente algún otro grupo funcional, un grupo de unión, que se une a la enzima y ubica en posición a la molécula de sustrato de modo que el enlace susceptible se disponga apropiadamente en relación al sitio activo de la enzima (Schmidt-Hebbel, 1982).

#### **f. Efecto del tiempo**

Cuando se efectúa una reacción enzimática, se observa un aumento en la concentración del producto y una disminución en la concentración del sustrato hasta que la reacción termina o alcanza su punto de equilibrio.

El cambio observado en la concentración inicial respecto al tiempo se denomina velocidad inicial de reacción y en general se expresa en unidades internacionales o en moles de producto por minuto (Quintero, 1987).

### g. Efecto de la concentración del Sustrato

En una reacción enzimática, se pueden distinguir tres etapas, en la primera una enzima (E) se mezcla con un sustrato (S) y la reacción entre ellos produce el complejo enzima-sustrato (ES); esta interacción es tan rápida que resulta difícil estudiarla sin equipos. El producto (P) aumenta simultáneamente con el aumento de ES hasta alcanzar un régimen estacionario, momento en que la velocidad de formación del producto es constante. Esta velocidad constante de formación se denomina velocidad inicial de reacción (Quintero, 1987).

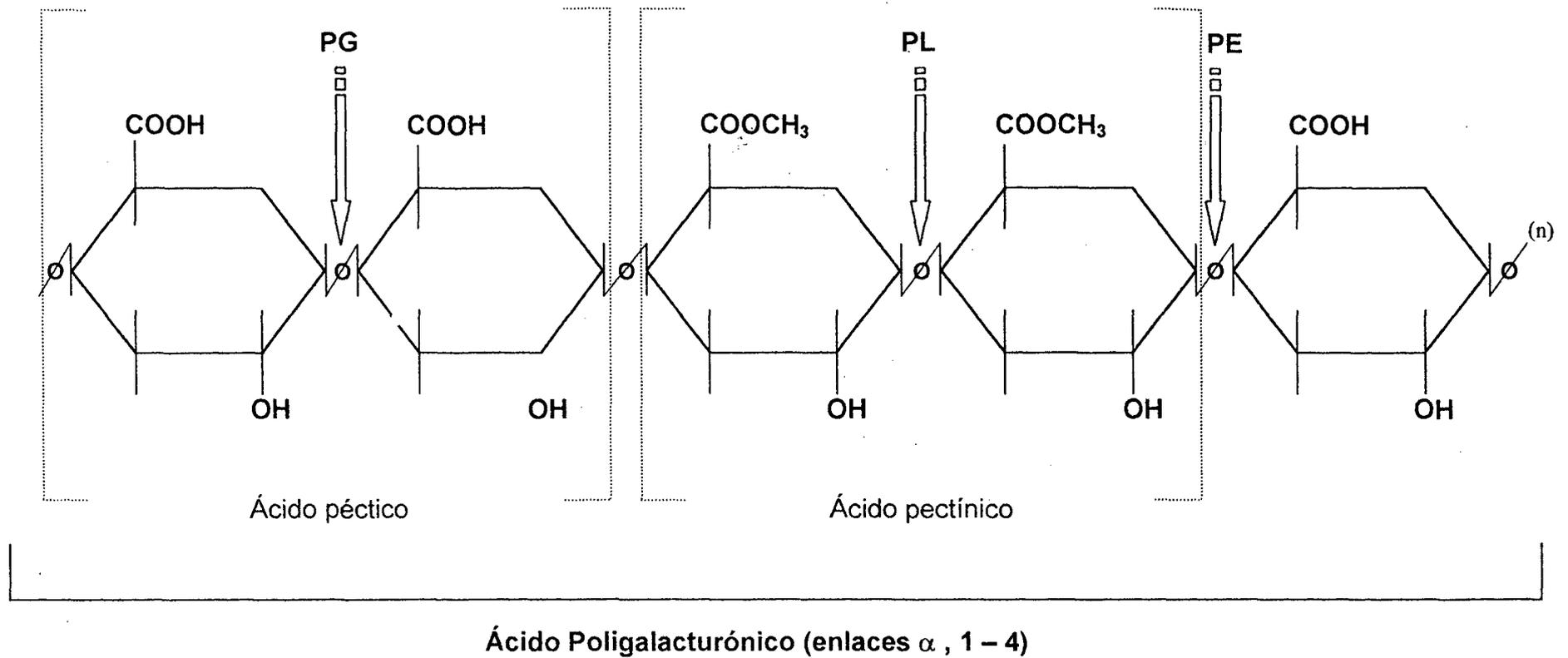
### h. Efecto de la concentración de la Enzima

No solo es necesario conocer si una enzima dada está presente, sino también en que cantidad. Bajo condiciones apropiadas, la velocidad de una reacción catalizada por una enzima será directamente proporcional a la concentración de la enzima (Mayes, 1988).

## 4. Enzimas pecticas o pectinasas

Las pectinasas son un complejo de enzimas que hidrolizan las sustancias pécticas, que se clasifican de acuerdo con el sustrato (pectina o ácido péctico), del tipo de reacción (hidrólisis o transeliminación) y del mecanismo (endo o exo). Figura 1.

Las enzimas comerciales provienen generalmente de *Aspergillus niger*, dado que es el microorganismo que mayor número de éstas produce (García et al., 1993).



Fuente: Chitarra (1990) ; Fennema (1993)

Figura 1: Estructura química del ácido poligalacturónico con localización del sitio de acción enzimática de la Poligalacturonasa (PG), de la pectinesterasa (PE) y de la pectinliasa (PL)

El término pectinasas o enzimas pectolíticas concierne sólo a las enzimas que degradan la parte galacturónica de estas sustancias. En cambio, las enzimas que degradan las cadenas laterales (arabinasas, galactanasas, etc.), no están consideradas como enzimas pectolíticas. En consecuencia, las enzimas que degradan los enlaces  $\alpha$  (1-4) entre los residuos de ácido galacturónico y las enzimas desesterificantes de estos ácidos constituyen el grupo de pectinasas (Schmidt-Hebbel, 1982; Badui, 1984).

**a. Poligalacturonasas (PG) (EC. 3.2.1.15).**

Las Poligalacturonasas se encuentran naturalmente en plantas y microorganismos. Su acción sobre el ácido péctico provoca la aparición en cantidad creciente de grupos reductores y por otra parte una disminución progresiva de la viscosidad. La determinación del aumento del poder reductor y la medida de la disminución de la viscosidad son dos métodos utilizados para determinar la actividad Poligalacturonasa (Braverman, 1980; Badui, 1984; Fennema, 1993). Esta enzima rompe los enlaces  $\alpha$  1-4 de las cadenas no esterificadas de las pectinas y las transforma en oligogalacturonidos o ácido galacturónico, (monómero), reduciendo considerablemente su viscosidad (Adrián, 1990).

Además hidroliza los enlaces glucosídicos próximos a los grupos carboxílicos libres, en consecuencia pectinas de alto grado de metilación (HM) son difícilmente atacados, mientras que pectinas de bajo grado de metilación (LM) son fácilmente atacados, siendo el

pectato el mejor sustrato. Esta enzima además de catalizar la hidrólisis de la unidad glucosídica entre las unidades de ácido galacturónico, también puede atacar al de las pectinas. Estas enzimas "licuantes" atacan las moléculas al azar, rompiéndolas en cadenas más cortas, y si la hidrólisis se produce en el interior de la molécula, estas reciben el nombre de "endo-PG", o si la molécula se va acortando desde un extremo, es por las "expo-PG" o enzimas "PG sacarificantes". Las Endo-PG tienen la capacidad de reducir rápidamente la viscosidad de una solución de pectina. Todas ellas son activas en presencia de ClNa, y algunas también además por los iones  $Ca^{2+}$ . Su pH óptimo se encuentra entre 4,0 y 5,5 (Pilnik, 1978; Braverman, 1980; Belitz, 1988).

**b. Pectin esterasa (PE) (EC.3.1.1.11)**

La Pectin esterasa desmetoxila las cadenas pécticas a ácidos pécticos; esta enzima es una esterasa específica que sólo hidroliza los grupos carboxilo esterificados en la pectina. Las temperaturas elevadas (70° a 90°C) pueden inactivar a esta enzima así como las concentraciones elevadas de azúcar. Esta enzima está ampliamente distribuida en las plantas y la producen los hongos (*Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*), levaduras, bacterias y algunos vegetales (Adrián, 1990; Belitz, 1988; Robinson, 1991).

**c. Pectin Liasa (PL) (EC.4.2.2.10)**

El modo de acción de esta enzima implica la transeliminación de un protón del átomo del carbono 5 de un residuo urónico y la ruptura

simultánea del enlace glicosídico adyacente. La enzima se encuentra en plantas superiores y en los microorganismos y es capaz de emplear como sustrato a pectinas menos metoxiladas (Robinson, 1991).

## **D. ELABORACIÓN DE ZUMOS**

### **1. Definición**

El zumo de fruta es el líquido obtenido de la presión de las frutas, no diluido, no concentrando, no fermentado y sometido a un tratamiento adecuado para asegurar su conservación en envases herméticos (Indecopi, 1976).

### **2. Requisitos generales**

El jugo deberá ser extraído en condiciones sanitarias, de frutas maduras, frescas, sanas, limpias, cuidadosamente lavadas y libres de restos de insecticidas, fungicidas y otras sustancias eventualmente nocivos. Podrá llevar en suspensión pulpa de fruto finamente dividida. Deberá estar exento de trozos de corteza, semilla y fragmentos gruesos y duros. No se permitirá la adición de sustancias que modifiquen la naturaleza del jugo, salvo lo estrictamente necesario de azúcar refinado o ácido cítrico para ajustar la relación de sólidos solubles y acidez titulable, cuando así lo autorice la norma correspondiente; ácido ascórbico como antioxidante y vitaminas como enriquecimiento. Se fijará en cada caso la acidez titulable máxima, no se permitirá la adición de colorantes artificiales (Indecopi, 1976).

### **3. Operaciones en la elaboración de zumos**

En el procesamiento de zumo se debe seguir las siguientes operaciones:

#### **Tratamientos preliminares**

Consisten en la preparación de la fruta, la cual es sometida a selección, lavado, calibrado, inspección, acondicionamiento; según modalidades y aparatos adaptados a cada caso.

#### **Extracción de zumo**

Los zumos de frutas se extraen por diversos métodos, según la estructura de la fruta, su composición química y los caracteres que se deseen conseguir para la bebida, como por ejemplo: transparencia, viscosidad, astringencia más o menos grande. Es común utilizar en esta operación la trituración y el tamizado. El triturado de la fruta puede ser llevado a cabo en forma mecánica en molinos especiales para frutas. El rendimiento en zumos de las frutas puede ser incrementado por tratamiento con enzimas pectinolíticas (maceración digestiva, especialmente indicados en bayas y drupas) (Belitz, 1988; Cheftel, 1980).

#### **Clarificación**

Esta operación se emplea para la preparación de zumos claros, facilitando la separación de partículas responsables de la turbidez, también asegura la estabilidad tratando de evitar la aparición de nuevas turbideces.

### **Filtración**

Se emplea con la finalidad de conseguir total brillantes; exclusivamente para la terminación de los zumos para ello se debe adoptar una asepsia rigurosa y un filtrado a través de materiales porosos (asbestos, celulosa, tierra de diatomeas) o por centrifugación.

### **Desaireación**

Se realiza haciendo pasar el zumo en un recipiente bajo vacío para eliminar el gas disuelto, naturalmente conviene recordar que no tiene interés desairar zumos de frutas si al mismo tiempo no se toman medidas para evitar la reincorporación del aire. Asimismo, no deben desairarse zumos que pueden perder su aroma natural.

### **Pasteurización**

El método más utilizado para la conservación de zumos es el tratamiento térmico, cuyo pH es inferior a cuatro, este efecto es fácil de alcanzar, sólo se necesita eliminar a las levaduras, mohos y algunas bacterias lácticas y acéticas. El tratamiento térmico manteniendo a una temperatura escogida durante un tiempo determinado conduce a la muerte de los microorganismos e inactivación de las enzimas que puedan alterar el producto y hacerlo inapropiado para el consumo humano. En el caso de zumos de frutas, cuyo pH es normalmente inferior de 4,0, este efecto es fácil de alcanzar (Belitz, 1988).

### **Llenado en caliente y autopasteurización**

Consiste en someter el zumo de fruta a una pasteurización relámpago y enfriarlo inmediatamente hasta 82°C a 85°C, para introducirlo a los

envases (previamente calentados sí son de vidrio) a esta temperatura (Cheftel, 1980; Belitz, 1988).

#### **4. Envases de vidrio**

El vidrio es un silicato complejo compuesto esencialmente de sílice ( $\text{SiO}_2$ ), óxido de sodio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ) y óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ); el vidrio a pesar de su consistencia, no es una sustancia sólida, sino un líquido de viscosidad muy elevada, su fluidez varía con la temperatura sin discontinuidad y no se observa ni punto de fusión, ni punto de solidificación (estado vitrio).

Desde el punto de vista químico, el vidrio es inerte a la temperatura ordinaria frente a los productos alimenticios acuosos o lipídicos y a los diversos ácidos orgánicos que pueden existir en forma natural en los alimentos. Otra propiedad del vitrio llamado "blanco", es la transparencia, ventaja muy considerable para la presentación de algunos productos (Cheftel, 1980).

#### **5. Tipos de tapas**

Existen innumerables tipos de cápsulas y tapas, cada uno adaptado a determinado sistema de apertura o boca. Fundamentalmente las primeras materias que se utilizaron fue la hojalata, chapa negra, aluminio y diversos "materias plásticas", presentados bajo la forma de tapones flexibles o bien rígidos.

A esta cápsula se le denomina el "tapón corona" y es el más generalizado para las botellas; se coloca por presión y apretado del metal bajo el bordillo (abultamiento) de la boca (Cheftel, 1980).

## **E. EMPLEO DE ENZIMAS EN EL PROCESAMIENTO DE FRUTAS**

La tecnología moderna se orienta al uso de una gama, cada vez más amplias de materias primas y al aprovechamiento integral de estas; esto origina una gran variedad de productos terminados, lo que ha sido posible gracias a las innovaciones de procesos y equipos. En muchos de los procesos modernos, se utilizan enzimas como celulasas, pectinasas, amilasas y proteasas. Estas enzimas catalizan la degradación de los constituyentes de las paredes celulares tales como la celulosa, hemicelulosa, pectina, almidón y proteína (Braverman, 1980; Fennema, 1993; Fellows, 1994).

En la elaboración de bebidas y jugos vegetales, las enzimas juegan dos roles; una función específica, ejercida por su presencia en forma natural en las materias primas y de otra parte transformaciones específicas cuando se adicionan enzimas (preparaciones industriales), que mejoran las características organolépticas y se realizan nuevos procesos de producción. Este último aspecto demandará importante trabajo, puesto que la acción de enzimas pécticas sobre sistemas complejos tales como las bebidas no ha sido totalmente transparente (Campos, 1994; Fellows, 1994).

### **1. Extracción de jugos**

El tratamiento enzimático de la pulpa, antes del prensado es necesario para la extracción del jugo de frutas pequeñas como: fresa, cereza, uvas, etc. En estas frutas ricas en pectinas, la acción mecánica sobre la fruta da un jugo muy viscoso. La pectina podría dar origen a una masa semigelificada, que dificulta la extracción del jugo. Las enzimas

pectinolíticas degradan esta estructura gelificada y facilitan la extracción.

Además de mejorar la extracción, la presencia de pectinasas; así como de otras hidrolasas: celulasas y hemicelulasas; favorecen la extracción de pigmentos, sabores y aromas; mejorando así las características organolépticas (Dziezak, 1991; Campos, 1994).

## **2. Generalidades sobre pectina y sustancias pecticas.**

Las pectinas son un grupo especial de sustancias responsables de la formación de geles, se encuentran en cantidades tan abundantes que a menudo forman canales anchos, apartando entre sí a las células, al ser un coloide hidrofílico, la pectina tiene la capacidad de absorber grandes cantidades de agua ( Braverman, 1980; Robinson, 1991).

Las sustancias pécticas se encuentran en las paredes celulares del tejido de la planta y también en la lámina media, también actúan como cemento intercelular entre las paredes de la célula y son polímeros del ácido D- galacturónico unido por el enlace  $\alpha$ -1, 4-glucosídico, un número limitado de residuos del azúcar ramnosa interrumpen la cadena del ácido galacturónico, la cantidad de material péctico varía con cada fruta y con los tejidos de la fruta en particular, la cáscara, el área central, son las fuentes más ricas en pectinas que el tejido parenquimatoso, la savia celular constituye el jugo de la fruta extraído en frío; rara vez contiene pectina.

La proporción de proto pectina, pectina y ácido péctico en una fruta varía con su madurez. La proto pectina produce una pectina

dispersable en el agua cuando el tejido de la fruta se extrae con agua caliente. A medida que la fruta se acerca a la madurez, el contenido de protopectina disminuye y predomina la pectina dispersable en agua.

En los ácidos pécticos, los grupos carboxilo de los residuos del ácido galacturónico en el polímero, no están esterificados, forman sales, igual que otros ácidos, se depositan en el tejido de la planta como pectato de calcio o magnesio. Los ácidos pectínicos (llamado pectina), tiene grupos metílicos esterificados en alguno de los grupos carboxilo a lo largo del polímero del ácido galacturónico (Badui, 1984).

### **3. Influencia de pectinas sobre pulpas y turbidez de los zumos de frutas**

Las sustancias pécticas presentes en las frutas se deben tener en cuenta no sólo en la obtención de geles sino también en la fabricación de zumos de frutas, vinos y vinagres.

La pectina, en solución en zumos de frutas, contribuyen a mantener en suspensión las finas partículas de "pulpa" que le dan turbidez, la suspensión es consecuencia de la naturaleza coloidal del fluido, las sustancias que producen esta solución coloidal varían con los distintos zumos, pero por lo general, son pectinas y polisacáridos asociados, derivados del almidón, diversas proteínas y ocasionalmente, taninos y ligninas, dichos zumos se sedimentan muy lentamente y no pueden filtrarse con facilidad por cuanto obstruyen los filtros.

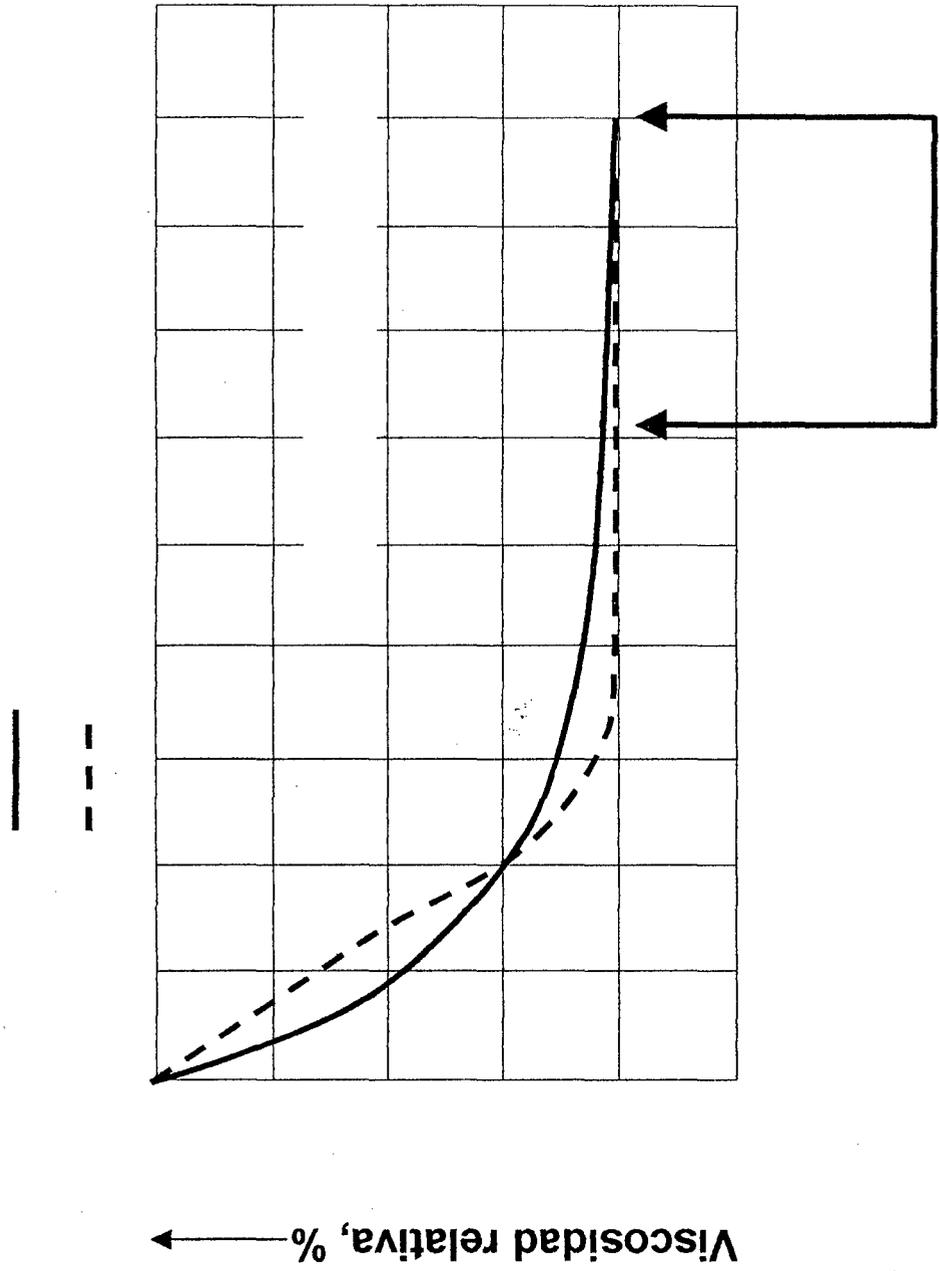
En algunos zumos es de interés protegerlos, pues confiere al producto una cierta viscosidad y actúa como coloide protector, contra la acción

de enzimas proteolíticas y se consigue con una pasteurización apropiada. Por el contrario, cuando se desea la obtención de un zumo claro es indispensable eliminar la pectina porque su presencia en solución haría muy difícil la decantación y filtrado, en este caso se utilizan enzimas pectolíticas comerciales que poseen una fuerte actividad poligalacturonásica, además, ésta es indispensable, porque la Poligalacturonasa actúa sobre el ácido péctico. La pectina dificulta la liberación del zumo de la pulpa, haciendo que escurra lentamente, debido a su viscosidad elevada (Chefftel, 1980; Belitz, 1988).

Además el almidón es otro de los causantes de la elevada viscosidad del zumo. La pectina actúa como estabilizante de los turbios en el zumo, es decir, los zumos no pueden ser clarificados por centrifugación o filtración; zumos conteniendo pectina no pueden concentrarse mucho, pues gelifican y se queman durante el proceso.

Los zumos y pulpas turbios, requieren pectina para conseguir su estabilidad a la turbidez. Para la fabricación de confituras se añaden pectinas con alto poder de gelificación. Las enzimas desdobladoras de pectinas las hidrolizan a fracciones de bajo peso molecular, con lo que se elimina la viscosidad y destruye el poder gelificante (Díaz, 1992).

La acción de las enzimas pectolíticas se puede controlar por la medición de la viscosidad relativa del zumo o pulpa, también comprobando la pectina restante, mediante la prueba de alcohol (Viquez, 1981) indicado en la figura 2.



Fuente: Rohm Enzyme (1978).

Figura 2: Medición de la acción de la enzima por el cambio de la viscosidad relativa (%) y test al alcohol.

Las enzimas típicas de pulpas, rebajan fuertemente la viscosidad al principio de la reacción.

Las pectinasas para la clarificación y concentración de zumos, alcanzan con mayor rapidez el punto en el que por la prueba de alcohol ya no se detecta más pectina.

## **F. ASPECTOS REOLÓGICOS DE PULPAS Y ZUMOS DE FRUTAS**

### **1. Reología**

Es la ciencia de la deformación y flujo de la materia. Hay numerosas razones para que los datos reológicos sean necesarios en la industria de los alimentos:

- Para ser utilizados en los cálculos de los procesos de ingeniería.
- Para determinar la funcionalidad de ingredientes en el desarrollo de productos.
- Control de calidad.
- Evaluación de la textura correlacionado con el análisis sensorial (Steffe, 1992).

### **2. Viscosidad**

La viscosidad es la propiedad de un fluido que da lugar a fuerzas que se oponen al movimiento relativo de capas adyacentes en el fluido y son de carácter similar a las fuerzas cortantes de los sólidos (Geankoplis, 1995).

### **3. Tipos de fluidos alimenticios**

Los fluidos alimenticios pueden clasificarse en tiempos independientes

y tiempos dependientes (Steffe, 1992). Por otra parte se agrupa a los fluidos alimenticios en función a la ley de Newton de la Viscosidad en Newtonianos y no Newtonianos (Osorio, 1990).

En los fluidos tiempo independiente el esfuerzo cortante no es función del tiempo o duración de la acción cortante (Brito, 1995).

Entre estos fluidos tenemos: Fluido Newtoniano, Fluido pseudoplástico, Fluido dilatante, Fluido plástico de Bingham, Fluido pseudoplástico con umbral de fluencia, Fluido dilatante con umbral de fluencia (Barboza, 1993).

#### a. Fluido newtoniano

Son aquellos fluidos en la que la relación entre el esfuerzo de corte o cizalla y la velocidad de deformación o velocidad de corte siguen una relación lineal (Brito, 1995).

$$\tau = u (dv/dy)$$

Donde

$\tau$  : Esfuerzo de corte o cizalla (Pa).

$u$  : Viscosidad dinámica o coeficiente de viscosidad (Pa. s).

$dv/dy$  : Gradiente de deformación o velocidad de corte ( $s^{-1}$ ).

Los líquidos simples, pastas con bajo contenidos en sólidos presentan comportamiento ideal newtoniano. En este tipo de flujo se incluye a la mayoría de las bebidas como: té, café, cerveza, leche, aceite, zumo de naranja, zumo de manzana, vinos, bebidas gaseosas, etc. (Barboza, 1993).

**b. Fluido pseudoplástico**

Este comportamiento es muy común en fluidos alimenticios. En muchos casos este comportamiento no newtoniano puede ser atribuido a la presencia de sustancias de elevado peso molecular en solución y/o a la dispersión de sólidos en una fase fluida. Para los fluidos pseudoplásticos el índice de comportamiento de flujo es menor que la unidad (Brito, 1995).

$$\tau = m (dv/dy)^n$$

Donde:

m : Índice de consistencia (Pa. s<sup>n</sup>).

n : Índice de comportamiento de flujo (n<1).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo de Investigación se desarrolló en el laboratorio de Análisis de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva y en los Laboratorios de Ciencia y Tecnología de la Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo.

#### A. MATERIA PRIMA E INSUMOS

##### 1. Materia prima

Se utilizaron frutos de cocona (*Solanum tojiro*), tipo amaroñado los cuales fueron adquiridos en el mercado minorista de la ciudad de Tingo María.

##### 2. Enzima poligalacturonasa (E.C. 3.2.1.15)

Se le conoce como: Polygalacturonasa, poly - (1,4, d-D-galacturonoide) glyconohidrolase; E.C. 3.2.1.15. Una unidad de actividad enzimática de esta enzima libera un micromol de ácido galacturónico, a partir del ácido poligalacturónico por minuto, a pH 4,0 y a 25°C. Se presenta en solución en KCl y Sorbitol, presenta 31 mg de proteína/ml. por 11,8 unidades/mg de proteína y se codifica como P 9179 en la marca SIGMA.

#### B. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

##### 1. Equipos de laboratorio

- Balanza semianalítica, marca Sartorius sensibilidad 0,1 gr. EE.UU.
- Balanza analítica electrónica - OHAUS Modelo AP 2103 serial

# 113032314, sensibilidad 0,0001 gr. EE.UU.

- Baño María Memmert serie li-X-S, rango de temperatura 0° a 95°C.
- Bomba de Vacío (precisión Vacuum Pump) Model 535, CGA Cooperation USA.
- Congeladora Faeda.
- Estufa marca Memmert electric tipo LR-202.
- Espectrofotómetro molecular, modelo Espectronic 20, Rango de longitud de 325 a 940 nm.
- Potenciómetro rango 0 a 14 digital Marca HANNA.
- Pulpeadora o majador, marca Kamplex tipo Ep-9 con juego de tramices. Hungría.
- Refrigerador OLG.
- Refractómetro de mano, graduado de 0 a 100% de sacarosa.
- Viscómetro capilar a Cannon - Fenske, marca Kimax (USA).
- Viscómetro BROKFIELD LV. Brookfield Engineering Laboratories, Inc. soughton, USA.
- Vernier, marca SOLINGER, made in Germany.

## **2. Materiales de laboratorio**

- Agitador de vidrio.
- Buretas de 25 y 50 ml c/u
- Cronómetro.
- Cuchillos de acero inoxidable.
- Embudos de vidrio y porcelana

- Fiolas de 50, 100, 250 y 500 ml c/u.
- Kitasato de 250 ml
- Matraces de 100, 250 y 500 ml c/u.
- Papel filtro rápido.
- Papel filtro whattman No. 40-42.
- Pipetas de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10 ml c/u.
- Probetas de 10, 100 y 250 ml c/u.
- Pizetas.
- Telas para filtrado.
- Termómetros de -10°C a 250°C.
- Tubos de prueba.
- Vasos de precipitación de 50, 100, 250, 600 y 1000 ml c/u.

### **3. Reactivos y soluciones:**

- Ácido acético
- Ácido sulfúrico
- Acetato de sodio
- Acido clorhídrico
- Alcohol etílico al 96% de pureza.
- Almidón soluble.
- Acido Ascórbico.
- Acido poligalacturónico.
- Bisulfito de Sodio.
- Buffer acetato de Sodio 0,1 M, pH 4.5
- Buffer acetato de Sodio 1 M, pH 5.0

- Fenoltaleína al 1%
- Glucosa Anhidra
- Hidróxido de Sodio 1 N.
- Solución de Yodo 0,1 N.
- Tiosulfato de Sodio 5H<sub>2</sub>O

Otros reactivos usados en los análisis físicos - químicos y microbiológicos.

#### **4. Envases**

Se utilizaron botellas de vidrio de 180 ml de capacidad y tapas plásticas.

### **C. MÉTODOS DE ANÁLISIS**

Los métodos de análisis que se emplearon en el desarrollo del trabajo de investigación se presentan a continuación:

#### **1. Caracterización de la materia prima**

Se realizaron las siguientes determinaciones analíticas cualitativas y cuantitativas:

##### **a. Determinaciones Físicas**

- Peso del fruto.
- Dimensiones de los frutos, se utilizó un vernier para medir longitud y diámetro (Shewfelt, 1993).

##### **b. Análisis químico proximal**

- Humedad, método 12.002 (AOAC, 1984).
- Proteína, método semimicro Kjeldahl, utilizando como factor de

conversión de nitrógeno a proteína 6,25 (AOAC, 1984).

- Grasa, método 13.074 (AOAC, 1984).
- Fibra bruta, método 962.09 (E.b) (AOAC, 1997).
- Ceniza, método 940.26 (A) (AOAC, 1997).
- Carbohidratos totales, se determinaron por diferencia, después de haber realizado los análisis anteriores ( AOAC, 1984; Hart y Fisher, 1994).

**c. Análisis físico-químico**

- Viscosidad aparente, método descrito por Steffe (1992) y Mitschka (1982).
- pH, potenciometricamente a 20°C, método 11.032 (AOAC, 1984).
- Sólidos solubles, método refractométrico 932.14 (c ) (AOAC, 1997).
- Sólidos totales, por diferencia del porcentaje de humedad.
- Acidez titulable, método 942.15 (A,a) (AOAC, 1997).
- Índice de Madurez, cociente de dividir los grados brix por la acidez titulable (Royo, 1977).
- Vitamina C, método espectofotométrico propuesto por el Departamento de Agricultura del Canadá (1976).
- Pectina, método cualitativo y cuantitativo (Rohm Enzyme, 1978, Rangana, 1979).
- Azúcares reductores, totales; método espectrofotométrico (Miller, 1959).

## 2. Actividad enzimática de la poligalacturonasa (PG) y obtención de zumo.

### a. Actividad Enzimática

Se determinó mediante el método Iodimétrico (Neufeld et. al., 1968).

#### Principio

La enzima produce una hidrólisis al azar del ácido poligalacturónico dando origen a una mezcla de ácidos D-galacturónico y Di-galacturónico en una relación molar aproximada de 4:3, a este nivel el 70 por ciento de los enlaces del polímero lineal se encuentran hidrolizados. Se produce una hidrólisis lineal, durante la cual aproximadamente el 25 por ciento de los enlaces glucosídicos son hidrolizados después del cual la velocidad de reacción decae.

El ensayo enzimático se basa en la medición de la velocidad inicial del incremento en grupos aldehidos los cuales están relacionados con la oxidación de hipoyodito, durante los primeros 3 a 5 por ciento de hidrólisis también hay un rápido descenso de la viscosidad de la solución del ácido poligalacturónico.

#### Reactivos

Enzima; se diluyó la enzima en concentraciones convenientes: 0,1 ml de enzima poligalacturonasa/5 ml de solución.

Pectina; conocido como ácido poligalacturónico obtenido de naranja con una pureza de 86 por ciento, codificado como P3889

en la marca SIGMA.

Para preparar una solución de poligalacturonato de sodio al 0,5 por ciento se siguió los siguientes pasos:

Suspender un gramo de ácido poligalacturónico en 150 ml de agua destilada, agregue 20 ml de buffer acetato de sodio 1 M a pH 5,0. Titular la solución a pH 5,0 con NaOH 1 N y ajustar el volumen a 200 ml, con agua destilada.

- $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 1 M
- Solución de Yodo, 0,1 N
- $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2 M
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 0,1 N

### **Procedimiento**

Llevar a 30°C 20 ml de una solución de ácido poligalacturónico, adicionar 1 ml de la solución de enzima adecuadamente diluida, mezclar rápidamente y anotar el tiempo. Se toman 5 ml de la mezcla en reacción y se le adiciona 5 ml de la solución de yodo 0,1 N en un frasco erlenmeyer de 50 ml se anota el tiempo en el momento en que se adiciona la solución de yodo a la muestra. Se adiciona 0.9 ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 1 M inmediatamente, la mezcla es dejada en reposo exactamente 20 min, luego es acidificada con 2 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 2M y el yodo residual es titulado con  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 0,1N. Son tomados 2 ó 3 muestras adicionales a partir de la mezcla en reacción (aproximadamente cada 4 ó 5 minutos), el tiempo es registrado como en el caso anterior y son tratados similarmente.

Los valores de la titulación son ploteados como una función del tiempo para determinar la pendiente de la recta obtenida.

Un microequivalente de yodo reducido corresponde a 0,513 micromoles de grupos aldehidos liberados. La actividad de la enzima es calculada y expresada por ml ó mg. de proteína de la solución de enzima.

### **Definición de la unidad enzimática**

La actividad de la endo-polygalacturonasa de levadura es la cantidad de enzima que producirá un micromol de grupos aldehidos/minuto a 30°C y pH 5,0.

Aunque el pH óptimo está entre 4,4 y 4,5 la curva de actividad tiene un pico ancho y la diferencia en la actividad es el desprecio, la ventaja de usar pH 5,0 es que el ácido péctico de alto peso molecular es más soluble a pH 5,0 que en pH 4,0.

### **b. Obtención del Zumo**

Tratamiento Enzimático; se realizó de acuerdo al método Novo (Madden, 1991).

El tratamiento Enzimático de la pulpa de cocona en función de la concentración de enzima, temperatura y tiempo de hidrólisis fue evaluado teniéndose como parámetro el rendimiento de zumo. Además se determinó la estabilidad a la sedimentación, las muestras de cada tratamiento se almacenaron en refrigeración, siendo observados después de 24 horas para evaluar la presencia o ausencia de sedimentos (Madden, 1991).

### **3. Viscosidad de la Pulpa y del Zumo**

- Análisis reológicos mediante el Viscosímetro Brookfield, Splindle tipo disco (Mitschka, 1982).
- Viscosidad del zumo, empleándose el Viscosímetro capilar Cannon Fenske No.150 (Lewis, 1993).

### **4. Caracterización del Zumo y Almacenamiento**

Se realizaron las siguientes determinaciones analíticas: pH, acidez total, vitamina C, azúcares reductores, viscosidad, por los métodos descritos en C.1, además de los siguientes análisis.

Densidad, método pignómetro (Madrid, 1994).

Transparencia, por espectrofometría (Versteeg, 1980).

Los análisis físico-químico se realizaron cada 20 días (0, 20, 40 y 60 días); el análisis microbiológico se realizó al inicio y al final del almacenamiento (tiempo de almacenamiento 2 meses) y el análisis sensorial al final del almacenamiento.

## **D. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

A continuación se presentan las etapas del trabajo de investigación:

1. Índices de madurez y caracterización de la cocona.
2. Actividad enzimática de la Poligalacturonasa (PG) y obtención de zumo.
3. Aspectos reológicos de la pulpa y del zumo.
4. Caracterización del zumo y almacenamiento.

## **1. Índices de madurez y caracterización de la cocona**

Los índices de madurez se determinaron mediante los métodos de análisis físico químicos, evaluándose el pH° Brix, acidez titulable y variación del color de la cáscara (Shewfelt, 1993).

- a. En las determinaciones físicas, se evaluaron las características biométricas.
- b. El análisis químico proximal de la pulpa de cocona madura consistió en: humedad, proteína, grasa, fibra, ceniza y carbohidratos.
- c. En el análisis físico-químico se determinó: ° Brix, pH, acidez titulable, pectina, almidón, azúcares reductores y totales y vitamina C. Los métodos utilizados se indican en C.1.

## **2. Actividad enzimática de la poligalacturonasa (PG) y obtención del zumo**

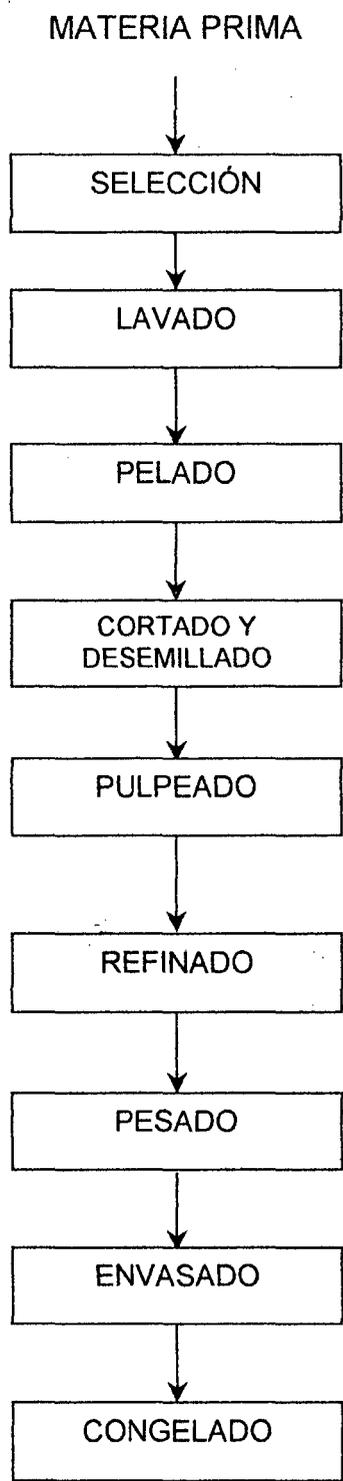
### **a. Actividad Enzimática de la Poligalacturonasa**

Se determinó la actividad enzimática de la Poligalacturonasa, teniendo en cuenta el método señalado en la sección de métodos de análisis, C.2.

### **b. Obtención del Zumo**

#### **1. Acondicionamiento de la pulpa.**

El acondicionamiento de la pulpa de cocona se realizó siguiendo el flujo de operaciones descrito por Matos (1996) y tomando los parámetros mencionados por Manayay (1986); lo cual se muestra en la Figura 3.



**Figura 3. Diagrama de Bloques para el acondicionamiento de la Pulpa de Cocona.**

A continuación se describe cada operación que se indica en la figura anterior:

### **Materia prima**

Se emplearon frutos maduros de cocona, de acuerdo a los criterios mencionados.

### **Selección**

Se seleccionaron las frutas que se encontraron aptas para el proceso, teniendo en cuenta la sanidad.

### **Lavado**

Se efectuó por inmersión y frotamiento en agua potable para quitar partículas extrañas de la superficie.

### **Pelado**

Se realizó un pelado químico por inmersión en agua a ebullición con 2 por ciento de NaOH por 10 minutos.

### **Cortado y desemillado**

Se realizó de forma manual con cuchillos y cucharas de acero inoxidable.

### **Pulpeado**

Se realizó en una pulpeadora con malla de 0,4 mm de diámetro lo que nos permitió obtener una pulpa fina.

### **Refinado**

Se realizó en el molino coloidal con 0,25 mm de luz, para obtener una pulpa libre de restos fibrosos.

**Pesado**

Se realizó para acondicionar 800 g de pulpa de cocona, los cuales fueron utilizados en cada día de trabajo.

**Envasado**

Se realizó en bolsa de polietileno de alta densidad.

**Congelado**

La pulpa se congeló a  $-18^{\circ}\text{C}$  durante el período que se realizaron las pruebas experimentales.

**2. Tratamiento Enzimático**

Se realizó variando la concentración de enzima, la temperatura y el tiempo de hidrólisis, así como se muestra en la Figura 5 y evaluándose el rendimiento de zumo, mediante un tiempo de filtrado de 15 minutos (Madden, 1991).

La prueba para determinar la presencia de pectina y almidón se trabajó con la concentración de enzima, temperatura y tiempo de hidrólisis óptimo.

**3. Obtención del Zumo**

Se realizó de acuerdo al flujograma de la Figura 4.

**Pulpa acondicionada**

Se utilizó la pulpa de cocona acondicionada de acuerdo al Diagrama de Flujo de la Figura 3.

**Hidrólisis enzimática**

La pulpa fue tratada con la dosis óptima de Poligalacturonasa determinada anteriormente, con la finalidad de hidrolizar la

pectina presente en la pulpa y obtener un mayor rendimiento de zumo.

### **Inactivación enzimática**

Se hizo a 90° C/ 60 s, para que no exista presencia de enzima en el zumo obtenido (Verstech, 1980; Ben-Shalom, 1986).

### **Prensado**

Se realizó utilizando una prensa manual, con la finalidad de obtener mayor rendimiento de zumo.

### **Centrifugación**

Se realizó a 5000 rpm/15 min, con la finalidad de eliminar las partículas en suspensión y clarificar (Viquez, 1981).

### **Pasteurización**

Se pasteurizó a 85°C/60 s para lograr la asepsia del producto, luego se añade 0,05 por ciento de sorbato de potasio como preservante (Indecopi, 1976).

El pH de la pulpa se encontró en 3.9 por lo que no fue necesario corregirlo.

### **Envasado y coronado**

Se envasaron en caliente siendo inmediatamente sellados para generar vacío en las botellas (Cheftel, 1980).

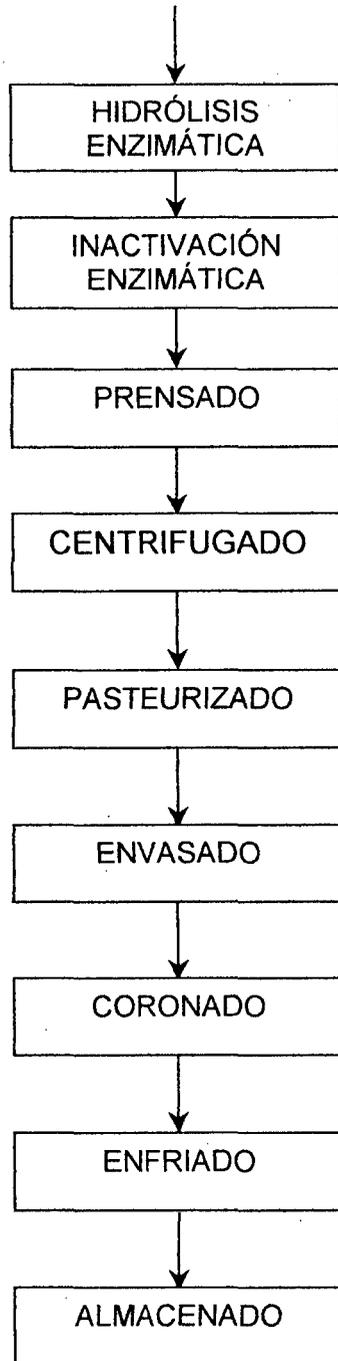
### **Enfriado**

Se enfriaron las botellas por inmersión en agua potable hasta alcanzar una temperatura de 38° C, que facilita el secado de la superficie de la botella.

**Almacenado**

El zumo se almacenó por 60 días a temperaturas de refrigeración a 4° C y ambiente a 25° C, realizándose los análisis físico-químicos cada 20 días y el análisis microbiológico al inicio y al final del almacenamiento.

PULPA ACONDICIONADA



**Figura 4. Diagrama de Bloques definitivo para la obtención de zumo de cocona mediante hidrólisis enzimática de la pulpa.**

### **3. Aspectos reológicos de la pulpa y del zumo**

Se determinó el comportamiento reológico de la pulpa de cocona y de igual manera de la pulpa acondicionada a la temperatura de 30°C; antes del tratamiento enzimático y después del tratamiento enzimático. Para estas pruebas se utilizó el Viscosímetro Brookfield con el spindle N°. 3.

Se evaluó la variación de la viscosidad (cP) a la temperatura óptima durante el tratamiento enzimático.

Se evaluó la viscosidad del zumo obtenido empleándose el Viscosímetro capilar Cannon Fenske (Lewis, 1993).

### **4. Caracterización del zumo y almacenamiento**

#### **a. Análisis físico-químico del zumo de cocona.**

El zumo de cocona fue caracterizado teniendo en cuenta la determinación de: acidez total, vitamina C, azúcares reductores, azúcares totales y viscosidad.

Las evaluaciones en el almacenamiento a temperaturas de refrigeración de 4° C y ambiente de 25° C, se realizaron cada 20 días/60 días.

#### **b. Análisis microbiológico**

Se realizaron siguiendo los métodos de análisis recomendados por la ICMSF (1983). Se realizaron los índices de numeración de microorganismos aerobios viables mesófilos (NMAVM), Numeración de lactobacillus y Numeración de mohos y levaduras.

### **c. Evaluación sensorial**

Se tomó como base las características principales usando los atributos de sabor, color y aroma para lo cual se utilizaron una escala hedónica de 9 puntos, los resultados de cada panelista fueron sumados obteniéndose el promedio con el cual se establece la calificación (Anzaldúa, 1994).

## **E. DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **1. Tratamiento Enzimático**

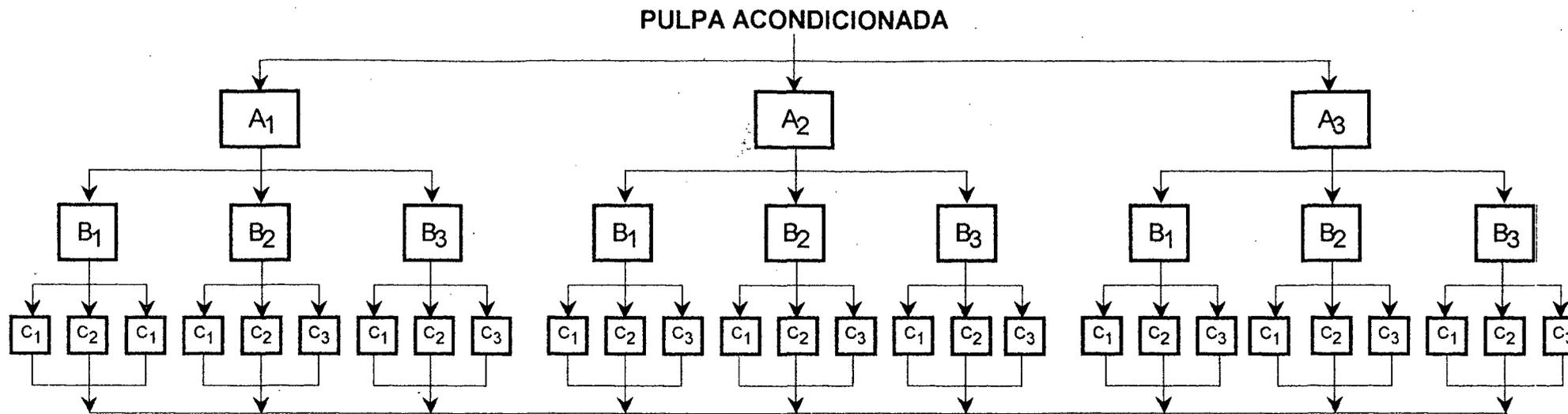
El diseño experimental se presenta esquemáticamente en la Figura 5, el cual fue estructurado de tal forma que permite la evaluación de la acción enzimática. Este diseño muestra detalles de las variables en estudio, explicándose el significado de cada variable. El mejor tratamiento se determinó teniendo en cuenta el rendimiento de zumo (Rohm Enzyme, 1980), para lo cual los valores experimentales fueron evaluados estadísticamente.

## **F. ANALISIS ESTADÍSTICO**

El análisis estadístico para el diseño experimental de la Figura 5, se adecua a un diseño bloque completo al azar (DBCA) con arreglo factorial de 3A x 3B x 3C con 2 repeticiones (Daniel, 1996).

La significación estadística se evaluó con la prueba de Tukey para comparación de medias múltiples al 5 por ciento de probabilidad de significancia seleccionándose el mejor tratamiento, posteriormente a este

tratamiento se le aplicó un diseño completo al azar con dos repeticiones para determinar la mejor concentración de enzima.



**LEYENDA**

A: Concentración de enzima PG ( v/p )

A<sub>1</sub> : 0,01 %

A<sub>2</sub> : 0,03 %

A<sub>3</sub> : 0,05 %

B: Temperatura

B<sub>1</sub> : 40° C

B<sub>2</sub> : 50° C

B<sub>3</sub> : 60° C

C: Tiempo de hidrólisis

C<sub>1</sub> : 60 min

C<sub>2</sub> : 90 min

C<sub>3</sub> : 120 min

E: Enzima Poligalacturonasa

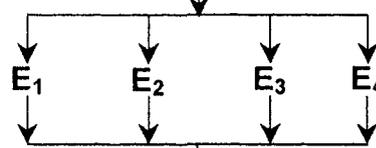
E<sub>1</sub> : 0,02%

E<sub>2</sub> : 0,03%

E<sub>3</sub> : 0,04 %

E<sub>4</sub> : 0,05%

**TRATAMIENTO SELECCIONADO (Con 2 repeticiones)**



**TRATAMIENTO SELECCIONADO (Con 2 repeticiones)**

**Figura 5. Diagrama del diseño experimental para el tratamiento enzimático**

## IV.- RESULTADOS Y DISCUSIONES

### A. INDICES DE MADUREZ Y CARACTERIZACIÓN DE COCONA SELECCIONADA

#### 1.- Índice de madurez

En la tabla 3, se presentan los resultados de las evaluaciones realizadas en muestras de cocona (*Solanum topiro*), durante el desarrollo de la madurez comercial.

Tabla 3. Características de cinco grados de madurez de cocona tipo amaroñado.

CARACTERÍSTICAS						
GM	Humedad	°Brix	Pulpa / cáscara	Acidez Titulable	pH	IM
1	88.68	3.3	1.55	0.92	3.96	3.6
2	91.69	3.6	1.68	0.95	3.52	3.8
3	92.43	4.8	1.84	0.93	3.78	5.2
4	92.78	5.5	2.10	0.92	3.86	6.2
5	93.09	5.0	2.26	0.89	4.10	5.6

Fuente: propia

Donde:

GM : Grado de Madurez

IM : Índice de Madurez

1 : 100% verde

- 2 : 80% verde, 20% amarillo
- 3 : 50% verde, 50% amarillo
- 4 : 100% amarillo (maduro)
- 5 : Sobre maduro.

De la tabla anterior se puede observar que el contenido de humedad, los sólidos solubles y la relación pulpa / cáscara, presentan contenidos que se incrementan conforme transcurre la maduración, alcanzando una humedad de 93,09 por ciento; 5,8 °Brix y una relación pulpa / cáscara de 2,26. Estos resultados se expresan gráficamente en las figuras 6, 7 y 8.

El incremento de los sólidos solubles durante la maduración comercial, está relacionado con la transformación del almidón en azúcares, decayendo el contenido desde 20 a 25 por ciento en la fruta verde a 0,2 a 1,5 por ciento en la fruta madura; produciéndose un aumento creciente del dulzor en la fruta madura (Chitarra, 1990).

En la tabla 3 se puede apreciar que el contenido de sólidos solubles es mayor cuando la cocona se encuentra madura, observando también que en el sobre maduro disminuye, debido a que los azúcares empiezan a fermentarse; debido a estas características se seleccionó la cocona con un índice de madurez de 6,0 para la utilización en la obtención de zumo.

Los resultados de las evaluaciones de pH indican que se produce un aumento en la concentración de ácidos ionizables, lo que conduce a

una disminución en el valor del pH de 3,96 a 3,52 y luego se incrementa hasta 4,10 como se muestra en la Figura 9. La acidez titulable de la pulpa también se puede observar en la tabla 3 que aumenta conforme transcurre la maduración, llegando a un contenido a máximo de 0,95 por ciento de ácido cítrico, para luego empezar a descender, la variación se muestra en la Figura 10. Este comportamiento coincide con la mayoría de las frutas tropicales, donde el contenido de ácidos disminuye después de la cosecha (Monteiro, 1993).

En el Anexo 1, se muestran las ecuaciones que se utilizaron para ajustar los datos experimentales de las Figuras 6-10.

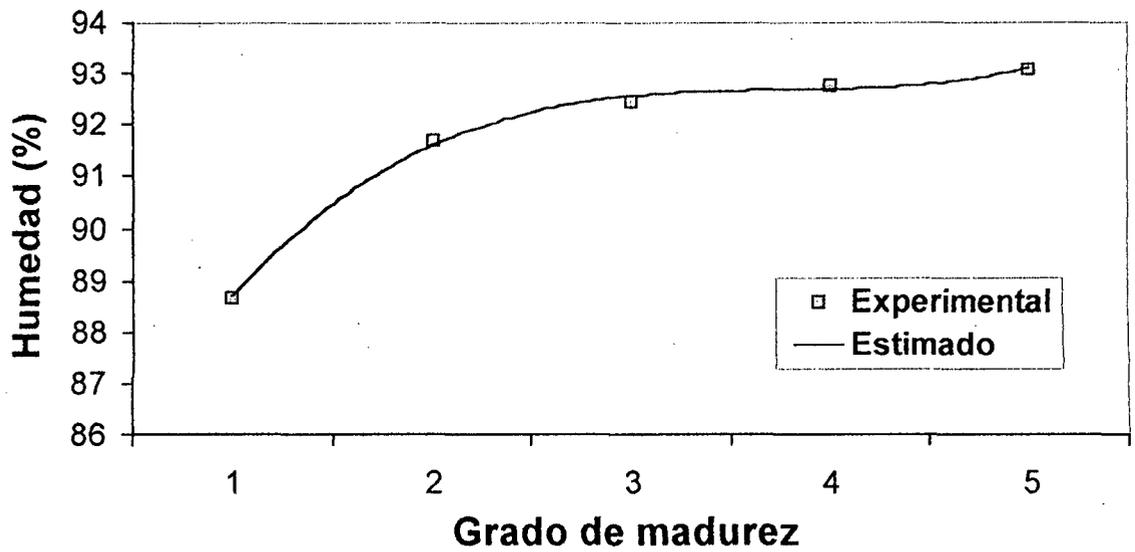


Figura 6. Variación del contenido de humedad

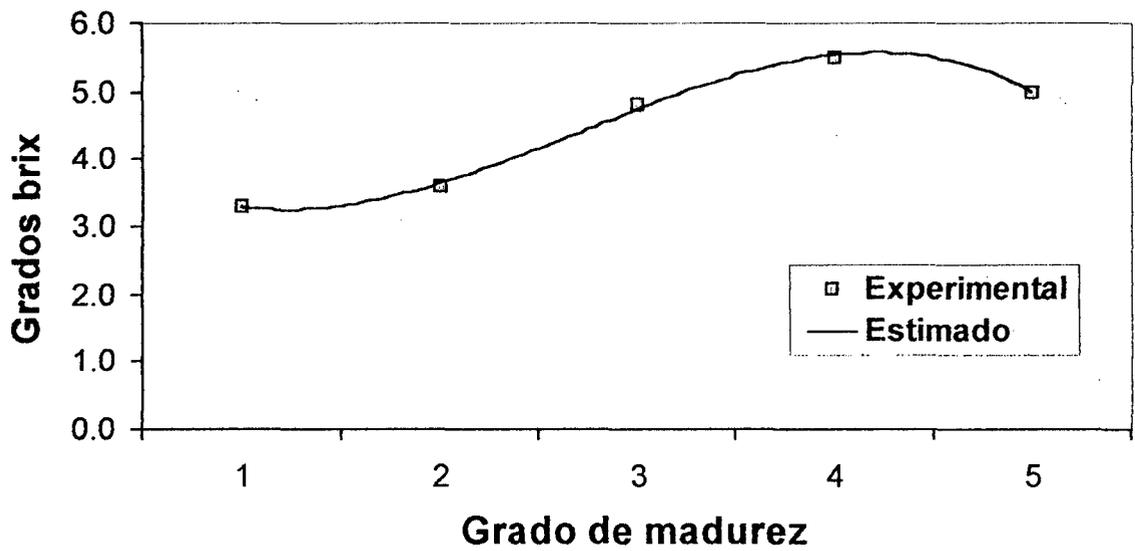


Figura 7. Variación del contenido de sólidos solubles

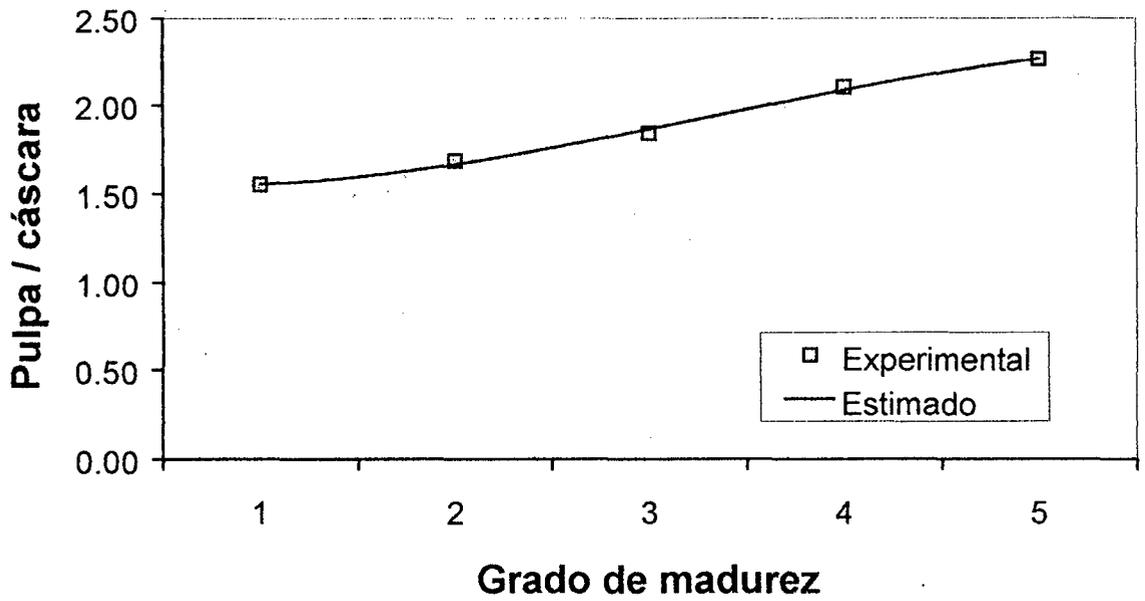


Figura 8. Variación de la relación pulpa / cáscara

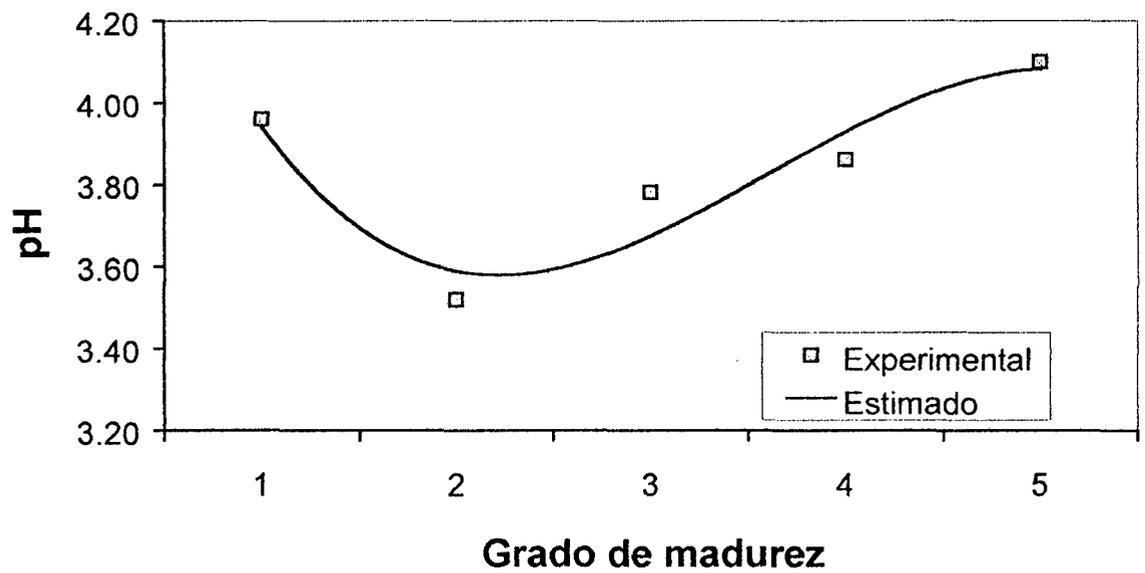


Figura 9. Variación del pH

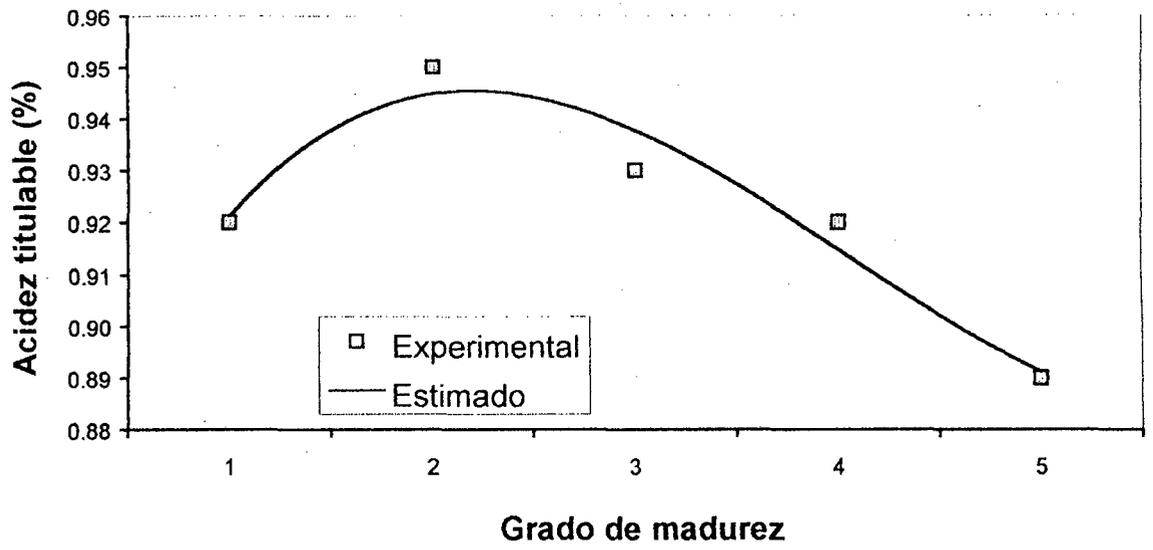


Figura 10. Variación de la acidez titulable

## 2. Caracterización de la cocona

### a. Determinaciones Físicas

Para las determinaciones físicas se utilizó coconas maduras las cuales fueron adquiridas en el mercado de abastos de Tingo María.

#### Características biométricas

En la tabla 4, se muestra los resultados obtenidos en la determinación de las medidas biométricas de los frutos de cocona.

**Tabla 4. Medidas biométricas promedio de la cocona tipoamaroñado.**

	CARACTERÍSTICAS		
	Longitud (mm)	Peso (g)	Diámetro (mm)
Promedio (*)	82,06	130	68,15
Valor max.	84,90	140	70,46
Valor min.	79,55	110	55,18

Fuente: propia

\* Promedio de 20 frutos maduros.

Las medias biométricas son específicas para cada tipo, en la tabla anterior se observa que existen valores máximas y mínimas en cuanto a longitud, diámetro y peso. Estos valores no se pueden comparar con otros tipos de cocona ya que cada uno de ellos presenta tamaños y formas diferentes. Se sabe que el peso promedio del fruto es de 150 g en general sin especificar el tipo

(Calzada, 1980); en este caso el peso promedio es de 130 g.

#### b. Análisis químico próximo

Los resultados del análisis químico próximo de la cocona se muestra en el tabla 5.

**Tabla 5. Análisis químico próximo de cocona madura.**

COMPONENTES	%
Humedad	92,78
Proteína (N x 6,25)	1,74
Grasa	0,21
Fibra	0,69
Ceniza	0,38
Carbohidratos	4,20

Fuente propia

Los resultados del tabla 5, son similares a los reportados por Carmona (1990), los cuales dependen del grado de madurez, clima y suelo entre otros factores. Además podemos observar que los componentes que más destacan son la humedad con 92,78 por ciento y el contenido de carbohidratos con 4,20 por ciento.

#### c. Análisis físico químico de la cocona

La tabla 6, nos muestra los resultados del análisis físico químico de la cocona con respecto a la parte comestible.

Referente a los azúcares reductores Manayay (1986) y Carmona

(1990), reportan valores de 1,10 por ciento y 1,30 por ciento respectivamente, estos valores difieren de los encontrados en nuestros resultados pudiendo atribuirse al grado de madurez, tipo de cocona entre otros factores.

Es importante resaltar también que la interacción de proteínas o aminas con carbohidratos (azúcares reductores), van a producir los pardeamientos no oxidativos como son los fenómenos de caramelización y reacción de Maillard respectivamente (Fennema, 1993).

**Tabla 6. Características físico-químicas de la Cocona en 100 g de parte comestible.**

COMPONENTES	RESULTADOS
Humedad	92,78%
Sólidos Totales	7,22%
Sólidos Solubles (°Brix)	5,50
pH	3,86
Ácido titulable (Ac. Cítrico).	0,92%
Índice de Madurez	6,00
Vitamina C.	2,90%
Pectina	1,01%
Azúcares Reductores	1,93%
Azúcares Totales	3,78%
Viscosidad	3791,00cP

Fuente: propia

## B. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA POLIGALACTURONASA (PG) Y OBTENCIÓN DEL ZUMO

### 1. ACTIVIDAD ENZIMÁTICA.

La actividad de la Poligalacturonasa (PG), se determinó según lo descrito en C.2 de la parte de métodos de análisis. Los datos numéricos se muestran en la tabla 7.

**Tabla 7. Resultados experimentales para la determinación de la actividad enzimática de Poligalacturonasa (PG) [E]: 0,1 ml PG/5 ml**

Tiempo minutos	# moles de grupos aldehídos
0,0	0,000
5,0	9,747
*10,0	14,621
15,0	18,058
20,0	20,469

Fuente: propia

\*: Número de puntos experimentales utilizados para obtener la ecuación para este caso.

Se determinó la actividad de la Poligalacturonasa utilizando como sustrato una solución de ácido poligalacturónico al 0,5 por ciento , en buffer acetato de sodio 1 M; pH 5,0 y a 30°C; determinándose una actividad pectolítica de 292  $\mu$ moles de grupos aldehídos por ml de enzima original / minuto ó 292 U / ml.

Sigma reporta una actividad de 366 U/ml. para esta enzima, la cual expresa la cantidad de enzima que libera 1 mol de ácido galacturónico a partir del ácido poligalacturónico por minuto a pH 4 y a 25° C (Neufeld et. al., 1968).

Ambos resultados teórico y práctico son determinados utilizando el mismo sustrato, ácido poligalacturónico; pero a otras condiciones de pH y temperatura, ya que el ácido péctico de peso molecular alto es más soluble a pH 5,0 para el método Iodimétrico. Rohm (1978), menciona que las pectinasas almacenadas en un lugar fresco (aprox. 4°C), experimenta pérdida de actividad al cabo de un año de 5-10 por ciento.

En la Figura 11, se muestra la curva de los datos experimentales los cuales expresan la variación del número de micromoles de grupos aldehídos vs. el tiempo en minutos de acción enzimática.

Mediante el análisis de regresión lineal de la porción recta de la curva, se determinó la actividad enzimática pectolítica que viene representado por la respectiva pendiente, la ecuación representativa se muestra en la Figura. 11.

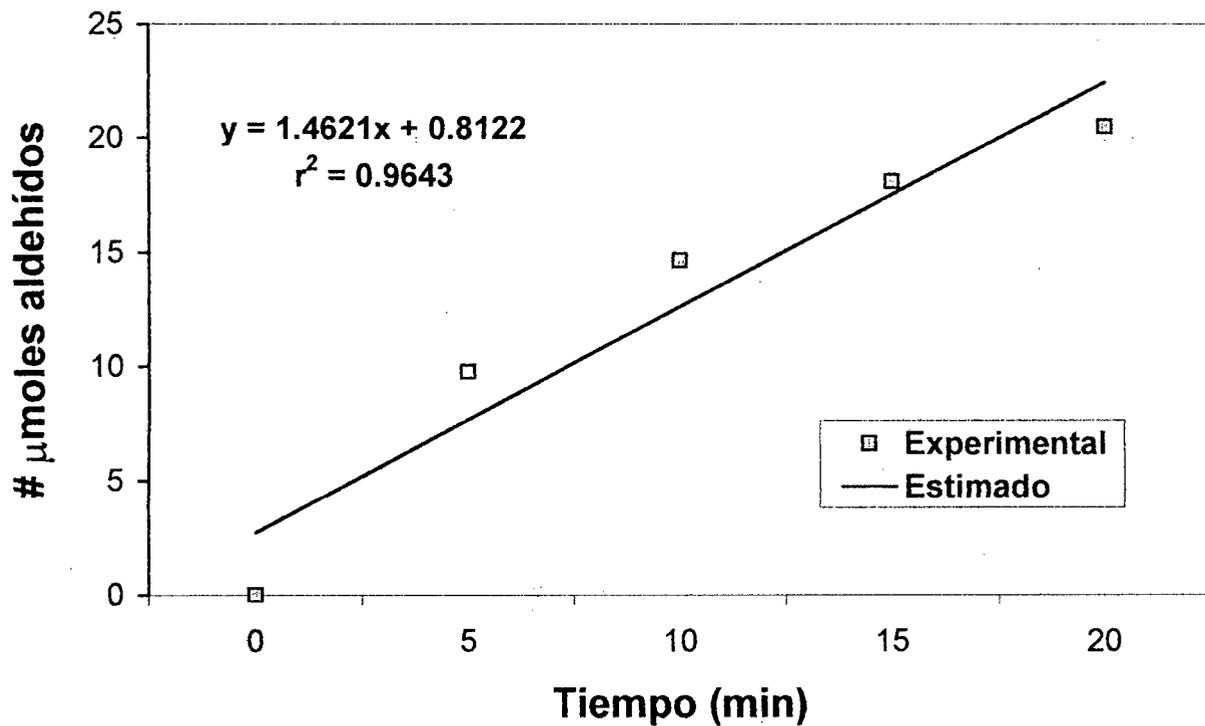


Figura 11. Actividad enzimática de la poligalacturonasa (PG)

## 2. OBTENCIÓN DEL ZUMO

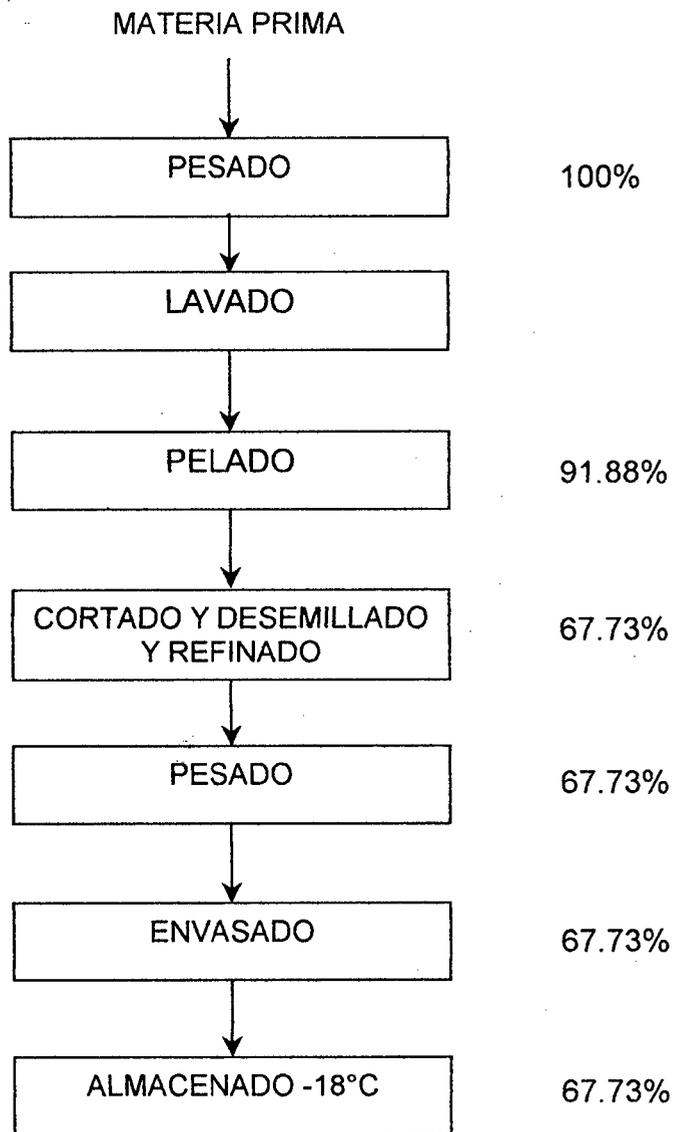
### a. Acondicionamiento de la Pulpa

La pulpa de cocona fue condicionada tal como se indica en el flujograma de la Figura 12. Donde se puede apreciar un rendimiento de 67,73 por ciento existiendo una pérdida de 8,12 por ciento en el pelado y de 24,15 por ciento en el pulpeado.

### b. Tratamiento enzimático de la pulpa

El tratamiento enzimático se realizó con la enzima Poligalacturonasa (PG) y utilizando 100 g de sustrato (Pulpa de cocona) por cada tratamiento y variando parámetros de temperatura ( $^{\circ}$  C), tiempo de hidrólisis (min.) y concentración de enzima (E), resultados que se muestran en la tabla 8.

En esta tabla se presentan resultados de zumo extraído en volumen y peso; apreciándose que el efecto de la enzima es mayor conforme aumenta la concentración y temperatura; de igual manera el rendimiento de zumo aumenta conforme aumenta el tiempo de hidrólisis. Además las muestras testigos (Blanco) presentan un rendimiento promedio de 12 ml de zumo.



**Figura 12.** Diagrama de bloques para el acondicionamiento de la pulpa de cocona.

**Tabla 8. Rendimiento de zumo extraído por acción enzimática de la PG sobre la pulpa (\*).**

A Enzima (%)	B Temperatura (° C)	C Tiempo (min)	Rendimiento del Zumo		
			Volumen (ml)	Peso (g)	Observaciones
0,01	40	60	26,5	26,18	--+
0,01	40	90	34,8	34,38	--+
0,01	40	120	36,8	36,36	-++
0,01	50	60	33,4	33,00	--+
0,01	50	90	39,8	39,32	-++
0,01	50	120	39,9	39,42	-++
0,01	60	60	21,7	21,44	--+
0,01	60	90	28,2	27,86	--+
0,01	60	120	28,7	28,36	--+
0,03	40	60	33,4	33,00	--+
0,03	40	90	42,8	42,29	-++
0,03	40	120	42,9	42,39	-++
0,03	50	60	42,2	41,69	-++
0,03	50	90	48,5	47,92	+++
0,03	50	120	48,6	48,02	+++
0,03	60	60	31,4	31,02	--+
0,03	60	90	34,2	33,79	--+
0,03	60	120	36,1	35,67	--+
0,05	40	60	32,4	32,01	--+
0,05	40	90	42,5	41,99	+++
0,05	40	120	44,8	44,26	-++
0,05	50	60	45,3	44,76	-++
0,05	50	90	48,8	48,21	+++
0,05	50	120	48,9	48,31	+++
0,05	60	60	32,9	32,51	--+
0,05	60	90	34,4	33,99	--+
0,05	60	120	36,9	36,46	-++

Fuente: propia

(\*) : Promedio de dos repeticiones

--- : inestable, alta sedimentación

--+ : inestable, regular sedimentación

-++: poco estable, poca sedimentación

+++ : estable, muy poca sedimentación.

Como se menciona antes el testigo presento un rendimiento promedio de 12 ml de zumo y si comparamos este resultado con los obtenidos en la tabla 8 podremos observar la importancia de los enzimas pectolíticas en la tecnología moderna de los jugos de frutas, así como la contribución de las enzimas para un procesamiento rápido, para mayor rendimiento y asegurar la mejor calidad posible del producto terminado (Novo, 1986).

Los resultados de la tabla anterior fueron analizados estadísticamente mediante un diseño bloque completo al Azar con arreglo factorial 3A x 3B x 3C con 2 repeticiones, el análisis de varianza se muestra en la tabla 9.

**Tabla 9. Análisis de Varianza para el rendimiento de zumo extraído, por acción de la Poligalacturonasa.**

F.V.	Sum. Cuad.	g.l.	CM	Fc	F		Sig.
					5%	1%	
BLOQUE	2.7518	1	2.7518	651.6541	4.225	7.721	**
TRATAMIENTO	2793.8553	26	107.4560	25446.6631	1.929	2.554	**
A (% de enzima)	800.2395	2	400.1198	94752.4105	3.369	5.526	**
B (Temp.)	1351.3124	2	675.6562	160002.2333	3.369	5.526	**
C (Tiempo)	530.1292	2	265.0646	62769.9827	3.369	5.526	**
INTERACCIONES							
AB	11.643563	4	2.9109	689.3284	2.743	4.140	**
AC	6.917607	4	1.7294	408.5399	2.743	4.140	**
BC	73.962363	4	18.4906	4378.7592	2.743	4.140	**
ABC	19.650659	8	2.4563	581.6844	2.321	3.288	**
ERROR	0.1097926	26	0.0042				
TOTAL (CORRECTED)	2796.7092	53					

Fuente: propia

C.V. = 19.41%

RESPUESTA DE PROMEDIO = 37.434

De la tabla 9, según los valores de ANAVA, al nivel de 5 por ciento y 1 por ciento de probabilidad, se pudo observar que existe una alta significancia estadística para todos los factores (Concentración de enzima, A; Temperatura, B; Tiempo de hidrólisis, C) y entre tratamiento, es decir los promedios de las evaluaciones entre los tratamientos Indicando también la existencia de diferencia estadística entre los bloques (repeticiones) e interacciones AB, AC, BC y ABC.

Se realizó la prueba de Tukey, presentándose los resultados en la tabla 10.

**Tabla 10. Promedios ordenados de la prueba de Tukey al 95% de Confianza para el rendimiento de zumo.**

	FACTORES								
	A ([ ] Enzima)			B (Temperatura)			C (Tiempo)		
	A	$\bar{x}$	Sig.	B	$\bar{x}$	Sig.	C	$\bar{x}$	Sig.
1	a <sub>1</sub>	32.01	a	b <sub>3</sub>	31.42	a	c <sub>1</sub>	33.05	a
2	a <sub>2</sub>	39.77	b	b <sub>1</sub>	37.21	b	c <sub>2</sub>	39.10	b
3	a <sub>3</sub>	40.52	b	b <sub>2</sub>	43.67	c	c <sub>3</sub>	40.16	b

Fuente: propia

Como podemos observar en la tabla 10, el factor A en sus niveles a<sub>2</sub> (0,3 ml de enzima /Kg de pulpa) y a<sub>3</sub> (0,5 ml de enzima /Kg de

pulpa) muestran mayor rendimiento superando estadísticamente al nivel  $a_1$  (0,1 ml de enzima/Kg de pulpa); el factor B en su nivel  $b_2$  (50° C) muestra en mayor rendimiento superando a los niveles  $b_1$  (40° C) y  $b_3$  (60° C): de igual forma el factor C en sus niveles  $c_2$  (90 minutos) y  $c_3$  (120 minutos) no muestran diferencia, presentando ambos mayor rendimiento que el nivel  $c_1$  (60 minutos).

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Díaz (1991), quien encontró que los rendimientos en la extracción de jugo de maracuyá, se incrementan a medida que se incrementa la concentración de enzima, tiempo de hidrólisis e incluso la temperatura de incubación.

Los tratamientos enzimáticos de la pulpa antes del prensado, son necesarios para la extracción de jugos de frutas ricas en pectinas.

Las pectinas podrían dar origen a una masa semigelificada que dificulta la extracción de jugo y es así que las enzimas pectolíticas degradan esta estructura gelificada y facilitan la extracción.

Además de mejorar, favorece la extracción de pigmentos, sabores y aromas, mejorando así las características organolépticas del zumo (Campos 1994).

De acuerdo a la prueba de Tukey, las concentraciones de 0,03 por ciento y 0,05 por ciento son estadísticamente iguales; al igual que los tiempos de 90 y 120 min y la temperatura de 50°C resultó la mejor estadísticamente ya que se obtuvo un mayor promedio

de rendimiento.

Debido a ello se decidió seleccionar como tiempo óptimo 90 min, ya que al aplicar más tiempo no vamos a obtener mayor rendimiento. La Temperatura seleccionada fue de 50°C.

Con el fin de seleccionar la concentración de enzima más adecuada se realizó otra prueba, variando la concentración desde 0,02 por ciento a 0,05 por ciento con un incremento de 0,01 por ciento a 50°C / 90 min., los resultados se muestran en la tabla 11.

Los rendimientos obtenidos como zumo turbio, fueron analizados estadísticamente, mediante un DCA presentándose el análisis de varianza en el Anexo 2; el cual indicó diferencia altamente significativa, razón por la cual se aplicó la prueba de Tukey con un  $\alpha = 0,05$  determinándose que el mejor tratamiento fue cuando se utilizó concentraciones desde 0,03 por ciento a 0,05 por ciento; demostrándole lo mismo en la prueba de pectina y de yodo (Tabla 12).

De acuerdo a estos resultados se decidió tomar la concentración de 0,03 por ciento, considerándose de que estos resultados están dentro de lo recomendado, 0,01 por ciento -0,03 por ciento (Rohm Enzyme, 1978; Quest, 1995).

**Tabla 11. Rendimientos de zumo de pulpa de cocona, empleando diferentes concentraciones de enzima PG a 50°C y 90 min.**

<b>ENZIMA (%)</b>	<b>Volumen Extraído (ml.)</b>	<b>Peso del Zumos (g)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>	<b>Diferencia en el Rendimiento(%)</b>
0,02	76,3	75,38	75,38	-9,29
0,03	84,40	83,39	83,39	-1,28
0,04	84,90	83,88	83,88	-0,79
0,05	85,70	84,67	84,67	0,00

Fuente: propia

(\*) Promedio de 2 repeticiones.

**Tabla 12. Resultados de la prueba de pectina y almidón.**

<b>ENZIMA (%)</b>	<b>Prueba de Yodo (Almidón)</b>	<b>Prueba de Despectinación (Pectina)</b>
0,02	+	+
0,03	-	-
0,04	-	-
0,05	-	-

Fuente: propia

+: Presencia de pectina y almidón.

-: Ausencia de pectina y almidón.

### **c. Diagrama de flujo final y balance de materia**

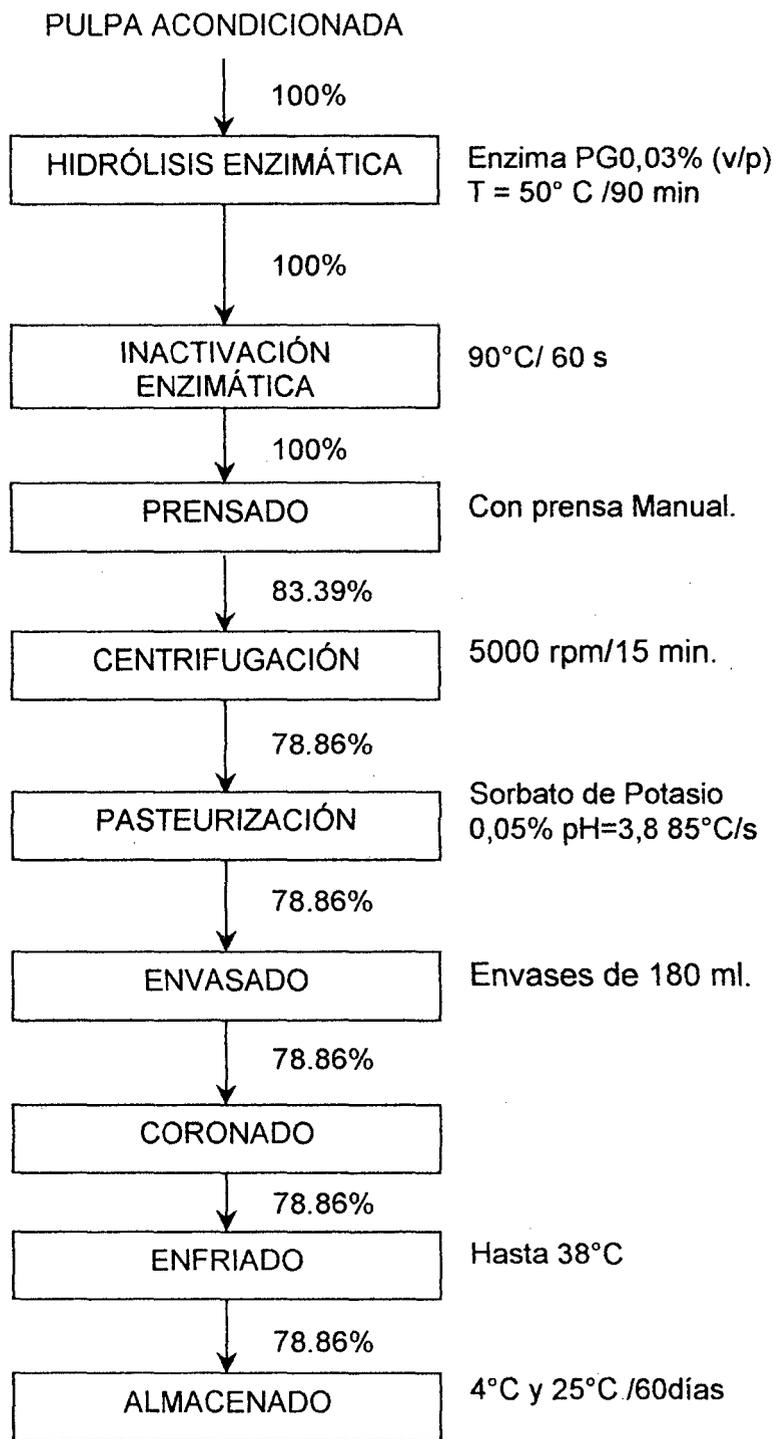
Para la obtención de zumo se utilizaron los parámetros que produjeron mayor rendimiento de zumo durante el tratamiento enzimático, los cuales fueron: Poligalacturonasa (E.C.3.2.1.15) al 0,03 por ciento (0,03 ml/100 g de pulpa), durante 90 minutos y a 50°C. Además se tuvo en cuenta la prueba de yodo y despectinación.

Seleccionándose de esta manera el tratamiento que produjo el zumo más estable, con un rendimiento por prensado de 83,39 por ciento y 78,86 por ciento por centrifugación. Este rendimiento está expresado en pulpa de cocona y peso de zumo (p/p).

#### **1). Diagrama de Flujo y Balance de Materia**

En la Figura 13, se muestran las operaciones y el balance de materia a partir de pulpa acondicionada para la obtención de zumo de cocona por hidrólisis enzimática de la pulpa; con sus respectivos parámetros tecnológicos en cada operación.

El balance de materia que se muestra en base a 100 Kg de pulpa acondicionada donde se observa que la mayor pérdida se produjo en el prensado, obteniéndose un rendimiento en zumo de 78,86 por ciento.



**Figura 13. Diagrama de bloques para la obtención de zumo de cocona, mediante hidrólisis enzimática de la pulpa**

### **Rendimiento**

En la tabla 13, se muestran los rendimientos obtenidos por cada operación, teniendo como base 100 Kg de materia prima, el menor rendimiento por operación se obtuvo durante el cortado, desemillado y refinado seguido del prensado 83,39 por ciento.

Cheftel (1980) y Díaz (1991), reportan rendimientos en jugos mayores de 60% después de hidrolizar pulpas de frutas con enzimas pectolíticas.

Viquez (1979) citado por Soto (1992); reporta que utilizando enzimas pectolíticas se han obtenido los mayores rendimientos 60 por ciento sobre el peso de la pulpa y de 35-45 por ciento sobre el peso de la fruta entera, el rendimiento que se obtuvo después de la centrifugación fue de 78,86 por ciento que es mayor al 60 por ciento indicado en la bibliografía y el rendimiento en función de la cocona entera fue de 53,92 por ciento.

**Tabla 13. Balance de materia y rendimiento por operación durante la obtención de zumo de co|cona, sobre la base de 100 Kg.**

<b>OPERACIONES</b>	<b>Materia que Ingresa (Kg.)</b>	<b>Materia que Sale (Kg.)</b>	<b>Materia que Continúa (Kg.)</b>	<b>Rendimiento por Operación (%)</b>
Pesado	100,000	-	100,00	100,00
Selección	100,000	-	100,00	100,00
Lavado	100,000	-	100,00	100,00
Pelado	100,000	8.12	91.88	91,88
Cortado, Desemillado y	-	-	-	-
Refinado.	91.88	24.15	67,73	77,72
Hidrólisis Enzimática	67.73	-	67,73	100,00
Inactivación Enzimática	67.73	-	67,73	100,00
Prensado	67.73	11.25	56,48	83,39
Centrifugado	56.48	2.56	53,92	95,47
Pasteurizado	53.92	-	53,92	100,00
Envasado	53.92	-	53.92	100,00
Coronado	53.92	-	53,92	100,00
Enfriado	53.92	-	53,92	100,00
Almacenado	53.92	-	53,92	100,00

Fuente: propia

### C. ASPECTOS REOLÓGICOS DE LA PULPA DE COCONA

La Figura 14, muestra la variación de la viscosidad durante el tratamiento enzimático a 50°C y a 0,03 por ciento de enzima, pudiéndose apreciar que ésta disminuyó conforme transcurrió el tiempo, observándose este comportamiento cuando se trabaja a velocidades de 5 rpm presentando una viscosidad inicial de 6887 cP, llegando hasta 1440 cP después del tratamiento enzimático (Anexo 3).

En la Figura 15, se presentan los diagramas reológicos de la pulpa de cocona antes y después del tratamiento enzimático ambos a 30°C; cuyos resultados se muestran en el anexo 4. En la Figura 15, se observa que la pulpa después del tratamiento enzimático requiere un menor esfuerzo de corte, esto está relacionado con el rompimiento de las cadenas de pectinas, las que inicialmente forman con los agregados de pulpas una estructura reticular, que al romperse producen que la pulpa se disgregue en partículas más pequeñas con menor capacidad para ligar agua, provocando así la pérdida de la plasticidad y de la consistencia del producto (Carbonell, 1990).

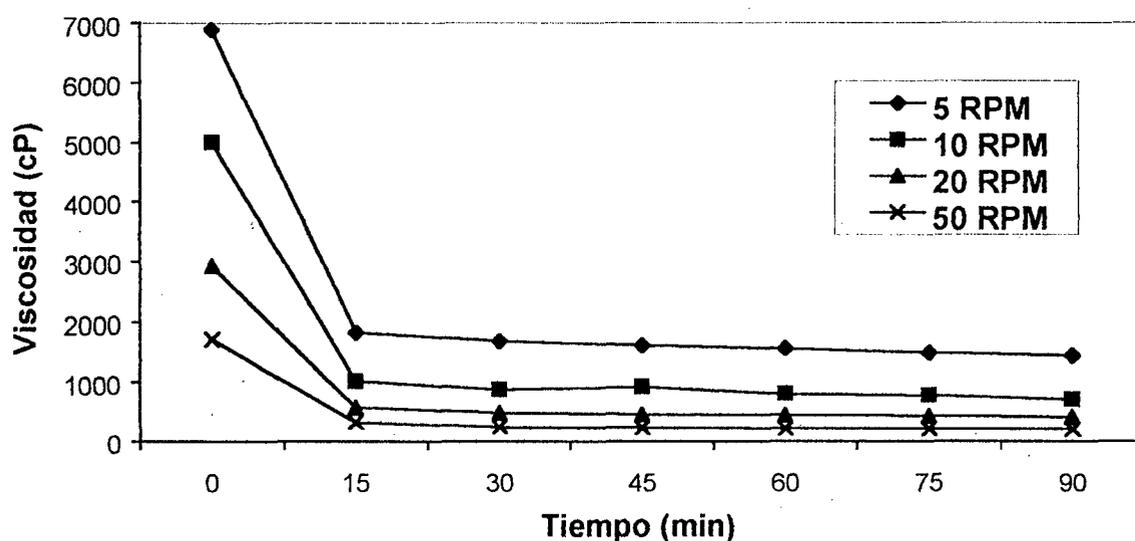


Figura 14. Variación de la viscosidad de la pulpa de cocona, por acción de la poligalacturonasa (PG)

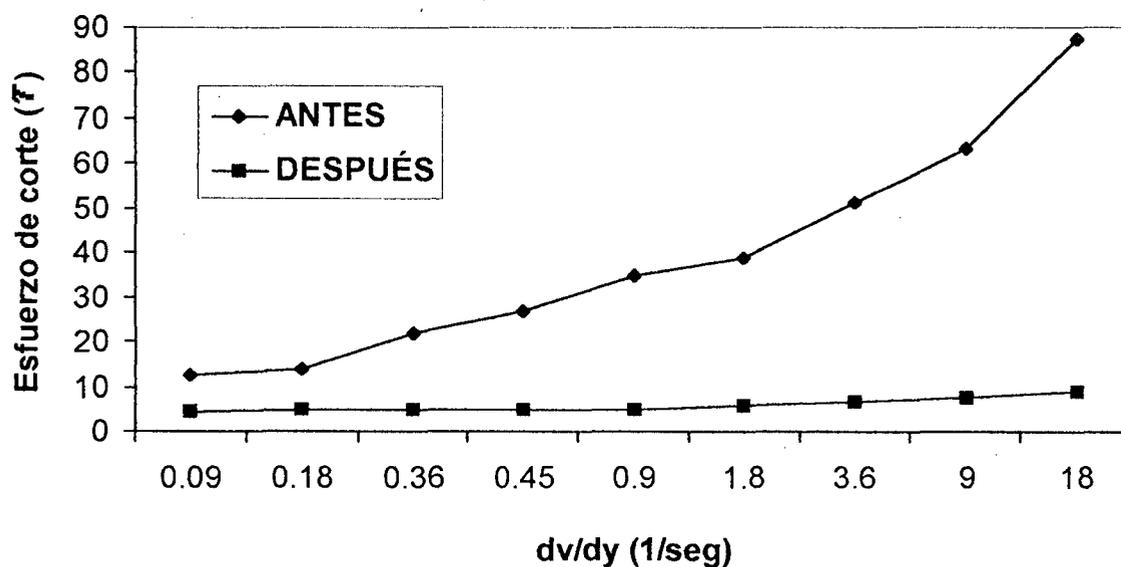


Figura 15. Diagrama reológico de la pulpa de cocona antes y después del tratamiento enzimático

## **D. CARACTERIZACIÓN DEL ZUMO Y ALMACENAMIENTO**

Se almacenaron durante 60 días, realizando evaluaciones cada 20 días, los resultados de los análisis físico-químico, análisis sensorial y microbiológico se muestran en las tablas 14, 15 y 16.

### **1. Análisis Físico-Químico**

En la tabla 14, se observa que el pH y la acidez total no experimentan cambios significativos tanto en las muestras almacenadas en refrigeración como los almacenados a temperatura ambiente. Se observa que el contenido de vitamina C, experimenta una notable disminución durante el almacenamiento, encontrándose al final del almacenamiento tan solo trazas.

Se sabe que el ácido ascórbico es muy débil e inestable y puede ser degradado por muchas vías, siendo la oxidación y la degradación térmica los más importante (Badui, 1984).

La estabilidad del ácido ascórbico aumenta a medida que disminuye la temperatura; también se aprecia que los azúcares reductores y totales experimentan un ligero incremento, pero mayor en el zumo almacenado a temperatura ambiente, esto es debido a la hidrólisis de los almidones presentes en el zumo, así como en la inversión de la sacarosa, mediante el cual el disacárido se hidroliza bajo la acción de los ácidos débiles en sus componentes fructosa y glucosa, (Fennema, 1993). Así mismo Cheftel (1980), manifiesta que la sacarosa sufre un proceso de hidrólisis lo que está favorecido por el pH ácido, la temperatura y el tiempo, produciéndose durante el almacenamiento.

**Tabla 14. Análisis Físico-químico del zumo de cocona durante el almacenamiento.**

COMPONENTES	Temperatura ( °C)	DIAS			
		0	20	40	60
pH	A	3,64	3,64	3,65	3,64
	R	3,64	3,65	3,66	3,64
Acidez Titulable	A	0,93	0,93	0,93	0,92
	R	0,93	0,92	0,91	0,91
Vitamina C.	A	1,11	0,17	Trazas	Trazas
	R	1,11	0,45	Trazas	Trazas
Azúcares Reductores	A	18,60	19,41	20,28	21,05
	R	18,60	18,78	19,31	19,81
Azúcares Totales	A	37,70	39,52	41,23	43,10
	R	35,70	37,93	39,53	40,27
Viscosidad	A	0,7630	0,7630	0,7630	0,7630
	R	0,7630	0,7630	0,7630	0,7630
Sólidos Solubles	A	13,0	12,8	12,8	13,0
	R	13,0	12,8	12,6	12,6
Densidad		0,988			

Fuente: propia

R : Temperatura de Refrigeración, 4° C.

A : Temperatura Ambiente, 25° C.

Respecto a la viscosidad se puede apreciar que no muestra cambio alguno, durante el almacenamiento; lo cual indica que no hay presencia de enzima residual (quedó inhibida durante el tratamiento térmico).

## 2. Análisis Sensorial

El resultado de evaluación sensorial se realizó después de 60 días de almacenamiento, donde se observa que el zumo de cocona tiene el siguiente calificativo para los siguientes atributos: sabor, aroma y color.

**Tabla 15. Resultados de la Evaluación sensorial del Zumo de Cocona, almacenado 60 días.**

Atributos	Puntajes (Promedio)		Calificativo	
	A	R	A	R
Sabor	6,88	7,15	Aceptable	Bueno
Aroma	6,65	7,28	Aceptable	Bueno
Color	7,56	8,58	Amarillo opaco	Amarillo Claro

Fuente: propia

R: temperatura de la refrigeración, 4°C.

A: Temperatura ambiente, 25°C.

Estos resultados fueron calificados mediante una escala hedónica de 9 puntos y con 15 panelistas semientrenados para ambas muestras; a refrigeración y ambiente. Según los Puntajes promedios para sabor y aroma para las muestras almacenadas a refrigeración presentan un calificativo de bueno mientras que las muestras almacenadas a

temperatura ambiente presentan un calificativo de aceptable a bueno, de esto podemos decir que el mejor tratamiento fue el almacenado a temperatura de refrigeración (4° C).

Para el caso del color los almacenados a temperatura ambiente presentan un color amarillo opaco y los almacenado en refrigeración un color amarillo claro.

### **3. Análisis Microbiológico**

En la tabla 15, se muestran los resultados del análisis microbiológico, donde se observa que el zumo almacenado a ambas temperaturas, no presentó presencia de bacterias aerobios viables, lactobacillus, mohos y levaduras. Lo que confirma la efectividad del pasteurizado, la acción del preservante (sorbato de potasio) y la hermeticidad del envase que no permitió la contaminación; aunque Mossell (1985), asegura que es frecuente encontrar mohos y levaduras en zumos de frutas.

**Tabla 16. Análisis microbiológico del zumo de cocona durante el almacenamiento.**

DETERMINACIONES	Temperatura (° C)	DIAS	
		0	60
Numeración de Bacterias Aerobias	A	Ausencia/ml	Ausencia/ml
Viables	R	Ausencia/ml	Ausencia/ml
	A	Ausencia/ml	Ausencia/ml
Numeración de lactobacillus	R	Ausencia/ml	Ausencia/ml
	A	Ausencia/ml	Ausencia/ml
Numeración de Mohos y Levaduras	R	Ausencia/ml	Ausencia/ml

Fuente: propia

A : Temperatura Ambiente, 25°C.

R : Temperatura de Refrigeración, 4°C.

## V. CONCLUSIONES

Sobre la base de los resultados obtenidos podemos indicar las siguientes conclusiones:

1. Se determinó que la pulpa de cocona con un índice de madurez de 6,0 presentó mejores condiciones para la obtención de zumo, caracterizándose por presentar un 92,78 por ciento de humedad; 4,2 por ciento de carbohidratos y 1,74 por ciento de proteínas, y los demás componentes en pequeñas cantidades.
2. La actividad de la Poligalacturonasa ( E.C. 3.2.1.15) fue de 292 U/ml, obteniéndose un zumo más estable a la sedimentación y un rendimiento de 78,86 por ciento sobre el peso de la pulpa y 53,92 por ciento sobre el peso de la fruta entera, cuando se utilizó 0,03 por ciento de enzima a 50°C/90 minutos de hidrólisis y a pH de 3,8 natural de la fruta.
3. Se determinó que el zumo almacenado durante 60 días a refrigeración (4°C) presentó mayor estabilidad ya que las características físico-químicas no presentaron variaciones significativas, calificándose sensorialmente por su buena aceptación.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Emplear el zumo de cocona como bebida refrescante, para uso en fermentaciones y otros productos.
2. Efectuar trabajos de investigación empleando otros frutos nativos de la región para fomentar su industrialización y por ende superación de la Región.
3. Utilizar un bioreactor con enzimas inmovilizadas con el fin de reducir costos de producción.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

- ADRIAN, J.; FRANGNE, R. 1990. La ciencia de los alimentos de la A a la Z. Zaragoza, Esp. Acribia. 317 p.
- ANZALDUA, M.A. 1994. La Evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Zaragoza, Esp. Acribia. 198 p.
- A.O.A.C. 1984. Official methods of analysis of the association of official methods of analysis of the association analytical chemists. 10 ed. EEUU.
- A.O.A.C. 1997 Official methods of analysis of the association of official methods of analysis of the association analytical chemists. 16 ed. Vol. I and II. EEUU.
- BADUI, S.D. 1984. Química de los alimentos. 3 ed. México, D.F., Méx. Alambra 648 p.
- BARBOZA-CANOVAS, G.; IBARZ, A.; PELEG, M. 1993. Propiedades reológicas de alimentos fluidos. En: Revisión Alimentaria, Abril. Pp. 39-89.
- BELITZ, H.; GROSCH, W. 1988. Química de alimentos. Zaragoza, Esp. Acribia 813 p.
- BRAVERMAN, J.B. 1980. Introducción a la bioquímica de los alimentos. Traducción del inglés por Fernando A. Hill. México, D.F., Méx. Manual Moderno. 358 p.
- CALZADA, B. 1980. 143 Frutales nativos. Lima, Perú. UNA-La Molina. 366 p.
- CAMPOS, G.B. 1994. Uso de enzimas en la industria alimentaria. Lima, Perú. UNA-La Molina. 65p.

- CARBONELL, B.; COSTELL, I; DURAN, H. 1990. Influencia de la composición en el comportamiento de flujo de los productos derivados de fruta. En: Alimentos revisión bibliográfica. Vol. 15, N° 4. Pp. 55-61.
- CARMONA, R. 1990. Evaluación de las propiedades reológicas de la pulpa y néctar de dos tipos de cocona ( *Solanum tojiro*), Tesis (Ing), Tingo Maria: Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- CHEFTEL, J.C. y CHEFTEL, H. 1980. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Zaragoza, Esp. Acribia. Vol. I. Pp. 152-153, 189, 162-166, 202-204. Vol. II. Pp. 304-308.
- CHITARRA, M. 1990. Pos cosecha de frutos y hortalizas; fisiología y manejo. LAVRAS: ESAL/FAEP Brasil. Pp. 49-54
- DANIEL, W. 1996. Bioestadística; base para el análisis de las ciencias de la salud. México, D.F., Méx. Limusa. Pp. 383-396.
- DIAZ, R.A.T. 1991. Uso de las enzimas en el procesamiento de jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*), Tesis (Ing), Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. 86 p.
- DZIEZAK, J.D. 1991. Enzymes; catalysts for food processes. Food Technol. January. Pp. 77-85.
- FELLOWS, F. 1994. Tecnología del procesado de los alimentos; principios y prácticas. Zaragoza, Esp. Acribia. 550 p.
- FENNEMA, O.R. 1993. Química de los alimentos. Zaragoza, Esp. Acribia. 1070 p.
- FUENTE, Brito de La. 1995. Memorias del curso; Reología y su aplicación al procesamiento de alimentos. Julio 4 al 7 México. 101 p.

- GARCIA, G.; QUITERO, R.; LOPEZ-MUNGUIA, C. 1993. Biotecnología alimentaria. México, D.F., Méx. Limusa. 636 p.
- GEANKOPLIS, C. 1995. Procesos de transporte y operaciones unitarias. 2 ed. México, D.F., Méx. Continental. Pp. 66-70.
- GIST BROCADES, 1991. Rapidace C 80; Información técnica. Food Ingredients división. Seclin Cedez. Francia. 2p.
- GUERE, CH. 1990. Estudio de la Preservación de la cocona (*Solanum topiro*) al estado fresco por método de parafinado. Tesis (Ing), Tingo María: Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- HILL, B. 1964. Tratado de botánica. Barcelona, Esp. Omega.
- HART, F. L.; FISHER, H. J. 1994. Análisis moderno de los alimentos. Traducción del inglés por Justino Burgos Gonzáles. Zaragoza, Esp. Acribia. 619 p.
- ICMSF. 1983. Microorganismos de los alimentos 1; Técnicas de análisis microbiológicos. Zaragoza, Esp. Acribia. 413 p.
- INDECOPI. 1976. Norma técnica, Lima-Perú. 10 p.
- LEWIS, M. 1993. Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado. Zaragoza, Esp. Acribia. Pp 101-132.
- MADDEN, D. 1991. In a jam and out juice. NCBE Newsletter, Winter. Pp. 1-5.
- MADRID, V. 1994. Métodos oficiales de análisis de los alimentos. Madrid, Esp. Mundi-Prensa. Pp. 325.
- MANAYAY, D. 1986. Determinación de los parámetros tecnológicos para el procesamiento de conservas de cocona (*Solanum topiro*) en almibar, Tesis (Ing), Tingo María: Universidad Nacional Agraria de la Selva.

- MATOS, J. 1992. Uso de enzimas pectolíticas en la clarificación de jugos de manzanas (*Malus silvestris Mill*), Tesis (Ing), Tingo María: Universidad Nacional Agraria de la Selva.
- MAYES, P.A. *et al.* 1988. Bioquímica de Harper. México, D.F., Méx. El Manual Moderno. Pp. 68-69.
- MILLER, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31(3): 426-428.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2000. Producción hortofrutícola. Oficina de información agraria. Lima, Perú. Diciembre.
- MITSCHKA, P. 1982. Simple conversión of Brookfield R.V.T. reading into viscosity functions. In AR-82, *Rheologica acta* 21,207. Institute of chemical process fundamentals, Czechoslovak Academy of Sciences, Prague. Pp. 207-209.
- MONTEIRO, S. 1993. Transformaciones bioquímicas. Pp. 19-38. En curso internacional Poscosecha de Frutas y hortalizas, 18-27 de Octubre de 1993. Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María, Perú.
- MOSSEL, D.; MORENO, G. 1985. Microbiología de los alimentos. Zaragoza, Esp. Acribia. 375 p.
- NEUFELD, E. *et al.* 1968. *Methods in enzymology; complex carbohydrates*. 2 ed. EE.UU. Academic Press. Pp. 628-641.
- NOVO INDUSTRI A/S ENZYMES DIVISION BAGSVAERD. 1986. *Novo's handbook of practical biotechnology*. Edited by C.O.L. Boyce. 125 p.
- OSORIO, L. 1990. Reología en alimentos, I Parte: Aspectos reológicos de alimentos fluidos. En: *Alimentos* No. 4, Vol. 15. Pp. 33-36.

- PELAEZ, S.P.P. 1998. Estudio del tratamiento enzimático y viscosidad de la pulpa de plátano tipo Seda (*Musa acuminata*) en la obtención de jarabe, Tesis grado Magíster Industrias Alimentarias, UNA La Molina. Lima, Perú.
- PILNIK, W.; ROMBOUITS, F. 1996. Obtención de jugo de papaya (*Carica papaya* L.), utilizando enzimas pectolíticas. Tesis (Ing), Tingo María: UNAS.
- QUEST INTERNACIONAL. Sin fecha hoja técnica Biopectinace-LM, General Description.
- QUINTERO, R.R. 1987. Ingeniería bioquímica. México. Academic Press. 332 p.
- RANGANA, S. 1979. Manual of analysis of fruit and vegetable products. New Delhi. McGraw-Hill Published Company Limited. Pp. 21-54.
- RHOM ENZYME. 1978. Technical information 1.0. Test de alcohol para controlar restos de pectina en zumos de fruta. Diciembre. Kirschenallee, Postfach 4242.
- RHON ENZYME. 1980. Technical information 1.1.1. Test with free-run juice to evaluate pressability of apple mash. July. Kirschenallee, Postfach 4242.
- ROBINSON, D.S. 1991. Bioquímica y valor nutritivo de los Alimentos. Zaragoza, Esp. Acribia. 516 p.
- ROYO, I.J. 1977. Contenido de pectina de las fases líquidas y sólidas del zumo de naranja y del extracto acuoso de la corteza. En: Revista agroquímica y tecnología alimentaria, 17 (1): 79-85.
- SCHMIDT, H.H; PENNACHIOTTI, MI. 1982. Las enzimas en los alimentos; Su importancia en la química y tecnología de los alimentos. Fundación Chile. 93 p.

- SCRIBAN, R. 1988. Biotecnología. 2 ed. México, D.F., Méx. El Manual Moderno. 669 p.
- SEGEL, I.H. 1982. Cálculos de bioquímica. Zaragoza, Esp. Acribia. 564 p.
- SHEWFELT, R. L. 1993. Postharvest handling a systems. Approach. Inc. EE.UU. Academic Press.
- SOTO, B. M. 1992. Bananos; cultivo y comercialización. 2 ed. Costa Rica. Editorial LIL. 649 p.
- STEFFE, J. 1992. Rheologica methods in food process engineering. Michigan, USA. Freeman Press. Pp. 103-113.
- VERSTEG, C.; ROMBOUTS, F.; SPAASEN, C.; PILNIK, W. 1980. Thermostability and orange juice cloud destabiling properties of multiple pectinesterases from orange. In: Journal of food science. Vol. 45, N° 4. EE.UU. Pp. 969-971.
- WITTIE, E.P. 1984. Evaluación sensorial una metodología actual para tecnología de alimentos. Universidad de Chile. 134 p.

## **VIII. ANEXOS**

## ANEXO 1

Ecuaciones utilizadas para ajustar los datos experimentales de los índices de madurez evaluados en Cocona.

- Para la Figura 6 su ecuación es:

$$Y = \text{HUMEDAD (\%)} \quad X = \text{GRADO DE MADUREZ}$$

$$Y = 0,1858 X^3 - 2,0861X^2 + 7,8581X + 82,744$$

$$r^2 = 0,9974$$

- Para la Figura 7 su ecuación es:

$$Y = \text{GRADOS BRIX} \quad X = \text{GRADO DE MADUREZ}$$

$$Y = 4.740 - 2.700X + 1.425X^2 - 0.175 X^3$$

$$r^2 = 0.998$$

- Para la Figura 8 su ecuación es:

$$Y = \text{PULPA /CASCARA} \quad X = \text{GRADO DE MADUREZ}$$

$$Y = 0,0108X^3 + 0,1089X^2 - 0,1402X$$

$$r^2 = 0,997$$

- Para la Figura 9 su ecuación es:

$$Y = \text{pH} \quad X = \text{GRADO DE MADUREZ}$$

$$Y = 5.004 - 1.506X + 0.489X^2 - 0.045X^3$$

$$r^2 = 0,996$$

- Para la Figura 10 su ecuación es:

$$Y = \text{ACIDEZ TITULABLE} \quad X = \text{GRADO DE MADUREZ}$$

$$Y = 0,0025X^3 - 0,0304X^2 + 0,0971X + 0,852$$

$$r^2 = 0.9384$$

## ANEXO 2

**Tabla 17. Análisis de varianza de los rendimientos de zumo de pulpa de cocana, empleando diferentes concentraciones de enzima (PG)**

F.V.	S.C.	g.l.	C.M.	F	F(5%)	Sig.
Tratamiento	115.255	3	38.418	12.806	6.591	*
Error	12.000	4	3.000			
Total	127.255	7				

Fuente: propia

**Tabla 18. Prueba de rangos múltiples para el rendimiento de pulpa de la cocona por % de enzima**

## METODO DE TUKEY

NIVEL	COUNT	PROM.	GRUPOS HOMOGENEOS
0.02	2	76.3	X
0.03	2	84.4	X
0.04	2	84.9	X
0.05	2	85.7	X

Fuente: propia

CONTRASTE	DIFERENCIAS	+ / - LIMITES
0.02 - 0.03	-8.1	7.05104 *
0.02 - 0.04	-8.6	7.05104 *
0.02 - 0.05	-9.4	7.05104 *
0.03 - 0.04	-0.5	7.05104
0.03 - 0.05	-1.3	7.05104
0.04 - 0.05	-0.8	7.05104

Fuente: propia

\* DENOTA DIFERENCIAS ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVAS

### ANEXO 3

**Tabla 19. Resultados de la Variación de la viscosidad de la pulpa de cocona en el Tratamiento enzimático.**

Temperatura = 50°C

Concentración de Enzima = 0.03%

Viscosímetro Brookfield LV.

Spindle de disco N° 3

Lectura del dial (\*) x FACTOR = Viscosidad en Centipoise (cP)

(Mitschka, 1982)

(\*): Promedio de dos repeticiones.

Tiempo (Minutos)	Velocidad Angular (RPM)			
	5	10	20	50
Viscosidad (cP)				
0	6887	5003.0	2927.0	1716.0
15	1824	1020.0	575.9	328.7
30	1680	875.8	485.9	247.1
45	1608	923.0	455.9	228.0
60	1560	805.8	446.9	219.0
75	1488	779.8	431.9	211.2
90	1440	707.8	407.9	199.2

Fuente: propia

## ANEXO 4

**Tabla 20. Resultados para el diagrama reológico de la pulpa de cocona antes del tratamiento con PG.**

Temperatura = 30°C

Viscosímetro Brookfield LV

Spindle de disco N° 3

$dv/dy$ (1/seg)	Veloc.(RPM)	$\tau$ (%)	$\mu$ (cP)
0.09	0.5	12.3	29514
0.18	1.0	14.0	16796
0.36	2.0	21.7	13077
0.45	2.5	26.8	12861
0.90	4.0	34.9	10468
1.80	5.0	38.8	9310
3.60	10.0	51.1	6131
9.00	20.0	63.2	3791
18.00	50.0	87.4	2104

Fuente: propia

**Tabla 21. Resultados para el diagrama reológico de la pulpa de cocona después del tratamiento con PG.**

Temperatura = 30°C

Viscosímetro Brookfield LV

Spindle de disco N° 3

$dv/dy$ (1/seg)	Veloc. (RPM)	$\tau$ (%)	$\mu$ (cP)
0.09	0.5	4.3	10318.0
0.18	1.0	4.7	5639.0
0.36	2.0	4.8	2879.0
0.45	2.5	5.1	2447.0
0.90	4.0	5.0	1500.0
1.80	5.0	5.7	1368.0
3.60	10.0	6.7	803.8
9.00	20.0	7.5	449.9
18.00	50.0	8.7	208.8

Fuente: propia

**ANEXO 5**

**HOJAS DE COSTOS DE PRODUCCIÓN**

DETALLE	MATERIAS PRIMAS Y AUXILIARES			MANO DE OBRA			CARGOS INDIRECTOS		
	CANTIDAD	C.U.	TOTAL	CANTIDAD	C.U.	TOTAL	CANTIDAD	C.U.	TOTAL
Cocona	100 kg	0,50	50,00						
Enzima	0.002 ml	13,30	0,30						
Sorbato de potasio	0,03 g	0,30	0,009						
Salario						40,00			
Energía Eléctrica									10,00
Envases (300 ml )							304 und.	0,2	60,80
Tapas							304 und.	0,08	24,43
Depreciación									5,55
			50,31			40,00			100,78

<b>Costo Total</b>	191,08
<b>Unidades Producidas</b>	304 und
<b>Costo Unitario</b>	S/. 0,62