



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN
TECNOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTADO DE JALISCO, A. C.**

**“EFECTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE REDUCCIÓN DE
TAMAÑO SOBRE
LA CALIDAD SENSORIAL DEL AGUACATE LIOFILIZADO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO

ACADEMICO DE

MAESTRO EN CIENCIA Y

TECNOLOGIA

EN LA ESPECIALIDAD DE

PROCESOS AGROINDUSTRIALES

PRESENTA

I.B.Q. RAFAEL DUEÑAS VARGAS



GUADALAJARA, JAL. NOVIEMBRE 2016.

AGRADECIMIENTOS

- ✓ A Dios por darme la oportunidad de realizar un logro más en mi vida, para mi familia.
- ✓ A mi acompañante fiel e incansable de mi vida. Mi esposa y mis hijos
- ✓ A mis padres y hermanos por su apoyo incondicional.
- ✓ Al Ing. Gerónimo Villanueva Noguera, por su apoyo material y emocional.
- ✓ A mi familia SI O SI, por el apoyo a lo largo del desarrollo de este esfuerzo.
- ✓ A mis asesores la Dra. Socorro Villanueva Rodríguez, y al Dr. José Octavio Rodiles López, y tutores: Dr. Ricardo Cosío Ramírez, Ing. Francisco Javier Pérez Martínez, por creer en mí.
- ✓ A los MVZ. Adrián Sánchez Orozco, M.C Manuel López del laboratorio de Histopatología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por el apoyo en el desarrollo de las técnicas histológicas.
- ✓ Al Dr. Héctor Martínez Flores y el Dr. Rosalío Mercado Camargo, por permitir realizar gran parte de los experimentos en sus laboratorios.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	
1. El aguacate	
1.1. Taxonomía.....	4
1.2. Anatomía	5
1.3. Fisiología	6
1.3.1. Maduración	10
A. Dureza.....	11
1.4. Aspectos nutritivos	12
2. Métodos de conservación	
2.1. Frío 16	
2.2. Calor	16
2.3. Modificación de la cantidad de agua	17
2.4. Métodos químicos	17
3. Tecnologías de conservación del aguacate	
3.1. Refrigeración	18
3.2. Congelación.....	19
3.3. Deshidratación.....	20
3.3.1. Deshidratación Osmótica	20
3.3.2. Secado por aspersión	20
3.3.3. Liofilización.....	20
3.3.4. Propiedades de polvos instantáneos.....	21
A. Humectabilidad	22
4. Actividad acuosa.....	
4.1. Relación entre la actividad de agua y la temperatura.....	24
4.2. Actividad microbiana en relación con su aw	24
4.3. actividad acuosa y conservación de alimentos.....	25
5. Altas presiones	
6. Microscopia y microestructura	
6.1. Tipos de microscopía	27
7. Síosí alimentos	
8. Aguacate liofilizado.....	
8.1. Alteraciones sensoriales.....	31
8.2. Procesos oxidativos.....	32

8.2.1. Oxidación por oxígeno	32
8.2.2. Oxidación por enzimas.....	33
8.3. Reacción de maillard	35
8.4. Reacciones enzimáticas.....	40
8.5. Otros cambios	42
II. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	
III. HIPÓTESIS	
IV. OBJETIVOS.....	
1. Objetivo general.....	
2. Objetivos específicos	
V. METODOLOGÍA	
1. Diseño experimental	
1.1. Variables de estudio	46
1.2. Variables de respuesta.....	46
1.3. Factores constantes	46
1.4. Diseño de experimentos	46
2. Etapas del proceso	
2.1. Determinación de madurez.....	49
2.2. Corte.....	50
2.3. Extracción del pericarpio	50
2.4. Altas presiones	51
2.5. Reducción de tamaño.....	52
2.6. Congelado rápido de muestras.....	52
2.7. Liofilizado.....	53
3. Parámetros de estudios	
3.1. Microscopia	53
3.2. pH	55
3.3. Actividad de agua	56
3.4. Humectabilidad.....	56
3.5. Índice de acidez.....	57
3.6. Compuestos volátiles	58
4. Análisis estadístico	
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	

1. Microscopia.....	
1.1. Sin tratamiento	62
1.2. Tratamiento 1	64
1.3. Tratamiento 2	65
1.4. Tratamiento 3	66
1.5. Tratamiento 4	67
2. Otras variables de respuesta	
2.1. pH 68	
2.2. % Acidez.....	70
2.3. Humectabilidad.....	72
2.4. Actividad de agua	74
2.5. Compuestos volátiles	76
VII. CONCLUSIONES	
VIII. PERSPECTIVAS	
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	
X. ANEXOS	
1. Determinación de humedad.....	
2. Determinación de humectabilidad.....	
3. Análisis histológicos.....	
4. Determinación del porcentaje de acidez	
5. Determinación de pH	
6. Determinación de dureza.....	
7. DETERMINACIÓN de actividad acuosa	
8. Determinación de compuestos volátiles.....	
9. Cromatogramas	
9.1. Aguacate entero 1	103
9.2. Aguacate entero 2	104
9.3. Fricción sin altas presiones	105
9.4. fricción sin altas presiones.....	106
9.5. compresión con altas presiones	107
9.6. compresión con altas presiones	108

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido nutrimental del aguacate. %.....	13
Tabla 2. Composición de ácidos grasos.	13
Tabla 3. Perfil de lípidos del aguacate.	13
Tabla 4. Factores en la oxidación de lípidos	32
Tabla 5. Compuestos volátiles en aguacate fresco	34
Tabla 6. Aromas de aminoácidos por calentamiento	38
Tabla 7. Factores en la reacción de Maillard.	40
Tabla 8. Técnicas a utilizar.....	48
Tabla 9. Altas presiones.....	51
Tabla 10. Asignación de lotes de experimentación	52
Tabla 11. Tratamientos experimentales	61
Tabla 12. Análisis de pH	69
Tabla 13. Análisis de acidez.....	70
Tabla 14. Análisis de humectabilidad.....	73
Tabla 15. Análisis de actividad de agua.....	76
Tabla 16. Compuestos volátiles de tratamientos.....	77
Tabla 17. Compuestos volátiles presentes en el aguacate fresco y liofilizado.	¡Error!

Marcador no definido.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción de aguacate en michoacán (SIAP, 2015).....	3
Figura 2. Partes del fruto de aguacate (Cummings & Schroeder, 1942).....	6
Figura 3. Métodos de conservación de alimentos	15
Figura 4. Oxidación de lípidos insaturados por oxígeno.	33
Figura 5. Oxidación de lípidos por enzimas	33
Figura 6. Reacción de Maillard. Etapa 1.	36
Figura 7. Reacción de Maillard. Etapa 2.	37
Figura 8. Reacción de Maillard. Etapa 3.	38
Figura 9. Reacción de Maillard. Etapa 4.	39
Figura 10. Vías de degradación del pericarpio del aguacate.	41
Figura 11. Diseño de experimentos.	47
Figura 12. Determinación de madurez	49
Figura 13. Corte del aguacate.....	50

Figura 14. Extracción del mesocarpio	50
Figura 15. Equipo altas presiones. Hiperbaric, Wave 55.	51
Figura 16. Metodología para análisis microscópico	54
Figura 17. Metodología para análisis de pH.....	55
Figura 18. Metodología para determinar actividad acuosa	56
Figura 19. Metodología para determinación de humectabilidad.....	57
Figura 20. Metodología para determinación de acidez	58

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Árbol de aguacate.....	5
Ilustración 2. Lisis celular producida por métodos mecánicos.	31
Ilustración 3. Colores característicos de las clorofilas y carotenoides.....	42
Ilustración 4. Equipo de congelación.....	53
Ilustración 5. Termo Balanza.....	92
Ilustración 6. Humectabilidad	93
Ilustración 7. Formación de Bloques	94
Ilustración 8. Corte de la Muestra	95
Ilustración 9. Tinción	96
Ilustración 10. Microscopio Óptico	96
Ilustración 11. Equipo.....	98

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Aguacate sin tratamiento.....	62
Imagen 2. Vista general de un corte longitudinal de células del mesocarpio.	63
Imagen 3. Aguacate sin altas presiones + reducción por fricción.	64
Imagen 4. Aguacate sin altas presiones + reducción por compresión	65
Imagen 5. Aguacate con altas presiones + reducción por fricción	66
Imagen 6. Aguacate con altas presiones + reducción por compresión	67
Imagen 7. Tamaño y Peso de Materias Primas	99
Imagen 8. Texturómetro.....	100

ÍNDICE DE GRÁFICAS

<u>Gráfica 1. ANOVA. Análisis de pH</u>	<u>68</u>
<u>Gráfica 2. ANOVA. Análisis de acidez</u>	<u>70</u>
<u>Gráfica 3. ANOVA. Análisis de humectabilidad</u>	<u>73</u>
<u>Gráfica 4. ANOVA. Análisis de actividad de agua</u>	<u>75</u>
<u>Gráfica 5. Desaparición de compuestos volátiles del aguacate fresco con respecto a la fricción y compresión</u>	<u>759</u>
<u>Gráfica 6. Aumento compuestos volátiles del aguacate fresco con respecto a la fricción y compresión.....</u>	<u>80</u>
<u>Gráfica 7. Disminución de compuestos volátiles del aguacate fresco con respecto a la fricción y compresión.....</u>	<u>81</u>
<u>Gráfica 8. Aparición de compuestos volátiles menores a 38000 unidades de abundancia en los tratamientos de fricción y compresión.....</u>	<u>82</u>
<u>Gráfica 9. Aparición de compuestos volátiles mayores a 38000 unidades de abundancia en los tratamientos de fricción y compresión... ..</u>	<u>83</u>

RESUMEN

Este trabajo se realizó con el fin de identificar algunos de los factores que afectan la estabilidad de la pulpa de aguacate liofilizada. Este análisis se basó principalmente en el monitoreo de las grasas cuyo deterioro se considera como el principal responsable de la aparición de sabores y olores indeseables al consumidor. Se elaboraron lotes de producto a partir de un lote único de aguacate en estado de madurez óptima, dicho grado de madurez se determinó mediante un análisis de textura. Posteriormente, se prepararon dos lotes de producto: a uno de ellos se le aplicó el proceso de inactivación enzimática, y a otro no, y a cada uno de los dos lotes se les aplicaron dos diferentes métodos de reducción de tamaño con la finalidad de observar el efecto sobre la ruptura celular, haciendo la hipótesis de que uno de estos dos métodos provoca una mayor exposición y contacto de las sustancias contenidas en el pericarpio. La inactivación enzimática se realizó mediante un proceso de altas presiones. Por otro lado, la reducción de tamaño se realizó por compresión y por fricción. Posteriormente, todos los tratamientos fueron liofilizados y se realizaron estudios fisicoquímicos y microbiológicos.

El análisis visual de las imágenes obtenidas por microscopía mostró que el tratamiento que tiene menor impacto sobre la ruptura celular es el de compresión sin inactivación enzimática. Por su parte, el tratamiento con altas presiones sin importar el método de reducción, presentó una ruptura total, al igual que la fricción. Posteriormente se liofilizó la pulpa obtenida con cada uno de los tratamientos para contabilizar los efectos sobre cada una de las siguientes variables monitoreadas, ácidos grasos libres, actividad de agua, humectabilidad, pH, y compuestos volátiles. Los resultados muestran que la aplicación de altas presiones baja el pH, aumenta la acidez, y aumenta los tiempos de humectabilidad. Por otro lado, la fricción, comparada con la compresión, disminuye el pH, aumenta la acidez y los tiempos para la humectabilidad. Todas las muestras problema tienen valores de actividad de agua superior a 0.25 y menor a 4.0. Esto implica que la A_w no contribuiría de manera significativa a la oxidación de lípidos. Las muestras tratadas por fricción tienen una actividad de agua significativamente mayor que las muestras tratadas por compresión..

De acuerdo a los resultados del perfil de compuestos volátiles, todos los tratamientos generan nuevos compuestos volátiles con respecto al aguacate fresco, tanto en los estudios con y sin altas presiones y por fricción y por compresión.

Los resultados sugieren que, para las condiciones en las que se llevó a cabo el estudio, la mejor opción de tratamiento es la compresión sin altas presiones.

ABSTRACT

This work was done in order to be able to identify the factors affecting the stability of freeze dried avocado pulp. This analysis is based mainly on monitoring fats whose deterioration is considered as the main responsible of the occurrence of undesirable flavors and odors for consumers. Product batches were produced from a single avocado batch in a state of optimum ripeness, and this maturity was determined by texture analysis. Subsequently, two batches of product were prepared; one of them was applied the process of enzyme inactivation, and other not, and in each of the two lots were applied two different methods of size reduction in order to observe the effect on cell rupture, making the hypothesis of that one of these two methods causes greater exposure and contact of the substances contained in the pericarp. Enzyme inactivation was performed by high pressure process. Furthermore, size reduction was done by compression and friction. Subsequently all treatments were freeze dried and physicochemical and microbiological studies were realized.

The visual analysis of images obtained by microscopy showed that the treatment with less impact on cell disruption is the compression without enzyme inactivation, meanwhile treatment with high pressure regardless of the reduction method presented a complete break, as friction. Subsequently the pulp obtained with each of the treatments was freeze dried to account for the effects on each of the following variables monitored, free fatty acids, water activity, wettability, pH, and volatile compounds. Results show that the application of high pressure lowers pH, increases acidity and wettability times. By contrast, the friction, compared with compression, lowers pH, increases acidity and wettability times. All samples have water activity values greater than 0.25 and less than 4.0. This implies that there is no problem of lipid oxidation. Samples treated with friction have higher water activity than samples treated by compression.

According to gas chromatography of volatile compounds, all treatments generate new compounds with respect to fresh avocado, both studies with and without enzymatic activity and friction and compression.

Depending on the results we suggest that the best treatment option is no high pressure compression.

I. INTRODUCCIÓN

1. EL AGUACATE

En 2010 se produjeron 3.8 millones de ton de aguacate en el mundo, de las cuales México produjo 1.1 millones de ton, colocándolo como el principal productor y exportador de este fruto, seguido por Chile con 330 mil toneladas, Republica Dominicana con 288 mil ton y otros países como Indonesia, Colombia y Perú (FAOSTAT, 2012).

En México el mayor productor de aguacate es el estado de Michoacán con 950 mil toneladas en 2010 y 1.09 millones de ton en 2011 de las cuales 1.06 millones de ton pertenecen al cv Hass (SIAP, 2015).

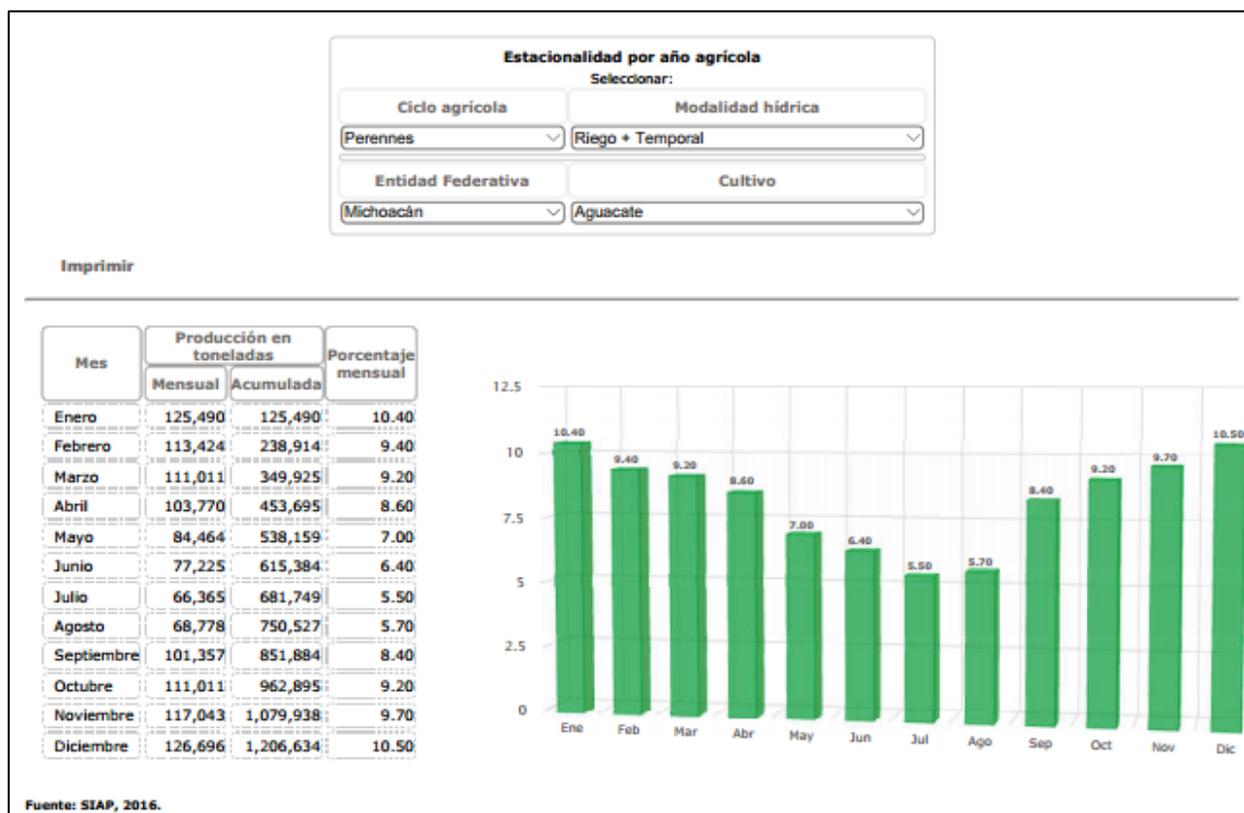


Figura 1. Producción de aguacate en Michoacán (SIAP, 2015).

La región productora de aguacate de Michoacán cuenta con una superficie superior a 108 mil hectáreas, distribuidas en 46 municipios (SIAP, 2015) en altitudes que varían de 1,000 a más de 2,600 msnm. Esta región es conocida como la “franja aguacatera del estado de Michoacán”. En esta región predominan los suelos Ando soles, con profundidades que varían de 0.8 m a más de 3 m y tienen gran capacidad para retener humedad de las lluvias durante la época de sequía (Rocha- Arroyo y col., 2011).

Los países latinoamericanos son los mayores consumidores de aguacate. Actualmente, el mayor consumo per cápita (10kg/persona/año) se presenta en México. El consumo de aguacate en la Unión Europea ha aumentado durante los últimos diez años; en Francia pasó de 0.4 kg a 1.5 kg/persona/año. Sin embargo, en la mayor parte de los países europeos todavía el consumo promedio es <0.25 kg/persona/año. En EEUU, se registra un promedio de 0.8 kg/persona/ año. Las perspectivas del aumento en el consumo son amplias, dado el alto valor nutricional y los beneficios que representa para la salud humana por los aceites insaturados que contiene (Gutiérrez- Contreras y col., 2010)

1.1. TAXONOMÍA

El aguacate es una especie arbórea originaria de una amplia zona geográfica, que se extiende desde las sierras centrales y orientales de México y Guatemala, hasta la costa pacífica de Centro América, y su distribución natural llega hasta el norte de Perú (Wolstenholme & Whiley, 1995; Knight, 2002; Bernal & Diaz, 2008). Actualmente se cultiva en el mundo bajo diferentes condiciones ambientales, los extremos climáticos varían desde zonas desérticas en Israel y sur de California, tierras altas subtropicales y bosques húmedos tropicales como en centro América, hasta regiones de Sur África y Australia sometidas a condiciones de niebla (Bower & Cutting, 1988)

Las variedades de la raza mexicana se adaptan muy bien a las zonas de vida de bosque húmedo montano bajo o bosque húmedo pre-montano, en alturas comprendidas entre 1,700 y 2,500 msnm, y con temperaturas que oscilan entre 5°C y 17°C, pero pueden llegar a soportar temperaturas bajas de hasta 2.2°C. El tiempo de floración a la cosecha está entre 6 y 8 meses y su fruto es pequeño (80 a 250 g). Las variedades de la raza guatemalteca, entre ellas el aguacate Hass, se adaptan a condiciones subtropicales, y en zonas de vida de bosque húmedo pre-montano, temperaturas umbrales de 4 a 19°C y alturas entre 1,200 y 2,400 msnm, y el tiempo de floración a la cosecha es de 15 meses aproximadamente, y tienden a producir frutos de tamaño mediano (25 a 250g). Las variedades de la raza antillana, como Lorena, se desarrollan en zonas de

bosque húmedo tropical y bosque húmedo pre-montano, su rango de adaptación está entre 0 y 1,500 msnm, temperaturas entre 18°C y 26°C y con alta humedad relativa, presenta un tiempo aproximado de floración a cosecha de 5 a 8 meses, y el peso del fruto está entre 250 y 1,000 g (Scora y Col., 2002; Bernal & Diaz, 2008).



Ilustración 1. Árbol de aguacate

Los cultivares de raza mexicana y guatemalteca requieren de una precipitación promedio de 660 a 1,500 mm y una humedad relativa cercana al 80%. Por otro lado, las variedades de la raza antillana requieren una precipitación de 1,150 mm y una humedad relativa entre 75% y 90% (Bower & Cutting, 1988)

La raza antillana es la más sensible al frío y puede sufrir daños por temperaturas inferiores a los 12°C, aun así, es la raza mejor adaptada a condiciones áridas. La raza mexicana es la más tolerante al frío, soportando temperaturas de hasta 2°C sin sufrir daños, siendo sensibles a altas temperaturas, las cuales generan desbalances en el proceso de floración. La tolerancia al frío de la raza guatemalteca se encuentra en un rango medio, sin embargo, es la más susceptible a temperaturas altas (Bower & Cutting, 1988).

1.2. ANATOMÍA

El aguacate Hass es una de las pocas frutas que se produce durante todo el año, en México; presenta cuatro floraciones:

- I. Flor Loca (Agosto-Septiembre)

- II. Flor Avanzada (Octubre - Diciembre)
- III. Flor Normal (Enero-Febrero)
- IV. Flor Marceña (Marzo-Julio)

(ASERCA, 2012)

El fruto del aguacate es una baya que deriva de un gineceo uni-carpelar y que contiene una sola semilla.

El pericarpio consiste de tres capas (Figura 2):

- a) Exocarpio, que comprende la cáscara.
- b) Mesocarpio pulposo, que es la porción comestible de la fruta.
- c) Endocarpio, capa interna delgada junto a la cubierta de la semilla.

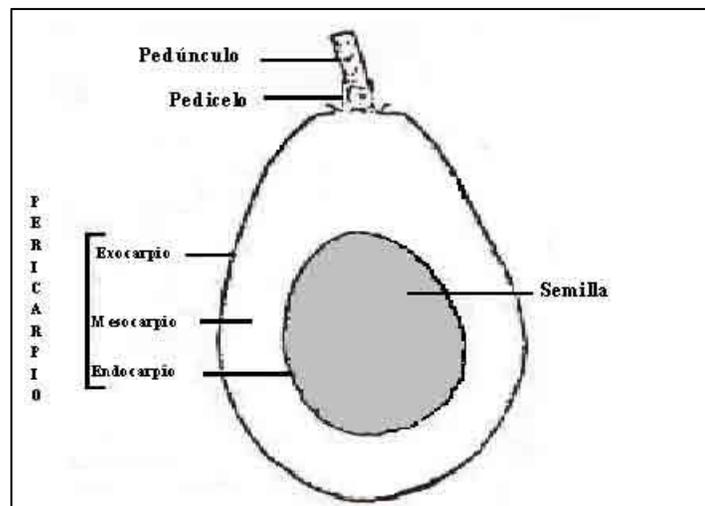


Figura 2. Partes del fruto de aguacate (Cummings & Schroeder, 1942).

1.3. FISIOLÓGÍA

El fruto de aguacate es una baya con una única semilla muy variable en el tamaño y peso, 0.05 a 2.0 kg; forma redonda, ovalada y periforme. (Scora y Col., 2002; Bernal & Diaz, 2008).

Una vez que las flores son polinizadas y fertilizadas, inicia el proceso de cuajado, el ovario engrosa en el centro de las flores, los restos de pétalos y androceo se han

desprendido y el pedúnculo del fruto ha engrosado (Davenport, 1986; Cabezas y Col., 2003). Estudios anatómicos han demostrado que tres días después de la polinización se inicia la formación del endospermo, nueve días después el endospermo ha formado un largo cuerpo celular donde el embrión de 2 a 6 células es evidente. La formación del pre-embrión tiene como función ser fuente de precursores químicos de la elongación celular del fruto en desarrollo (Cowan y Col., 2001).

La expansión de la pequeña baya da lugar a un fruto de forma piriforme, globosa u ovalada con un número variable de lenticelas en su epidermis según la variedad (Davenport, 1986; Cabezas y Col., 2003). En la mayoría de frutos existen dos centros de crecimiento: el óvulo y el pericarpio. El crecimiento desde el pericarpio usualmente direcciona el aumento del tamaño, mientras el alargamiento posterior está relacionado con el desarrollo de la semilla (Cowan y col. C. E., 2001).

El pericarpio consta de tres capas: el exocarpio o cáscara, el mesocarpio comestible y una capa interna delgada junto a la cubierta de la semilla que corresponde al endocarpio (Figura 1) (Scora y Col., 2002). Las vacuolas de las células de la pulpa contienen pequeñas gotas de aceite y, dispersas alrededor de estas, existen otras más grandes especializadas en el almacenamiento de aceite, que representan cerca del 2% del volumen total de la pulpa (Scora y Col., 2002).

La semilla de aguacate juega un papel importante en el desarrollo del fruto, al presentar mayor dominancia sobre el mesocarpio y como vertedero de agua y solutos, además actúa como un reservorio potencial durante el crecimiento del fruto. La cubierta seminal es el punto de unión en el transporte de solutos entre la semilla y mesocarpio a través de la plasmodesmata. Estas funciones le atribuyen el papel de órgano regulador de procesos fisiológicos y bioquímicos en el fruto durante el desarrollo y maduración. El no desarrollo de la cubierta seminal es sugerido como un inhibidor de la actividad meristemática y, por tanto, puede disminuir la fuerza del vertedero, existiendo una marcada relación entre el tamaño de la semilla y el tamaño final del fruto (Cowan y Col., 2001; Kalala y Col., 2005), y el cual es la consecuencia de un complejo de eventos metabólicos que ocurren durante el cuajado del fruto hasta la maduración. La disrupción de estos procesos bioquímicos y moleculares en cualquier estado del crecimiento del fruto puede impactar en el tamaño final de este. Debido a que el tamaño del fruto está más determinado por el número de células que por el tamaño de estas, cualquier factor que afecte la actividad del ciclo de división celular debe ser considerado (Cowan y col. C. E., 2001).

Las hormonas vegetales desempeñan un papel regulador importante en el crecimiento y el desarrollo de frutos de aguacate. Estudios previos en aguacate Hass y su fenotipo de fruto pequeño como modelo, han demostrado la relación existente entre el balance de citoquininas (CK) y ácido abscísico (ABA) con el tamaño final del fruto; una disminución en la síntesis de CK o aumento en la concentración de ABA endógeno, genera un impacto sobre la división celular y el tamaño final de fruto (Cowan y col. A. C.-C., 1997; Taylor y Cowan, 2001). Este tipo de fruto, además, es caracterizado por la inhabilidad de la semilla para producir y acumular auxinas (AIA) (Moore-Gordon y Col., 1998; Cowan y col. C. E., 2001; Cowan y col. A. N., 2005).

El ABA es una hormona relacionada con la disminución en el crecimiento de frutos mediante la inhibición de la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. (Cowan y col. A. C.-C., 1997) encontraron que el aumento en niveles endógenos de ABA en el mesocarpio inhibe en un 70% la actividad de la enzima 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductasa (HMGR), la cual cataliza la conversión de HMG-CoA a ácido mevalónico (MVA) precursor de todos los compuestos isoprenoides requeridos en procesos como fotosíntesis (carotenoides, clorofila, plastoquinona), respiración (ubiquinona), estructura de membranas (esteroles), división celular y otros compuestos relacionados con la actividad y fuerza de vertederos y crecimiento y desarrollo del fruto ; (Cowan y col. A. C.-C., 1997; Cowan y col. C. E., 2001). La formación de MVA junto con altas concentraciones de compuestos isoprenoides son factores claves para continuar con el ciclo de división celular y la formación de frutos de tamaño normal.

En general, los niveles de CK son altos durante los estados iniciales de formación del embrión y disminuyen conforme avanza el desarrollo del fruto (Cowan y col. C. E., 2001). El nivel de CK en el endospermo y en la cubierta seminal también se encuentra una alta actividad en etapas iniciales. La actividad alcanza su pico máximo durante la máxima tasa de división celular y llega a valores mínimos al acercarse al punto de madurez fisiológica (Blumenfeld & Gazit, 1970), aun así, niveles mínimos de CK son requeridos para terminar el programa en actividad mitótica junto con Auxinas (AIA) (Cowan y col. C. E., 2001).

Por otro lado, no hay información sobre la relación entre el contenido de ácido giberélico (GA) y el desarrollo del fruto de aguacate, aunque existe evidencia de que el endospermo es el lugar de síntesis de GA y AIA. Se conoce que el aumento en el contenido de GA esta precedido por un pico en el contenido de AIA antes del momento del

cuajado del fruto. Es posible que los contenidos de GA provenientes del endospermo regulen el metabolismo de AIA en la iniciación del desarrollo temprano y llenado del fruto (Cowan y Col., 2001).

Altos contenidos de AIA y GA son asociados con crecimiento activo de la semilla por expansión celular (Cowan y Col., 2001). La concentración de AIA y GA se incrementa desde el cuajado del fruto y alcanza un pico máximo durante la fase de crecimiento lento, luego en la fase de crecimiento exponencial su concentración disminuye (Bower & Cutting, 1988). Estas dos hormonas alcanzan su contenido máximo en el embrión cuando el contenido de CTK y ABA, relacionadas con la división celular y latencia de semillas, respectivamente, disminuye o es nulo (Cowan y Col., 2001). Los niveles de ABA y etileno tienden a incrementarse durante la segunda fase de desarrollo del fruto (Bower & Cutting, 1988).

Como ocurre con otros frutos carnosos, el crecimiento del fruto de aguacate se caracteriza por seguir una curva sigmoidea simple, gran parte de la división celular ocurre en las primeras etapas de desarrollo y es seguida por la fase de elongación; sin embargo, la división celular continúa durante el desarrollo del fruto especialmente en el mesocarpio aun cuando éste llega a su punto de madurez (Bower & Cutting, 1988; Barrientos y Col., 1996; Cowan y Col., 2001; Scora y Col., 2002). Los frutos sanos se mantienen firmes en el árbol y continúan creciendo por meses después de la madurez fisiológica (Cossio-Vargas y Col., 2007).

El crecimiento del fruto ocurre en tres fases; la primera fase incluye el desarrollo del ovario, fertilización y cuajado de fruto; en la segunda fase continúa la división celular, formación de semilla y desarrollo embrionario; en la tercera fase se da la elongación celular y maduración del embrión (Cowan y col. C. E., 2001; Scora y Col., 2002). La primera fase puede tomar alrededor de 10 semanas después del pico de floración, la fase de crecimiento lineal puede llegar hasta 30 semanas después de floración, dependiendo de la variedad y condiciones ambientales, esto seguido de la fase de maduración en la cual el crecimiento se detiene (Cowan y col. A. C.-C., 1997).

En un estudio realizado por (Rosales y Col., 2003) se determinó la curva de crecimiento del fruto de aguacate Hass encontrando frutos desde 0.2 cm de diámetro a los 79 días después de brotación, presentando a partir de este momento una mayor tasa de cuajado con un máximo a los 95 días que desciende desde los 98 días hasta

los 137 días; éste descenso rápido del cuajado, probablemente sería por la coincidencia de la brotación y el crecimiento vegetativo, reproductivo y radical.

El éxito de la formación de frutos durante los primeros 60 días posteriores a la floración depende de la disponibilidad de nutrientes asimilados y almacenados, la fotosíntesis del momento y del tiempo de transición de las hojas del brote como órganos demandantes a órganos fuente en los brotes de primavera; aunque inicialmente hay una competencia con los frutos, el crecimiento de estos brotes durante la primavera es necesario para el desarrollo secundario de los frutos y se convertirán en la fuente de foto-asimilados y nutrientes para las producciones de los años siguientes (Wolstenholme & Whiley, 1995).

1.3.1. MADURACIÓN

Los frutos de aguacate se cosechan cuando han alcanzado un contenido de materia seca suficiente para que puedan madurar de manera natural. Una vez que se ha cortado del árbol, el fruto de aguacate inicia su proceso de maduración experimentando diversos cambios fisiológicos, y expresados en pérdida de agua, dureza, y cambios en el color, y hasta alcanzar en pocos días su estado óptimo de consumo. El momento en que el fruto alcanza este estado de consumo, así como el nivel en la calidad nutricional y la preservación de sus atributos, depende del manejo post-cosecha (Ochoa, 2009).

La maduración es la fase intermedia del proceso de un fruto entre crecimiento y senescencia (Torres, 2010). El proceso de maduración del aguacate está marcado por una variedad de cambios bioquímicos que incluyen incrementos en la producción de etileno y en la respiración, y el ablandamiento y desarrollo de los componentes del sabor. El progresivo reblandecimiento del fruto y el desarrollo de un sabor aceptable son indicadores de la madurez. Antes de que esto ocurra, se observan ligeros cambios en la consistencia del fruto debidos a la pérdida de agua. Una vez que se alcanza la madurez fisiológica, la tasa de reblandecimiento post-cosecha se torna progresivamente menor conforme se acerca a la madurez de consumo (Ochoa, 2009).

La madurez del fruto está basada en el metabolismo de lípidos, con una rápida acumulación de aceite y de materia seca; el mayor incremento es del ácido insaturado oleico, que es el principal constituyente. Este incremento de aceite va acompañado de una baja en la concentración de azúcares del tipo C7 (manoheptulosa y perseitol), y que revela la importancia de los azúcares solubles en los procesos de respiración asociados con la fisiología post-cosecha y madurez del fruto (Ochoa, 2009) .

Los frutos de aguacate no adquieren la madurez de consumo en el árbol, y la producción de etileno comienza después de la cosecha; y aumentando considerablemente con la maduración a más de 100 $\mu\text{L C}_2\text{H}_4/\text{kg}\cdot\text{h}$ a 20°C (Kader & Arpia, 2012).

Estos fenómenos reflejan manifestaciones externas e internas como consecuencias de los cambios bioquímicos, que marcan las diversas actividades metabólicas; las cuales, inciden en la modificación del sabor, textura, color, olor y otras características que forman parte de la calidad original del fruto. Estudios en microscopia electrónica han demostrado que hay cambios en la pared celular durante la maduración. En el aguacate se presenta una disolución de la lámina media, mientras que las micro-fibrillas de celulosa se vuelven menos compactas, además se presentan mecanismos enzimáticos durante la maduración como son la actividad de la poligalacturonasa o pectinasa, la celulasa y la pectilmetilesterasa, como las principales responsables del proceso de ablandamiento (Torres, 2010).

La maduración en el fruto de aguacate está asociada con un incremento en la velocidad de respiración, la cual es favorecida por la producción endógena o la aplicación exógena de etileno. La respiración en el aguacate es alimentada por la degradación de azúcares y posiblemente hemicelulosas y sustancias pécticas, los ceto- azúcares, fructosa y manoheptulosa, que son los azúcares que se consumen principalmente durante la maduración. El decremento en azúcares totales durante la maduración varía de un 50 a 85%, dependiendo de la variedad (Román y Col., 2002).

Los indicadores de madurez de consumo del aguacate incluyen ablandamiento de la pulpa y cambios del color de la piel del verde al negro en algunos cultivares como el Hass. Los aguacates maduros, blandos, requieren de cuidado en su manejo para minimizar los daños físicos (Kader & Arpia, 2012).

A. DUREZA

La dureza es un atributo de la textura de los frutos y vegetales que está relacionada con el punto de cosecha, la calidad para su comercialización, y el procesamiento del mismo. Este atributo está ligado con los cambios fisicoquímicos y estructurales del material biológico (Zapata y col., 2010).

Se define la dureza de un material como la fuerza necesaria para romper los tejidos carnosos, es decir, la resistencia de un material a la deformación o penetración, y está vinculada con los diferentes estados del proceso de maduración, por lo tanto, la dureza de los frutos se considera como indicativo adecuado de la madurez. Esta depende del

estado de maduración del fruto al momento de la cosecha, de la temperatura, las condiciones de almacenamiento. La dureza puede relacionarse con el cambio de color de la cáscara (Zapata y col., 2010).

La fuerza de penetración se define como la fuerza necesaria o requerida para penetrar un producto en un tiempo determinado. El equipo denominado texturómetro, se emplea para medir la fuerza requerida para penetrar, comprimir, deformar o extrudir un alimento. La fuerza puede aplicarse en una amplia variedad de formas como penetración, cizalla, compresión, extrusión, corte, flujo y mezcla. Esta se aplica mediante una sonda que es empujada sobre la muestra de producto, causando compresión irreversible, la profundidad de la penetración se mantiene constante, mientras es registrada la fuerza (Zapata y col., 2010).

El ablandamiento del fruto de aguacate es el principal aspecto del proceso de maduración y se considera como una consecuencia de modificaciones en la composición y estructura de la pared celular. El proceso de ablandamiento ocurre a nivel celular y requiere de un sistema de membranas intacto, que permita la síntesis de enzimas líticas de ácidos grasos, de polisacáridos de almacén, y de polisacáridos que componen la pared celular vegetal. La síntesis de enzimas líticas inicia con el reconocimiento de hormonas de la maduración; los ribosomas adheridos al retículo endoplásmico llevan a cabo la transcripción; la maduración pos-transcripción y destino de las proteínas se fortalece en el sistema membranoso de Golgi, que las confina en la vesícula de secreción para transitar al espacio peri plasmático y a la pared celular (Ochoa, 2009). Este cambio en la dureza durante la maduración es debida principalmente a la degradación enzimática de la pared celular de los tejidos celulares; la cual provoca cambios estructurales que modifican la textura del fruto (Chanona- Pérez y Col., 2009). Una de las moléculas que contribuyen a la dureza de los frutos es la hemicelulosas, las cuales se hidrolizan al madurar, produciendo pentosas, manosas y ácidos urónicos. Las pectinas son compuestos poliméricos derivados del ácido galacturónico con pesos moleculares grandes que tienen una gran influencia sobre la dureza y consistencia de las frutas, ya que son los componentes principales de la lámina media de las células vegetales (Chanona-Pérez y Col., 2009).

1.4. ASPECTOS NUTRITIVOS

Existen diferentes variedades de aguacate. El aguacate Hass es reconocido por su alto valor nutrimental (Tabla 1), el cual tiene un aporte importante para la dieta diaria del consumo humano (Ortega, 2003)

Tabla 1. Contenido nutrimental del aguacate. %

FUENTE	CALORÍAS	AGUA	CH'S	FIBRA	PROTEÍNA	LÍPIDOS
I.N.N.81	72	86.0	2.9	0.7	1.2	6.1
I.N.C.A.P	154	77.0	4.4	1.8	1.7	15.8
Hanbook 8	167	74.0	6.3	1.6	2.1	16.4
A.B. 8 \$ 9	159	74.0	7.6	1.4	1.7	15.3
FRANCO 5	162	-	6.4	1.4	1.8	16.0
P.N (6)	177	73.0	6.9	2.1	2.0	17.3
SOUCI (7)	226	65.0	7.4	2.0	1.6	21.2
PROMEDIO	160	75.0	6.0	1.6	1.7	15.4

Fuente: (Ortega, 2003)

Como se muestra en la Tabla 1, el aguacate Hass es un fruto con alto contenido de aceite, el cual representa el 15.4% del contenido total del fruto. Este contenido de aceite se encuentra constituido por los ácidos grasos que se muestran en la Tabla 2. Como podemos observar, este gran contenido de aceite se ve representado básicamente por el ácido Oleico con un 64.87% del contenido graso total del aguacate Hass, y cuyas características químicas lo identifican en el grupo de los ácidos grasos monoinsaturados.

Tabla 2. Composición de ácidos grasos.

COMPOSICIÓN MEDIA DE LOS ÁCIDOS GRASOS	
Ácidos Grasos Saturados	16-22 %
Ácidos Grasos Monoinsaturados	66-72 %
Ácidos Grasos Polinsaturados	8-11 %

Fuente: (Ortega, 2003)

Tabla 3. Perfil de lípidos del aguacate.

PERFIL DEL ACEITE DE AGUACATE POR CROMATOGRFÍA		
C16	Palmítico	13.76 %
C16:1	Palmitoleico	5.98 %
C18	Esteárico	1.48%
C18:1	Oleico	64.87 %
C18:2	Linoleico	11.13 %
C18:3	Linolénico	2.52 %
C20	Araquidónico	0.09 %
	Otros	0.17 %

Fuente: (Ortega, 2003)

Los ácidos grasos es un tipo de lípido insoluble en agua, pero solubles en disolventes orgánicos. Las grasas y los aceites, están constituidos exclusivamente por triacilglicéridos, que son ácidos grasos esterificados al glicerol. Las grasas y los aceites tienen diferencias en estabilidad a la oxidación, plasticidad, estado físico, cristalización, índice de yodo, temperatura de solidificación y fusión; y estas diferencias son debidas a la composición en ácidos grasos de cada grasa o aceite (Badui, 2006).

Durante el período de maduración de la fruta, se observa un aumento significativo en el contenido total de ácidos grasos mono insaturados y saturados y una disminución de ácidos grasos poliinsaturados. El principal ácido graso del aceite de aguacate es el ácido oleico (67-70% del contenido total de ácidos grasos), en cuanto a otros ácidos el contenido relativo de ácido palmítico (16), linóleo (18: 2), palmitoleico (16: 1), y alfa-linolénico (18: 3) es de: 13,5, 12,6, 3,26 y 1% respectivamente. Los ácidos grasos saturados, como el Esteárico (18: 0), tridecanoico (13: 0), tetradecanoico (14: 0), cis-10-heptadecenoico (17: 1) y cis-13-16-eicosenoico (20: 2) están presentes en trazas. La relación de ácidos grasos saturadas, monoinsaturadas y poliinsaturados representa aproximadamente 9, 76, y 15%, respectivamente del total de ácidos grasos que componen el aceite de aguacate (Cowan y col. C. E., 2001)

2. MÉTODOS DE CONSERVACIÓN

En la historia del procesamiento de alimentos, el empleo controlado del fuego (introducido tal vez más de un millón de años antes del presente, que se abrevia 1 MAP, permitió su utilización en el tratamiento de los alimentos, pero su uso se relaciona más con el aumento de digestibilidad que con su conservación, pudiéndose considerar ésta

como un efecto secundario. El uso directo del fuego sobre los alimentos produce tres acciones protectoras: debidas al calor, a la evaporación de agua, y al ahumado.

El desarrollo de la agricultura hace unos 10.000 años, propicio la necesidad de conservar los alimentos, ya que se producían (10 kAP). La estacional de los cultivos, implica la necesidad de conservarlos. A pesar de que algunos sirvieron como moneda de intercambio comercial, y por lo tanto de eliminación de excedentes, la perentoriedad de los alimentos era un factor limitante.

Los sistemas de conservación de los alimentos son aquellos que evitan que las alteraciones en los alimentos puedan llegar a producirse. Se expondrán de forma sintética los tratamientos más importantes:

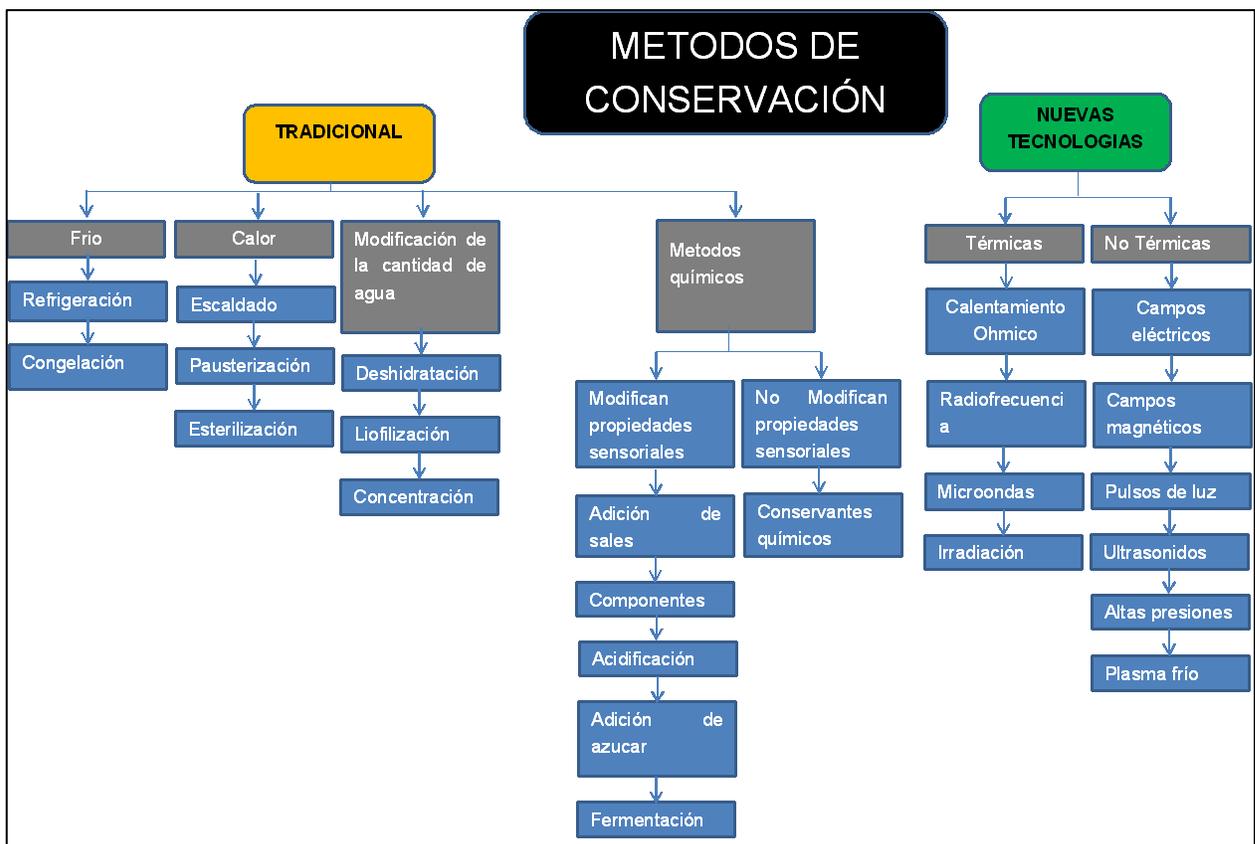


Figura 3. Métodos de conservación de alimentos

2.1. FRÍO

Es una técnica de conservación a corto plazo, donde se aplican temperaturas cercanas, pero no menores a cero. A estas temperaturas se produce una disminución de la velocidad de todos los procesos químicos, limitación de ciertas enzimas metabólicas, y de crecimiento de los microorganismos patógenos y no patógenos. Por lo tanto, un descenso de la temperatura produce un retraso de los cambios en los alimentos durante el almacenamiento que será tanto mayor cuanto más baja sea la temperatura. Es necesario destacar que aún a baja temperatura, hay microorganismos que son capaces de sobrevivir, por lo cual es importante no interrumpir la cadena de frío.

La congelación permite la conservación a largo plazo y consiste en convertir el agua de los alimentos en hielo con gran rapidez y en almacenarlo a temperaturas muy bajas (18°C bajo cero o inferiores).

2.2. CALOR

El efecto del calor se basa en la desnaturalización de las proteínas, lo que produce una desactivación y muerte de los microorganismos. Aparte de la cocción y el horneado, que pueden considerarse más bien como sistemas preparativos, las técnicas que utilizan el calor para la conservación son el escaldamiento, la pasteurización y la esterilización. Es un sistema seguro, pero destructor desde el punto de vista nutricional y sensorial, debido a que tiene un gran efecto que degrada ambos aspectos.

Escaldado. Se aplica a las frutas y verduras antes de someterlas a otros procesos de conservación como el enlatado, el congelado, etc. Se usa agua o vapor durante pocos minutos a una temperatura de 95-100°C.

Pasteurización. Este método recibe el nombre en honor al químico francés Louis Pasteur que fue quien, entre otras cosas, desarrolló el proceso de pasteurización para eliminar los microorganismos dañinos de la leche. Produce una destrucción de los microorganismos dañinos que se encuentren en el alimento. Generalmente se hace de dos formas diferentes: Se usan temperaturas bajas (60-65°C) durante largos tiempos (30 min) o bien se usan altas temperaturas (75-90°C) durante poco tiempo (15 segundos). En el caso de alimentos líquidos, se utiliza un procedimiento especial de pasteurización, denominado UTH, y que consiste en aplicar temperaturas de 135-150°C durante 5 segundos.

Esterilización. Se usa cuando es necesario conservar el alimento durante períodos más prolongados o para conservar alimentos que pueden contener microorganismos esporulados, muy frecuentemente alimentos ricos en proteína y de pH mayores a 4. Recibe también el nombre de "appertización" en recuerdo al pastelero francés Appert, que fue quien primero lo utilizó. Se realiza con alimentos previamente introducidos en recipientes cerrados, que se calientan en un aparato llamado autoclave a temperaturas superiores a los 100°C o se somete al alimento a temperaturas de 120°C de calor húmedo y a grandes presiones. Suele disminuir la calidad del alimento en cuanto a sabor, olor y apariencia (propiedades sensoriales).

2.3. MODIFICACIÓN DE LA CANTIDAD DE AGUA

Los alimentos que contienen poca cantidad de agua, como las semillas pueden ser bien conservados. La mayoría de los procesos en un ser vivo se realizan utilizando agua como parte de las reacciones. La reducción de la cantidad de agua entonces es una forma de estabilización del alimento frente a la actividad nociva de enzimas y microorganismos. Los métodos se dividen en desecación (cuando la humedad del alimento se disminuye hasta equilibrarla con la del ambiente), y deshidratación (cuando la eliminación es casi total).

La concentración. Consiste en eliminar el agua de los alimentos líquidos. Esto se consigue con la evaporación, congelación, prensado mecánico o centrifugado, entre otros procesos.

La liofilización, es un tipo de secado, basado en el fenómeno de sublimación, el cual se consigue al someter al alimento a una ultra congelación y una sublimación colocando la muestra a vacío. La congelación y las condiciones de vacío que se tienen que lograr encarecen este proceso. Sin embargo, las características de textura, la retención de sabores, colores y nutrientes del producto al ser rehidratado, así como su rápida rehidratación hacen valioso y útil este proceso.

2.4. MÉTODOS QUÍMICOS

El aprovechamiento de las propiedades conservadoras de muchas sustancias químicas ha dado lugar a numerosos métodos de conservación. Se pueden dividir en dos grandes grupos, los métodos que sólo conservan y los que además de conservar, modifican las propiedades sensoriales del alimento.

- a) Métodos que no modifican las propiedades sensoriales
- b) Adición de sales
- c) Empleo de componentes del humo
- d) Acidificación por uso de ácidos orgánicos.
- e) Adición de azúcar.
- f) Métodos biológicos

Nuevas tecnologías: La demanda creciente de productos alimenticios con características de productos frescos, ha introducido nuevas tecnologías en el ámbito de la conservación de alimentos. Debido a esto se están estudiando las siguientes tecnologías radiaciones, tanto ionizante (irradiación), como no ionizante (microondas), altas presiones, campos eléctricos, magnéticos, etc. Estas tecnologías se aplican también al envasado con atmósferas modificadas y controladas, vacío, secuestradores de oxígeno, y otros.

3. TECNOLOGÍAS DE CONSERVACIÓN DEL AGUACATE

Actualmente se conocen varios métodos de industrialización del pericarpio del aguacate como son:

- Congelación.
- Refrigeración + Antioxidantes + Antimicrobianos
- Deshidratación
- Microondas
- Aspersión
- Liofilizado
- Altas Presiones

A continuación, se explica brevemente cada una de ellas, así como sus ventajas y desventajas.

3.1. REFRIGERACIÓN

Es un método de conservación de alimentos que permite conservar a los alimentos durante tiempo cortos, y basado en el uso de temperaturas menores a 5°C y arriba del punto de congelación.

Ventajas:

- La temperatura de refrigeración va de los 0-5°C, lo cual evita un impacto fuerte sobre la textura de los productos conservados.

- Inhibiendo el crecimiento de microorganismos termófilos y mesófilos.

Desventajas:

- No inhibe microorganismos psicrófilos, que producen la degradación de alimentos aún refrigerados.
- Hay cambios sensoriales si se almacenan por largo tiempo.

Existen evidencias de que el almacenamiento del aguacate fresco no mayor a 30 días, con las condiciones de contenido de aceite al momento del corte y condiciones de almacenaje de 6 °C y una humedad relativa de 80-90%, es aceptable para el consumidor, porque después el pericarpio se ve afectado (Olaeta y col., 2003).

También se pueden utilizar métodos combinados para la conservación de la pulpa de aguacate, como la adición de EDTA o ácido ascórbico como antioxidantes y manteniendo una atmosfera de N₂ o vacío, manteniéndolo a 4°C (Soliva y col., 2001)

3.2. CONGELACIÓN

Es un método de conservación de alimentos que permite conservar a los alimentos durante tiempo largos. Se usan temperaturas debajo de los 0°C y normalmente de -18°C.

Ventajas:

- Mantiene en perfectas condiciones las características sensoriales y nutritivas de los alimentos durante 1 a 2 años aproximadamente.

Desventajas:

- Si no se controla de manera adecuada el proceso se pueden producir cambios de coloración y textura de los productos por quemaduras.
- Enranciamiento de grasas.
- Pérdida de nutrientes.

Se realizó un estudio para la conservación de aguacate variedad Hass, que consistió en utilizar un método combinado de congelación para el almacenamiento y la adición de 1 metilciclopropileno, con la finalidad de conservarlo mayor tiempo en buen estado, con sus valores nutricionales y sin cambios en sus características sensoriales, en el cual se determinó una estabilidad de 25 días, sin maduración, pérdida de color o cambios en la textura (Osuna-García & Beltran, 2003)

3.3. DESHIDRATACIÓN

Consiste en extraer el agua de los alimentos.

Ventajas:

- El peso se reduce e impacta positivamente en el costo de transporte y almacenamiento, ocupa menos espacio y no requiere disminuir la temperatura.
- El crecimiento de microorganismos es casi nulo por la ausencia de agua, este bajo contenido de agua disminuye las reacciones químicas y enzimáticas de deterioro.

Desventajas:

- Los productos pierden sustancias sensibles al calor.
- Se pierde forma y textura de los alimentos.

3.3.1. DESHIDRATACIÓN OSMÓTICA

Existen estudios que aplican la deshidratación osmótica en aguacate y se ha encontrado que al utilizar un medio de cloruro de sodio al 10% y maltodextrina al 50% se logra perder un 30.3 % de peso, un 39.4% de agua, y se gana un 9.2% de sólidos, y hay disminución de la actividad acuosa de 0.6. El color no se observaron cambios (Schwartz y Col, 2007)

3.3.2. SECADO POR ASPERSIÓN

Existen reportes donde se ha empleado esta tecnología en el aguacate observándose que evita el fenómeno de pardeamiento enzimático en el aguacate a causa de la enzima polifenoloxidasa (Schwartz y Col M. 2., 2007)

3.3.3. LIOFILIZACIÓN

Este método es muy recomendado para la conservación del aguacate, ya que mantiene sus propiedades del aguacate fresco al ser rehidratado, en términos de rapidez y facilidad en la reconstitución, pero debido al alto contenido graso y a la oxidación que presenta el fruto, no hay buena aceptación sensorial por la generación de sabores desagradables al ser rehidratado, sin embargo, comparando la calidad con los métodos clásicos es mucho mejor (Desrosier, 1991)

3.3.4. PROPIEDADES DE POLVOS INSTANTÁNEOS

Los polvos de deshidratados de frutas con humedades entre el 3% y el 4%, base húmeda, son utilizados en la industria de dulces, caramelos blandos, repostería, alimentos para niños, industria de saborizantes de alimentos, heladería, productos lácteos, bebidas, entre otros usos (Jaya y Das, 2003).

Un alimento o bebida en polvo en general es un producto instantáneo y requiere muy poco esfuerzo para reconstituirse. El proceso de dispersión o disolución de un polvo se divide en 4 fases, y el comportamiento de las propiedades físicas asociadas con esas etapas, conforma el concepto de propiedades instantáneas (Freuding y col., 1999); (Schubert H. , 1993). Estas 4 fases se muestran a continuación:

1. Conocida como remojo o humedecimiento, el líquido penetra dentro de los poros de las partículas de polvo.
2. Las partículas se sumergen debajo de la superficie del líquido.
3. Se dispersan con una pequeña energía de agitación.
4. Las partículas forman la solución si son solubles en el líquido, o permanecen suspendidas en caso de ser no solubles (Schubert H. , 1993).

Uno de los principales actores de calidad de alimentos en polvo, es la facilidad con la que estos se disuelvan, dispersen o incorporen en la matriz en la que se van a consumir y esta capacidad de solubilización es afectada por diferentes aspectos relacionados con la composición del producto, el acondicionamiento y proceso de obtención del polvo, los cuales determinan las características del polvo:

- Humectabilidad
- Dispersabilidad
- Solubilidad

Las propiedades antes mencionadas son usadas para caracterizar a los polvos como instantáneos. Para que un polvo exhiba buenas características de reconstitución y para que sea llamado instantáneo, se requiere un equilibrio apropiado entre estas propiedades. Los factores que influyen sobre estas propiedades son el tamaño y densidad de las partículas y las propiedades de superficie. Las partículas no se mojan con facilidad si entre ellas y el líquido hay una elevada tensión superficial (Lewis, 1978).

A. HUMECTABILIDAD

Es la capacidad que tienen las partículas de adsorber agua sobre la superficie, dando así inicio a la reconstitución un alimento en polvo (Brennan y col., 1998). También puede definirse como la facilidad que tiene el polvo de empaparse con un líquido por efecto de fuerzas capilares, las cuales controlan la velocidad de la etapa (Freuding y col., 1999).

Esta propiedad depende en gran parte del tamaño de las partículas; si son partículas grandes forman poros grandes. La alta porosidad, pero sin exceder la porosidad crítica, y los pequeños valores del ángulo de contacto entre la superficie del poro y la de penetración en el agua también contribuyen a mejorar la humectabilidad del polvo (Freuding y col., 1999). Las partículas pequeñas, que ofrecen una gran relación área/masa, no se humedecen individualmente, sino que forman grumos quedando cubiertas por una capa superficial mojada, la cual reduce la velocidad con que el agua penetra hacia el interior de las partículas del grumo. Incrementado el tamaño de partícula y/o aglomerándolas, se puede reducir la tendencia a la formación de grumos (Brennan y col., 1998).

La composición de la superficie de los polvos juega también un papel importante durante el proceso de remojo, ya que la presencia de algún componente hidrofóbico deteriora la humectabilidad del producto. Si las partículas se disuelven en el líquido y estas tienen poros grandes, aumenta la velocidad de humectación en la mayoría de los casos. Al mismo tiempo, si la viscosidad del líquido aumenta considerablemente por la disolución de las partículas, puede haber un efecto negativo sobre el tiempo de humectabilidad a pesar de tener poros grandes. Cuando hay una velocidad de humectación lenta, puede haber hinchazón de las partículas y tener como resultado una humectabilidad que tiende a cero (Schubert H. , 1993). Así mismo, si se disminuye el ángulo de contacto con la adición de agentes humectantes, se disminuye la tensión superficial y se mejora la humectabilidad.

La segunda etapa de la reconstitución corresponde al hundimiento de las partículas por debajo de la superficie del líquido. La facilidad de hundirse dentro del agua, depende principalmente de la masa, tamaño y de la densidad de las partículas, y no propiamente de la facilidad de remojo. Las partículas grandes y densas generalmente son más rápidas para sumergirse que las livianas, pero la presencia de aire dentro de ellas puede afectar su capacidad de hundimiento (Barbosa-Cánovas y col., 2005). La tasa de humectación es el paso que limita la velocidad de disolución de sustancias pulverulentas (Lewis, 1978).

El trabajo de (Kim y col., 2002), demostró que el contenido de azúcar (sacarosa) en el polvo tiene mayor influencia sobre las propiedades instantáneas que el contenido de grasa, y mostrando que la humectabilidad es una correlación lineal negativa con el contenido de azúcar; una buena humectabilidad no necesariamente lleva a una alta solubilidad.

Diversos estudios han mostrado la relación entre las propiedades físicas, químicas y la composición de la superficie de los polvos con las propiedades de instantaneidad de un polvo. Los resultados para una mezcla de polvo de cacao y azúcar, indican buenas propiedades instantáneas para tamaños de partículas >0.4 mm, mientras que para partículas <0.2 mm esta propiedad no es buena; los valores de dispersabilidad obtenidos están entre el 50% y el 95%; y la humectabilidad entre 10 y 22 segundos (Shittu y Lawal, 2007). Los malos resultados en la humectabilidad para partículas muy pequeñas son la razón por la cual en muchos productos se utiliza aglomerantes, para aumentar el tamaño de las partículas y de esta forma mejorar esta propiedad.

El método estático para medir la humectabilidad de un polvo en laboratorio es adecuado si las partículas tienen una densidad aparente mayor que la del agua, de tal manera que la capacidad de hundimiento al fondo del líquido sea buena. Este método ha sido utilizado frecuentemente para medir esta propiedad, el cual se realiza colocando el producto en polvo sobre un vidrio cuadrado, entre dos vasos de precipitado de 100 mL (Freuding y col., 1999; Fuchs y col., 2006; Kim y col., 2002).

4. ACTIVIDAD ACUOSA

Se entiende como actividad de agua (A_w), a la humedad en equilibrio de un producto, determinada por la presión parcial del vapor de agua en su superficie. El valor A_w depende de la composición, la temperatura y el contenido en agua del producto. Tiene incidencia sobre las características de calidad, tales como textura, sabor, color, gusto, valor nutricional del producto y su tiempo de conservación.

Los microorganismos necesitan la presencia de agua en una forma disponible para crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas. La mejor forma de medir la disponibilidad de agua es mediante la actividad de agua (A_w). La A_w de un alimento se puede reducir aumentando la concentración de solutos en la fase acuosa de los alimentos o mediante la extracción del agua.

La actividad de agua es uno de los factores intrínsecos que posibilitan o dificultan el crecimiento microbiano en los alimentos. Por ello la medición de la actividad de agua es importante para controlar dicho crecimiento.

4.1. RELACIÓN ENTRE LA ACTIVIDAD DE AGUA Y LA TEMPERATURA

La actividad de agua depende de la temperatura; dado que ésta influye también sobre la presión de vapor de agua de las soluciones, pero el efecto es pequeño con la mayoría de los solutos, salvo que las soluciones sean saturadas. En tales casos, las cantidades de algunas sustancias de la solución, y, por tanto, la A_w , pueden variar marcadamente con la temperatura.

4.2. ACTIVIDAD MICROBIANA EN RELACIÓN CON SU A_w

Dependiendo de la Actividad de agua se pueden tener diferentes desarrollos microbianos. A continuación, se presenta un resumen del mismo:

- ≥ 0.98 . Incluye las carnes y pescados frescos, las frutas, hortalizas y verduras frescas, la leche, las hortalizas en salmuera enlatadas, las frutas enlatadas en jarabes diluidos. En este rango de A_w crecen sin impedimento algunos de los microorganismos causantes de intoxicaciones alimentarias, y los que habitualmente dan lugar a alteraciones, excepto los xerófilos y halófilos extremos.
- 0.93-0.98. Incluye la leche concentrada por evaporación, el concentrado de tomate, los productos cárnicos y de pescado ligeramente salados, las carnes curadas enlatadas, los embutidos fermentados (no secos), los embutidos cocidos, los quesos de maduración corta, queso de pasta semidura, las frutas enlatadas en almíbar, el pan, las ciruelas con un alto contenido en agua. La concentración máxima de sal o sacarosa en la fase acuosa de estos alimentos está entre el 10% y 50%, respectivamente. Todos los microorganismos conocidos causantes de tóxicas infecciones alimentarias pueden multiplicarse al menos a los valores más altos de A_w comprendidos en este intervalo.
- 0.85-0.93. Incluye los embutidos fermentados y madurados, el queso Cheddar salado, el jamón tipo serrano, la leche condensada azucarada. A este grupo de alimentos pertenecen aquellos con un contenido en sal superior al 17% y los que contienen concentraciones de sacarosa a saturación en la fase acuosa. Entre las bacterias conocidas sólo *Staphylococcus aureus* es capaz de producir in-

toxicación alimentaria a estos niveles de A_w , pero pueden crecer muchos mohos productores de mico toxinas.

- 0.60-0.85. Alimentos de humedad intermedia, las frutas secas, la harina, los cereales, las confituras y mermeladas, las melazas, el pescado muy salado, los extractos de carne, algunos quesos muy madurados, y las nueces. Las bacterias patógenas no crecen en este intervalo de A_w . La alteración, cuando ocurre, se debe a microorganismos xerófilos, osmófilos o halófilos.
- ≤ 0.60 . Los dulces, el chocolate, la miel, los fideos, las galletas, las papas fritas, las verduras secas, huevos y leche en polvo. Los microorganismos no se multiplican por debajo de una A_w de 0.60, pero pueden permanecer vivos durante largos períodos de tiempo.

4.3. ACTIVIDAD ACUOSA Y CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

Muchos alimentos logran estabilidad, desde el punto de vista microbiológico, eliminando el agua que contienen, deshidratación, o mediante el agregado de solutos hasta alcanzar un valor bajo de A_w .

En la deshidratación, se le aplica energía al alimento en forma de calor, aumentando la presión de vapor del agua presente hasta un nivel tal que el agua de la superficie de los alimentos se evapora. La evaporación conlleva un descenso de la temperatura de la superficie y se necesita un aporte adicional de calor para mantener la presión de vapor a un nivel adecuado. A medida que se va evaporando el agua superficial se va reemplazando por otra procedente del interior que migra merced a procesos de difusión, convección, flujo capilar y retracción.

La evaporación de la humedad de los alimentos se debe a la diferencia entre la presión de vapor de la atmósfera y la presión superficial del alimento. A medida que avanza la deshidratación, desciende la velocidad de eliminación del agua porque la migración de agua a la superficie tiene un límite; las capas superficiales se hacen menos permeables y el aumento de la concentración de solutos reduce la presión de vapor de la superficie. Por ello, para alcanzar el grado de desecación deseado se hace necesario reducir la presión de vapor ambiental o aumentar la temperatura del alimento.

Se puede realizar deshidratación de muchas maneras diferentes: secado al sol, en secaderos con aire caliente con bandejas estáticas, con bandejas en túneles, en cintas transportadoras en túneles, en secaderos spray, en lechos fluidizados, y por liofiliza-

ción. La sal y el azúcar son los solutos que habitualmente se añaden a los alimentos para reducir la Aw. La preparación de jaleas, mermeladas y productos va acompañada de una extracción parcial del agua (concentración) mediante calentamiento. La adición de sal se utiliza en forma predominante en la carne, pescado y algunas verduras. La sal se añade directamente en seco o mediante salmuera dependiendo de la naturaleza del producto.

5. ALTAS PRESIONES

En 1899 se descubrió que la alta presión elimina a los microorganismos y conserva los alimentos. Su aplicación para el procesamiento de alimentos comenzó con el trabajo de Hite en ese mismo año en la conservación de leche, y la aplicación de esta tecnología se extendió varias décadas después en la conservación de productos de frutas y hortalizas.

Los alimentos procesados con altas presiones se introdujeron en el mercado japonés en 1990 por la Compañía Meidi, que comercializa mermeladas, jaleas y salsas sin aplicación de calor. Aunado a la conservación de alimentos, el tratamiento de altas presiones puede resultar en estructuras y texturas novedosas por lo que puede ser usado para el desarrollo de nuevos productos o incrementar la funcionalidad de ciertos ingredientes (Rastogi, 2010).

La tecnología de altas presiones además de producir una amplia gama de productos muestra potencial para una nueva generación de alimentos con valor agregado. Esta tecnología puede complementar el procesamiento térmico convencional para reducir la carga microbiana o sustituir el uso de conservadores químicos. Debido a que las frutas tienen un pH bajo (< 4.5) los microorganismos deterioradores son controlados y los formadores de colonias no pueden proliferar bajo estas condiciones. Sin embargo, el pH del aguacate es mayor a 4.5. Las células vegetativas son relativamente sensibles a la presión, esto hace a las frutas ideales para el procesamiento por alta presión hidrostática (Kennan y col, 2011).

La adopción de esta tecnología ha sido limitada en la industria principalmente por el costo de inversión inicial requerido (\$ 1.5-2.5 millones de dólares), sin embargo, a pesar de esto se ha utilizado con éxito en productos como guacamole, embutidos, jugo de naranja, smoothies y mariscos (Kennan y col, 2011).

Durante el tratamiento la alta presión se transmite rápida y uniformemente, por lo cual no se han encontrado problemas de variaciones espaciales como en otros tratamientos de conservación asociados con calor, microondas, así como la penetración de la radiación. Las altas presiones afectan solamente enlaces no covalentes (puentes de hidrógeno, iónicos y enlaces hidrófobos) y despliega desnaturalización de las cadenas de proteínas; sin embargo, tiene poco efecto en los constituyentes químicos asociados con cualidades deseables como sabor, color y contenido nutricional (Rastogi, 2010). Es por esto, que, a diferencia de la aplicación de tratamiento térmico, existe un insignificante deterioro del valor nutricional, sabor, color y contenido de vitaminas.

La técnica de Altas Presiones Hidrostáticas (APH) podría ser útil en la retención de antioxidantes de frutas, ya que solo afecta la estructura de moléculas de alto peso molecular como proteínas y carbohidratos, pero no afecta a moléculas más pequeñas asociadas con propiedades sensoriales y nutricionales que aportan beneficio a la salud como compuestos volátiles, pigmentos y vitaminas. (Kennan y col, 2011) indicaron en un estudio reciente que la aplicación de APH puede afectar el contenido bioactivo de frutas, reduciendo 21.5% los niveles de vitamina C en puré de manzana después del tratamiento de pasteurización a 600 MPa/5 min/20°C. En la industria se utiliza altas presiones hidrostáticas hasta 700 MPa, esta presión es capaz de inactivar enzimas y lograr una pasteurización suave de los alimentos, evitando cambios indeseables en las propiedades organoléptica y nutricional (Kennan y col, 2011).

6. MICROSCOPIA Y MICROESTRUCTURA

La microscopía es el conjunto de técnicas y métodos destinados a hacer visible los objetos de estudio que por su pequeñez están fuera del rango de resolución del ojo normal. Si bien, el microscopio es el elemento central de la microscopía, el uso del mismo requiere de todo un conjunto de métodos y técnicas afines pero extrínsecas al aparato. Algunas de ellas son las técnicas de preparación y manejo de los objetos de estudio, técnicas de salida, procesamiento, interpretación, registro de imágenes, etc.

6.1. TIPOS DE MICROSCOPIA

A continuación, se listan los principales tipos de microscopía.

- Microscopía óptica normal de campo brillante coloreado. El material a observar se colorea con pigmentos específicos que aumentan el contraste y revelan detalles que no aprecian de otra manera.

- Microscopía de campo brillante. El material se observa sin coloración. La luz pasa directamente y se aprecian detalles que estén naturalmente coloreados.
- Microscopio en campo oscuro. Utiliza una luz muy intensa en forma de un cono hueco concentrado sobre el espécimen. El campo de visión del objetivo se encuentra en la zona hueca del cono de luz y sólo recoge la luz que se refleja en el objeto, y por ello las porciones claras del espécimen aparecen como un fondo oscuro y los objetos minúsculos que se están analizando aparecen como una luz brillante sobre el fondo. Esta forma de iluminación se utiliza para analizar elementos biológicos transparentes y sin manchas, invisibles con iluminación normal.
- Microscopía en contraste de fase. Se usa principalmente para aumentar el contraste entre las partes claras y oscuras de las células sin colorear. Es ideal para especímenes delgados, o células aisladas. El microscopio de fase ilumina el espécimen con un cono hueco de luz, como en el microscopio en campo oscuro; sin embargo, en el microscopio de fase el cono de luz es más estrecho y entra en el campo de visión del objetivo, que contiene un dispositivo en forma de anillo que reduce la intensidad de la luz y provoca un cambio de fase de un cuarto de la longitud de onda. Este tipo de iluminación provoca variaciones minúsculas en el índice de refracción de un espécimen transparente, haciéndolo visible. Este tipo de microscopio es muy útil a la hora de examinar tejidos vivos, por lo que se utiliza con frecuencia en biología y medicina.
- Microscopía diferencial de contraste de interferencia (DIC). Nomarski. Utiliza dos rayos de luz polarizada y las imágenes combinadas aparecen como si la célula estuviera proyectando sombras hacia un lado. Fue diseñado para observar relieves de especímenes muy difíciles de manejar, es muy utilizado en los tratamientos de fertilización *in vitro* actuales. DIC se usa cuando el espécimen es muy grueso para usar contraste de fases.
- Microscopía de fluorescencia. Una sustancia natural en las células o un colorante fluorescente aplicado al corte es estimulada por un haz de luz, emitiendo parte de la energía absorbida como rayas luminosas: esto se conoce como fluorescencia. La luz fluorescente de mayor longitud de onda se observa como si viniera directamente del colorante. El microscopio incorpora una lámpara especial, que actúa emitiendo una luz excitadora de los flúor-cromos, con los que se tiñen las muestras a observar. El microscopio posee además un filtro especial, que permite el paso de la luz emitida por el flúor-cromo.
- Microscopio Confocal. Es un microscopio capaz de obtener imágenes tridimensionales de la célula. Se basa en un principio similar al de un microscopio de fluorescencia, pero se utilizan dos diafragmas confocales (uno antes de la muestra

y otro después), y que son capaces de enfocar la iluminación en un único punto de la muestra. Se utiliza un láser como fuente luminosa, y con él se va barriendo la muestra por todo su volumen, plano a plano, creando muchas imágenes bidimensionales que un ordenador interpreta, generando finalmente una imagen tridimensional del objeto. Para observar preparaciones con este microscopio es necesario teñirlas con sustancias fluorescentes o marcarlas con sustancias conjugadas con flúor-cromos, como los anticuerpos.

Existen reportes sobre el uso de la microscopia para determinar, mediante observaciones de la estructura celular, el impacto en la destrucción y deformación de células que fueron sometidas a un tipo de fuerza para su ruptura durante la extracción de polifenoles de semilla del aguacate. (García-Fajardo¹ & Ramos-Godínez, 1999), reportaron cambios en la estructura de la semilla del aguacate, y a su vez la del cotiledóneo, el cual es una fuente de almacenaje de grasas contenidas en la semilla y gránulos de almidón.

También existen otros estudios de microscopia donde han podido demostrar el efecto de las altas presiones sobre las células del parénquima, observando que a medida que se aplica mayor presión la estructura celular se pierde, por lo que estaríamos esperando una ruptura celular, solo que debido a las altas presiones las reacciones enzimáticas se inhiben (Woolf y col., 2011).

7. SÍOSÍ ALIMENTOS

SíoSí Alimentos S.A de C.V es una empresa mexicana de base tecnológica que nace en 2006, con el proyecto de estudiantes del Instituto Tecnológico de Morelia del área de Ingeniería Bioquímica, y un grupo de inversionistas comprometidos con el país, y con la finalidad de crear tecnología en el ramo de los alimentos competitiva a nivel global.

El proceso de liofilizado de pulpa de Aguacate Hass, patentado por la empresa, consta de las siguientes etapas principales:

1. Selección de la materia prima
2. Reducción de tamaño del pericarpio
3. Congelado
4. Liofilizado

5. Envasado
6. Almacenamiento

Se establece la hipótesis de que se puede disminuir el impacto de las reacciones de degradación del pericarpio del aguacate si se controla la etapa de reducción de tamaño, debido a que en la práctica se ha observado mayor actividad de la polifenoloxidasasa si se reduce demasiado a partículas menores de 1mm, el pericarpio; y según el tipo de fuerza que se aplica al pericarpio al momento de reducir su tamaño, ya que, se estima que existe mayor ruptura de la membrana celular, la cual actúa como barrera y limitando las reacciones de degradación del contenido intracelular.

Esta suposición, se sustenta también en que la ruptura celular es utilizada en algunos procesos con la finalidad de liberar el contenido intracelular y extraer los productos de interés, como por ejemplo en la industria farmacéutica, y en los procesos de recuperación de productos biológicos o moléculas bioactivas se busca romper las membranas para liberar los principios activos, y con esto se puede suponer que, si existe ruptura celular, el contenido intracelular, queda expuesto al medio que lo rodea. La ruptura celular es directamente proporcional con él por ciento de la ruptura (Cisneros & Rito, 2005).

La ruptura celular se produce por métodos mecánicos y no mecánicos, y que para efectos de este estudio tomaremos con mayor importancia los métodos mecánicos, y los cuales pueden divididos en:

- ☞ Fricción
- ☞ Presión
- ☞ Colisiones

Los métodos mecánicos someten a las células a una deformación en fase sólida o líquida, y provocan la ruptura de algunas de ellas. Un ejemplo de las mismas se muestra la Figura 2.



Ilustración 2. Lisis celular producida por métodos mecánicos.

La difusión del oxígeno a través del tejido del aguacate se ve obstaculizado por la distancia que tiene que recorrer. La difusión desde el exterior hacia el interior del fruto fue estudiada con la finalidad de determinar un modelo para la respiración del aguacate en el proceso de maduración; con esto, podemos decir que las membranas celulares son importantes para la difusión del oxígeno. Así mismo, al aumentar la superficie de intercambio del tejido del pericarpio del aguacate, ésta difusión del oxígeno se va a favorecer y con ello las reacciones de degradación de lípidos y compuestos fenólicos (Valle-Guadarrama y col, 2005).

La ruptura celular favorece el contacto entre enzimas-sustratos y por lo tanto aumenta la actividad enzimática. En este sentido, también la microscopia permitiría entender el nivel de destrucción del tejido, con lo cual podremos entender cuanto sustrato queda dispuesto para que sea utilizado por las enzimas. Esto debido que la membrana celular funciona como una barrera biológica, y que, al ser rota por el proceso mecánico aplicado, favorece las reacciones químicas y enzimáticas, y debido a que sí existe mayor ruptura celular existe mayor liberación de enzimas, que se activan por las condiciones óptimas de concentración de sustrato, pH, y temperatura, y que son necesarias para la reacción.

8. AGUACATE LIOFILIZADO

8.1. ALTERACIONES SENSORIALES

Las alteraciones sensoriales del aguacate liofilizado son por 2 vías básicas por dos vías básicamente, la primera es por la oxidación enzimática durante la maduración del

fruto, y teniendo los ácidos grasos libres como sustrato de las lipasas; la segunda se presenta el producto expuesto al medio ambiente puede sufrir oxidación de grasas por el contacto del oxígeno con las mismas o por acción de las peroxidasas, y estas oxidaciones generan sustancias que dan características sensoriales no agradables al consumidor; y finalmente, si la pulpa se ve expuesta a temperaturas no controladas, y la presencia de proteínas y carbohidratos favorecen las reacciones de Maillard, las moléculas generadas por esta reacción y la de oxidación de grasas, producen notas sensoriales desagradables.

8.2. PROCESOS OXIDATIVOS

El alto contenido en grasas del pericarpio del aguacate lo convierte en una matriz muy vulnerable a las reacciones de oxidación, tales como son la reacción de oxidación que sufren las grasas en presencia del oxígeno o por ciertas enzimas específicas.

8.2.1. OXIDACIÓN POR OXÍGENO

Esta reacción ocurre cuando un átomo cede un electrón a otro átomo distinto mediante el proceso de reducción química. En esta reacción se generan compuestos que mantiene o aceleran la reacción de oxidación, además de sintetizar sustancias de bajo peso molecular que confieren el olor típico a las grasas oxidadas o rancias. Existen diferentes promotores e inhibidores de esta reacción que se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 4. Factores en la oxidación de lípidos

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA OXIDACIÓN DE LÍPIDOS	
PROMOTORES	INHIBIDORES
Temperaturas altas	Refrigeración
Metales: Cu y Fe	Secuestradores
Peróxidos de grasas oxidadas	Antioxidantes
Lipoxigenasas	Escaldado
Presión de oxígeno	Gas inerte o Vacío
Luz UV, Luz Azul	Empaque Opaco
Poli-insaturación	Hidrogenación de ácidos insaturados
Radiaciones Ionizantes	Antioxidantes

Fuente: (Badui, 2006)

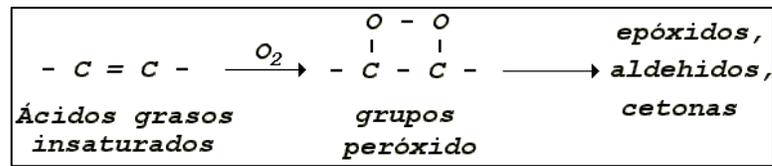


Figura 4. Oxidación de lípidos insaturados por oxígeno.

8.2.2. OXIDACIÓN POR ENZIMAS

La llamada 'Oxidación Lipídica' o 'Rancidez Hidrolítica' consisten en la degradación de los ácidos grasos liberados por la acción de lipasas propias de la misma fruta, las cuales tienen la capacidad de convertir los triglicéridos en ácidos grasos libres y agua y para después pasar a la etapa de formación de peróxidos y hasta llegar a la producción de aldehídos y cetonas (Figura 5).

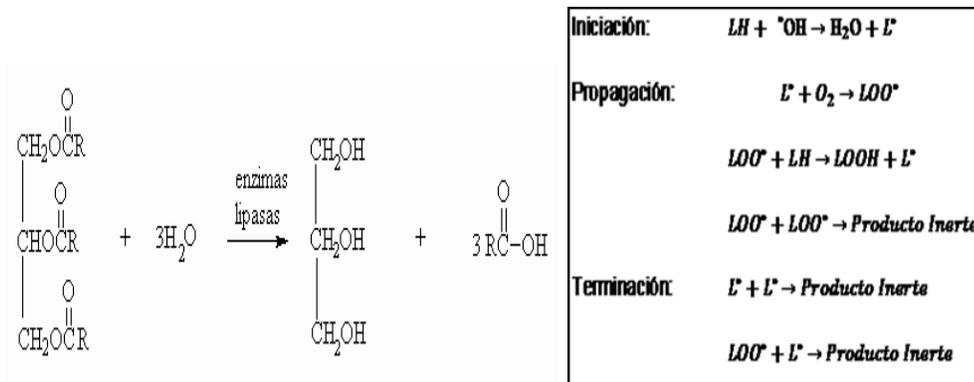


Figura 5. Oxidación de lípidos por enzimas

En la etapa intermedia de la reacción de oxidación lipídica se producen peróxidos, los cuales son necesarios para que se lleve a cabo la propagación de la reacción. Estos peróxidos pueden ser utilizados por las peroxidasas que degradan el peróxido, es decir, la reacción de oxidación lipídica produce el sustrato necesario de las peroxidasas presentes en el pericarpio del aguacate, y estas se han reportado en mayor concentración en un estado de madurez avanzado del aguacate, es decir, cuando las grasas alcanzan su mayor concentración. De esta manera se forma un ciclo, en el que al existir mayor oxidación de grasas para las peroxidasas propiciará la formación de agua y oxígeno, y el cual a su vez sigue propiciando la oxidación lipídica.

La oxidación lipídica se lleva a cabo principalmente, a partir del máximo de grasa del fruto, en este punto el aguacate se encuentra en la etapa de madurez comercial y los compuestos producidos por la peroxidación de grasas, contribuyen al sabor típico del aguacate fresco, a la que contribuyen compuestos tales como el hexanal, que es el principal responsable del sabor fresco y verde del pericarpio (López y col., 2004) ; otros de los compuestos volátiles reportados en el aguacate fresco son los siguientes: 2-heptenal, 2-nonenal, 3-hidroxi-2-butanona, estragol, etanol, y hexanol. Después de este periodo de madurez comercial, las oxidaciones continúan el aguacate empieza a envejecer y el sabor empieza a deteriorarse, así como la calidad general del fruto.

De este modo los sabores indeseables encontrados en el pericarpio del aguacate fresco son debidos a terpenoides como son el nerolidol, α -farnesne, β -cariofileno, óxido de cariofileno y α -copaeno, y que aportan un sabor amargo; y a otras tres sustancias volátiles no caracterizadas a fondo, y los cuales generan sabores indeseables. También existen compuestos no volátiles que aportan gustos amargos o astringentes por. Los compuestos de este tipo son acetilénicos y olefínicos con grupos hidroxilos, y estos compuestos son diferentes solo en un doble y tripe enlace terminal. La identificación de estos compuestos se realizó por medio de cromatografía de líquidos HPLC y por análisis sensorial (Brown, 1972).

(López y col., 2004), demostraron que existe una influencia en la generación de compuestos volátiles por oxidación de lípidos, al comparar el perfil de compuestos volátiles presentes en un pericarpio del aguacate tratado con microondas y sin microondas, logrando observar un aumento en el perfil de compuestos volátiles presentes en el pericarpio del aguacate con tratamiento de microondas, lo cual se muestra en la Tabla 5. El método usado en este trabajo para extraer y determinar dichos compuestos volátiles fue micro extracciones en fase sólida para la extracción y la cromatografía de gases para la identificación de los compuestos.

Tabla 5. Compuestos volátiles en aguacate fresco

#CAS	Compuestos	Aguacate Fresco	Hojas de aguacate	Aguacate con microondas	Aguacate con microondas adicionado con hojas de aguacate
913	Etanol	+	+	+	+
934	Pentanal			+	+

946	α -Pinene		+		+
960	1-Penten-3-one			+	+
1104	Hexanal			+	+
1108	β -Pinene		+		+
1160	β -Myrcene		+		
1191	Limonene		+		
1195	Heptanal			+	+
1203	Eucalyptol		+		+
1220	3-Methyl-butanol	+		+	+
1228	2-Hexenal [E]		+	+	+
1262	Pentanol	+		+	+
1291	Hydroxy-butanone	+			
1295	Octanal			+	+
1309	1-Octen-3-one			+	+
1328	2-Heptenal [E]			+	+
1363	Hexanol	+	+	+	+
1434	2-Octenal [E]			+	+
1460	1-Octen-3-ol			+	+
1463	Acetic acid	+	+	+	+
1471	Copaene		+		
1483	Furfural			+	+
1542	2-Nonenal [E]			+	+
1572	Octanol			+	+
1580	Caryophyllene		+		
1660	2-Decenal [E]			+	+
1691	Estragole		+		+

Fuente: (López y col., 2004)

(Degenhardt & Hofmann, 2010), demostraron que los compuestos 1,2,4- trihidroxihepta-deca-16-ino y el 1,2,4- trihidroxiheptadeca-16-eno son los principales responsables del sabor amargo en el pericarpio del aguacate con tratamiento térmico, para lo cual utilizaron una técnica de comparación utilizando como muestra testigo la pulpa de aguacate sin tratamiento o estándares diluciones conocidas y realizando la prueba comparativa de la dilución contra el pericarpio tratado térmicamente.

8.3. REACCIÓN DE MAILLARD

Como ya hemos mencionado, muchos de los compuestos volátiles generados por reacciones de oxidación son responsables de los sabores indeseables en el pericarpio del aguacate liofilizado. Sin embargo, también existe otra vía para la producción de

compuestos volátiles que contribuyen al sabor, esta es la vía de las Reacción de Maillard o glucosilación no enzimática.

Esta reacción se lleva a cabo entre un azúcar reductor y el grupo amino libre de las proteínas, con lo que se producen diferentes compuestos como las melanoidinas que van desde el color amarillo claro hasta café oscuro e incluso negro, además de otras sustancias sápidas, las cuales pueden tener propiedades quelantes y antioxidantes, debido a que eliminan radicales libres producidos en la oxidación de grasas. Es importante mencionar que los sustratos necesarios para que se lleve a cabo la reacción se encuentran del 1.7 al 5.9% en el pericarpio del aguacate.

La formación de Melanoidinas se da en 4 etapas básicas

Etapa 1.- Condensación del azúcar reductor con el grupo amino. Esta es la unión del carbonilo de un azúcar reductor con el grupo amino libre de un aminoácido o de una proteína, excepto los que forman el enlace peptídico. Los aminoácidos que pueden participar en esta reacción formando el enlace peptídico son la lisina, arginina, histidina y triptófano. Las características del azúcar reductor son que deben tener una estructura abierta para que su carbonilo sea atacado núcleo fílicamente por el par de electrones del nitrógeno del grupo amino y formar la base de Schiff, que a su vez se cicla para formar una glucosilamina. Esta reacción la podemos observar en la siguiente figura:

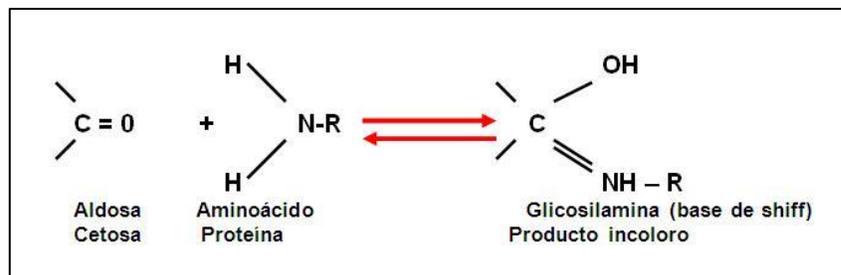


Figura 6. Reacción de Maillard. Etapa 1.

Etapa 2.- Transposición de los productos de condensación. Tanto las aldosaminas como las cetosaminas son inestables y se isomerizan. Las aldosaminas se convierten en cetosaminas por el mecanismo de Amadori y las cetosaminas en aldosaminas por la transposición de Heyns. Dicha reacción se presenta en la siguiente figura.

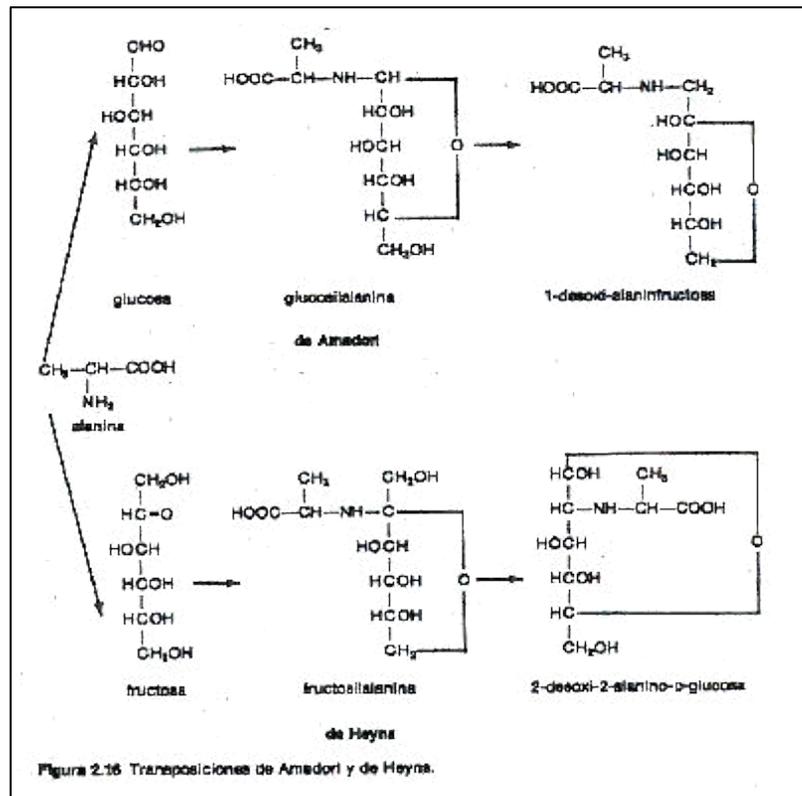


Figura 7. Reacción de Maillard. Etapa 2.

Etapa 3.- Reacción de los productos de Transposición. Los subproductos formados sufren modificaciones que dan lugar a olores, aumento del poder reductor, aparición de amarillos tenues y aumento en la absorción del UV. Las sustancias generadas son insaturadas por lo que resultan ser muy reactivas, siguiendo diversas rutas químicas dependiendo de las condiciones de acides, temperatura, etc. A continuación, se muestra un ejemplo utilizando las cetoaminas.

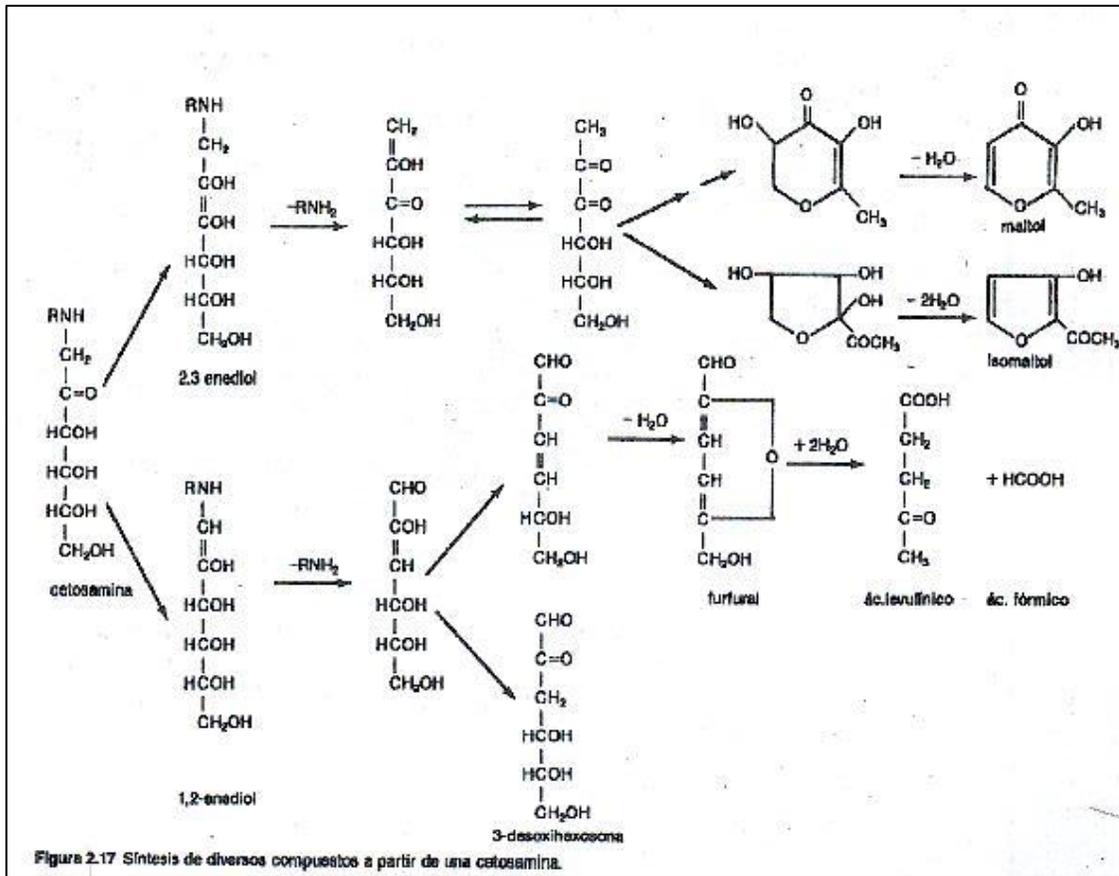


Figura 8. Reacción de Maillard. Etapa 3.

Se sabe que existen algunos aminoácidos que en presencia de glucosa y calentamiento generan diversos olores como se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 6. Aromas de aminoácidos por calentamiento

AROMAS PRODUCIDOS POR EL CALENTAMIENTO DE UN AMINOÁCIDO CON GLUCOSA		
Aminoácido	Aroma	
	100°C	180°C
Solo glucosa	Ninguno	Caramelo
Valina	Pan de centeno	Chocolate muy fuerte
Leucina	Chocolate Dulce	Queso quemado
Prolina	Proteína quemada	Aroma agradable de pan
Glutamina	Chocolate	Caramelo
Ácido Aspártico	Azúcar	Caramelo
Lisina	Ninguno	Pan

Etapa 4.- Polimerización y formación de melanoidinas. Esta es la última fase de la reacción de Maillard, que es la polimerización de un gran número de compuestos insaturados, que conlleva a la síntesis de la melanoidinas de peso molecular entre 5-10 kD. Su color se debe a la amplia absorción del espectro visible por parte de los sitios cromóforos de las moléculas.

Estos cuatro pasos de la reacción de Maillard se presenta en la siguiente figura.

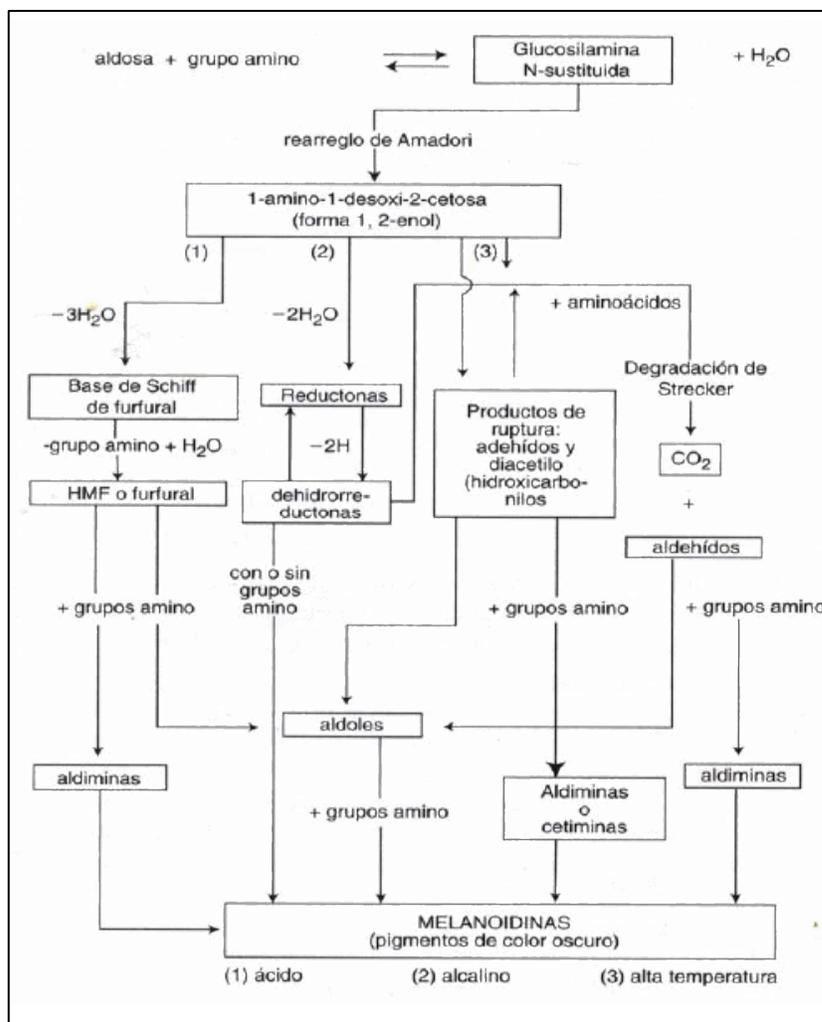


Figura 9. Reacción de Maillard. Etapa 4.

Existen factores que influyen en la reacción de Maillard, a continuación, se muestran dichos factores.

Tabla 7. Factores en la reacción de Maillard.

FACTORES QUE INFLUYEN EN LA REACCIÓN DE MAILLARD		
FACTOR	PROMOTORES	INHIBIDORES
pH	A pH 10 alcanza lo máximo	Condiciones Ácidas
Temperatura	0-70 °C	
Actividad de Agua	0.6 < Aw < 0.9	< 0.6 Aw >0.9
Tipo de Aminoácido	Mayor tamaño en la cadena y mayor número de grupos amino. A mayor distancia del grupo amino y grupo carboxilo mayor velocidad: lisina, arginina, histidina y triptófano.	
Tipo de azúcar	Monosacáridos más que disacáridos, aldosas más que las cetosas, pentosas más que las hexosas (xilosa, galactosa, glucosa, fructosa, lactosa y maltosa)	
Metal	Cobre y hierro	

8.4. REACCIONES ENZIMÁTICAS

Como se ha mencionado en párrafos anteriores, algunos aldehídos y cetonas son los principales responsables de sabores deseables e indeseables del pericarpio del aguacate, pero también se ha reportado que algunos monofenoles y difenoles son responsables de sabores amargos y de la astringencia característica del pericarpio del aguacate (Hurtado-Fernández, 2011). Estos compuestos son el sustrato de las monofelases que producen difenoles y que son el sustrato de las difenolasas para finalmente producir quinonas. Las difenolasas son importantes debido a que se ha reportado poca actividad de las monofelases comparado con las difenolasas contenidas en el pericarpio del aguacate (Espín y col., 1997).

Una de las enzimas de interés de este estudio resulta ser la polifenoloxidasa, la cual produce polímeros (polifenoles) que adquieren una coloración café en el pericarpio del aguacate en combinación con la exposición de la pulpa al oxígeno por largos lapsos de tiempo; y es por esto que resulta de gran interés para la industria procesadora del aguacate inhibirla. Se usan métodos físicos que no aporten sabor al pericarpio del aguacate que podrían generar los métodos químicos. Uno de los métodos que han re-

sultado de alto impacto a nivel industrial son las altas presiones, aunque se ha determinado que existe una actividad remanente.

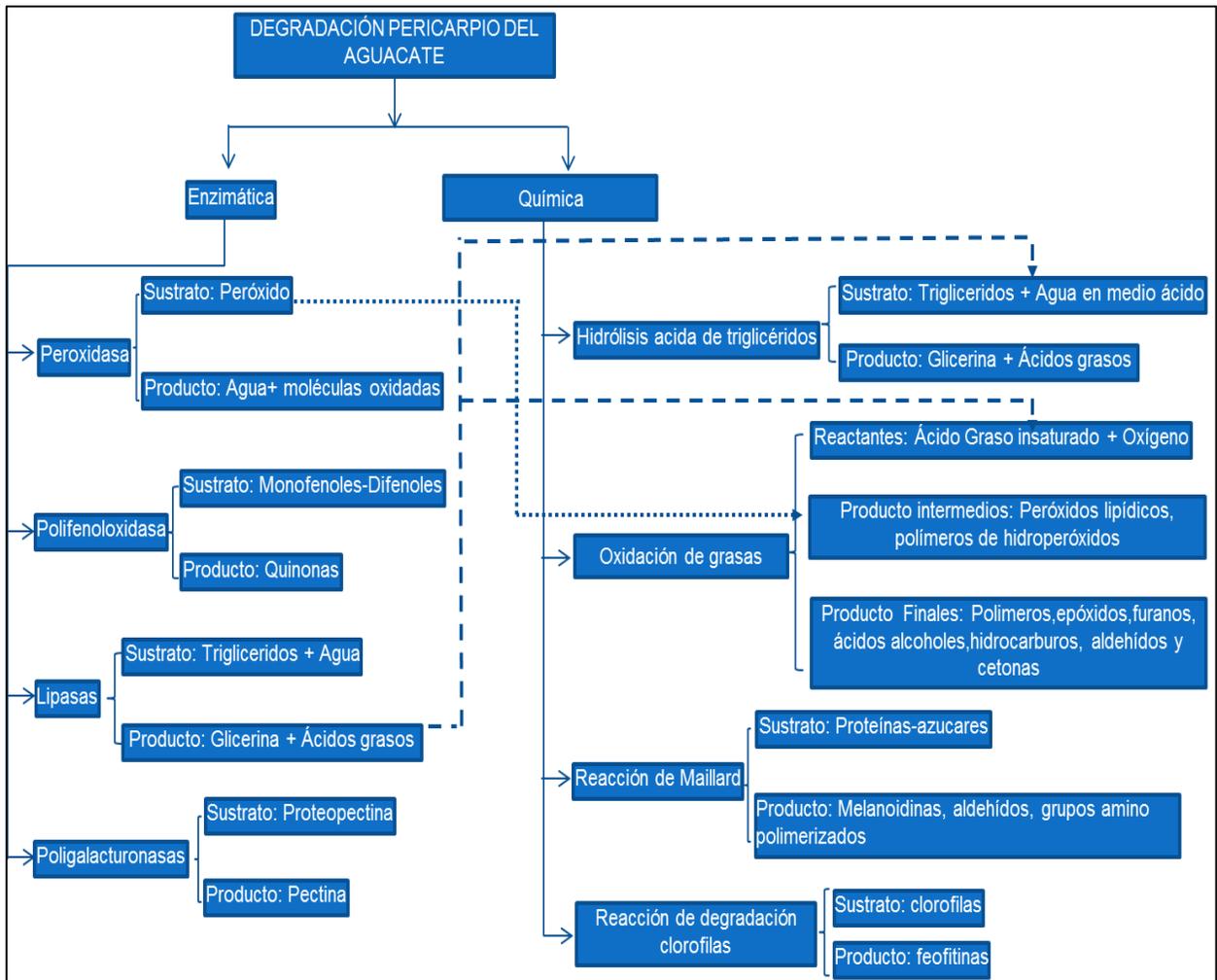


Figura 10. Vías de degradación del pericarpio del aguacate.

Existen actualmente métodos de inactivación de la polifenoloxidasas por métodos mecánicos como las altas presiones, las cuales se aplican a 700 MPa de presión y da como resultado una actividad enzimática remanente (Weemaes y col., 1999). También se han aislado isoformas de la poligalacturonasa en el pericarpio del aguacate, y en donde se ha aplicado una temperatura de 70°C por 5 min para la desactivación de las mismas (Wakabayashia & Donald, 2001).

Las lipasas, EC.3.1.1.3, son enzimas encargadas de hidrolizar triglicéridos y son de la familia de las hidrolasas, catalizan la hidrólisis de los triglicéridos en la interfase lípido-agua. Además de su rol fisiológicos en la hidrólisis de grasas neutras, las lipasas catalizan la hidrólisis o síntesis enantio y regio-selectivas de una amplia variedad de sustratos naturales tales como la soya, aceite de pescado, ricino y frutas cítricas (Björkling y col, 1991); así mismo puede llevar a cabo la esterificación, interesterificación y transesterificación en medios no acuosos (Houde y col., 2004).

Como ya mencionamos, las reacciones de degradación del pericarpio del aguacate pueden ser por vía química y/o enzimática, lo cual se puede ver resumido en la Figura 10.

8.5. OTROS CAMBIOS

Las clorofilas son moléculas que abundan en los organismos que contienen cloroplastos. La molécula de clorofila se encuentra está formada por dos anillos: uno anillo de porfiriana y una cadena larga llamada fitol, que es un tetrapirrol. Estos cambios de color de verde brillante a verde oliva se deben a la formación de feofitina, luego de que es reemplazado el ion Mg^{2+} del anillo tetra-pirrólico de la clorofila por dos iones hidrogeno (Gross, 1991).

Por su parte, los colores amarillos son producidos por los carotenoides.

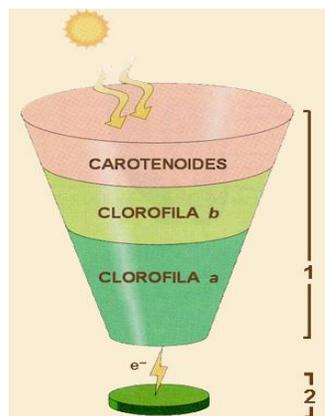


Ilustración 3. Colores característicos de las clorofilas y carotenoides

También los ácidos contenidos en pericarpio del aguacate pueden actuar como catalizadores de la degradación de los pigmentos. (Ashton y col., 2006), han reportado que los pigmentos responsables del color verde oscuro, verde pálido y amarillo que se ob-

servan en un corte transversal del pericarpio de un aguacate corresponden a: R-carotenos, B-carotenos, neoxantina, violaxantina, zeaxantina, anteraxantina, clorofilas a y b, y feofitinas, respectivamente. Así mismo, en el color verde oscuro se detectó mayor concentración de clorofilas b.

II. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Actualmente, la empresa SíoSío Alimentos S.A de C.V cuenta con un proceso patentado para la liofilización de la pulpa de aguacate. Este proceso permite conservar el producto manteniendo una buena proporción de su sabor original, así como también su calidad nutricional y microbiológica, sin necesidad de refrigeración o congelación. Este proceso abarata el costo de transporte y almacenamiento, si se compara con los costos que se requieren para los productos que manejan la cadena de frío. En este sentido, éste proceso tiene una ventaja competitiva respecto a la congelación y refrigeración que actualmente utilizan la mayoría de las empresas comercializadoras de pulpa de aguacate.

Sin embargo, con el paso del tiempo, el producto almacenado presenta inestabilidades en algunas características sensoriales, entre las cuales están el sabor amargo y nota de cartón, así como un olor intenso a grasa, y la aparición de rancidez a partir de los 6 meses de haber sido empacado. Estos problemas impiden a la empresa ofrecer un producto que cubra al 100% de las expectativas de algunos de los clientes actuales. Además de ser limitante para ampliación de la cartera de clientes, por lo tanto, el crecimiento de la empresa.

III. HIPÓTESIS

Controlar la etapa de reducción de tamaño del pericarpio del aguacate permitirá disminuir el impacto de las reacciones de degradación vía enzimática y química de los ácidos grasos contenidos en el pericarpio del aguacate liofilizado.

IV. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el impacto de diferentes métodos de reducción de tamaño y la aplicación de altas presiones sobre el deterioro de las grasas contenidas en el aguacate en polvo liofilizado.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I. Determinar el impacto de diferentes métodos de reducción del pericarpio del aguacate sobre las reacciones químicas de degradación mediante la determinación pH, ácidos grasos libres, actividad de agua, humectabilidad, compuestos volátiles.
- II. Determinar el impacto de los métodos de reducción del pericarpio sobre la integridad de las células vía técnicas de microscopía.

V. METODOLOGÍA

1. DISEÑO EXPERIMENTAL

1.1. VARIABLES DE ESTUDIO

- Factores
 - Reducción de Tamaño
 - Altas presiones
- Niveles
 - A-1) Fricción
 - A-2) Compresión
 - B-1) Sin altas presiones
 - B-2) Con altas presiones
- 3 Repeticiones por tratamiento

1.2. VARIABLES DE RESPUESTA

- Morfología de las partículas y células por Microscopia
- Acidez titulable
- pH
- Compuestos volátiles
- Actividad acuosa
- Humectabilidad

1.3. FACTORES CONSTANTES

- Madurez Materia Prima

1.4. DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Para facilitar la visualización de las combinaciones generadas en el diseño de experimentos a continuación se muestra un diagrama del diseño de experimentos donde podemos observar de una manera más explícita nuestra combinación de los diferentes factores.



Figura 11. Diseño de experimentos.

Tabla 8. Técnicas a utilizar

			Tipo de fuente	
NOMBRE	Objetivo	TEÓRICO	EMPRESA	METODOLOGÍAS A UTILIZAR
1	Selección Materia Prima por Dureza	Realizar una selección preliminar dependiendo de la firmeza		(RUIZ, 2013)
2	Corte	Realizar un corte transversal de la fruta		SIOSI-PRO-004-01 (corte y deshuesado)
3	Extracción del pericarpio	Separar el pericarpio del hueso y cáscara		SIOSI-PRO-004-01 (corte y deshuesado)
4	Actividad Enzimática	Producir pericarpio con altas presione y sin altas presiones		Método utilizado en CUPANDA
5	Reducción del pericarpio	Reducir el tamaño del pericarpio		SIOSI-PRO-005-02 (molienda pericarpio)
6	Congelado	Congelación rápida de pulpas		SIOSI-PRO-007-02 (congelado de pastas)
7	Liofilizado	Someter las Pericarpios producidas a liofilización		SIOSI-PRO-008-02 (liofilización)
	Microscopía	Determinar la ruptura celular visualmente		(OPAZO, 2000) modificada
	Actividad de agua	Determinar la actividad acuosa de las pulpas de aguacate liofilizada		INS-002-00 USO DE MEDIDOR DE ACTIVIDAD DE AGUA
	pH	Determinar la humedad del pericarpio en la etapa 7		(NMX-F-317-NORMEX-2013 Alimentos-determinación de ph en alimentos y bebidas no alcohólicas-método potenciométrico-método de prueba (CANCELA A LA NMX-F-317-S-1978)., 2013)
	Ácidos Grasos Libres	Determinar la cantidad de ácidos grasos que se liberan durante el proceso y la vida de anaquel		(AOAC 940.28-1940 Fatty acids (free) in crude and refined oils. , s.f.)
	Compuestos Volátiles	Determinar el perfil de compuestos volátiles producidos durante el proceso		Método reportado por (López y col., 2004)
	Humectabilidad	Determinar el efecto de los procesos de reducción de tamaño sobre la humectabilidad se determina en la etapa 7		(Ceballos, 2008)

2. ETAPAS DEL PROCESO

Se llevaron a cabo 7 pasos como se describe a continuación.

Se utilizó un lote de 58 Kg de aguacate Hass, el cual se procesó mediante las siguientes etapas.

2.1. DETERMINACIÓN DE MADUREZ

Se tomaron 20 piezas de aguacate al azar de la muestra total, a los cuales se les determinó la madurez, y en base a una prueba destructiva (RUIZ, 2013), con un texturómetro Brookfield, modelo CT3 con capacidad de 25 Kg, la cual consto de los siguientes pasos:



Figura 12. Determinación de madurez

2.2. CORTE

Esta etapa se realizó en 3 pasos, y como se muestra en la siguiente figura:

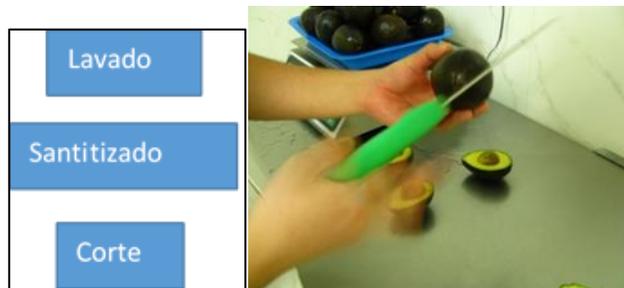


Figura 13. Corte del aguacate

2.3. EXTRACCIÓN DEL PERICARPIO

Esta etapa consistió en realizar la separación del hueso y cáscara del mesocarpio lo más entero posible, y las muestras se envasaron en bolsas de calibre 300 al vacío. En el anexo se presenta la ficha técnica de dichas bolsas, y las cuales contenían 3 Kg de producto por bolsa.



Figura 14. Extracción del mesocarpio

2.4. ALTAS PRESIONES

Se toman 30 Kg de mesocarpio y se divide en 2 lotes de 15 Kg cada uno.

El lote 1 se define como el lote que tiene actividad enzimática, y debido a que no se le sometió a la acción de las altas presiones. El lote 2 no tiene actividad enzimática, y debido a que se sometió a una presión 550 MPa por 120 s a 20°C en un equipo de altas presiones, marca Hyperbaric, modelo Wave 55, y por un proceso establecido por la Sociedad Cooperativa de Venta en Común CUPANDA, S.C.L.



Figura 15. Equipo altas presiones. Hiperbaric, Wave 55.

Tabla 9. Altas presiones

Lote	Variable de estudio del ensayo
T1	Sin Altas Presiones
T2	Altas Presiones

2.5. REDUCCIÓN DE TAMAÑO

La cantidad total del pericarpio extraído en la etapa anterior se dividió en 2 lotes de, para posteriormente aplicar 2 métodos de reducción del pericarpio, los cuales son compresión y fricción. Al aplicar estos tratamientos podremos diferenciar si tiene un efecto sobre las variables de respuesta físicas y fisicoquímicas de la pulpa de aguacate como son la microscopia, pH, índice de acidez, humedad, compuestos volátiles, y como se muestra en la siguiente tabla.

En esta etapa se utilizó una metodología ya establecida en la empresa, y solo va a variar el equipo de reducción del pericarpio. Se utilizaron 2 equipos para simular cada uno de los tratamientos: 1) Equipo para Fricción; Batidora de Inmersión Oster Blanca Modelo M2609-13. 2) Equipo para Compresión; Prensa de Papas marca Metaltex.

Tabla 10. Asignación de lotes de experimentación

Lote	Sublote	Variable de estudio del ensayo	Variables de respuesta
T1	1	Sin Altas Presiones + Fricción	<ul style="list-style-type: none">• Microscopia• pH• Índice de acidez• Actividad de agua• Compuestos volátiles.
	2	Sin Altas Presiones + Compresión	
T2	3	Altas Presiones + Fricción	
	4	Altas Presiones + Compresión	

2.6. CONGELADO RÁPIDO DE MUESTRAS

Al finalizar la etapa anterior, todas las muestras se sometieron a un congelado rápido el cual fue a -60°C en un lapso de 15 minutos, en un ultra-congelador, marca Revco modelo ULT1386-9-A36.



Ilustración 4. Equipo de congelación

2.7. LIOFILIZADO

Todos los lotes generados se sometieron al proceso de liofilizado con las condiciones de operación establecidos por la empresa, y con el objetivo de retener las reacciones que influyan sobre el pH, índice de acidez, etc. Las condiciones de operación del proceso de liofilizado no se pueden reportar debido a que es un proceso patentado por la empresa Si o Si alimentos SAPI de C.V.

3. PARÁMETROS DE ESTUDIOS

Las muestras, anteriormente generadas, se sometieron a una serie de análisis fisicoquímicos para determinar el efecto de cada uno de los tratamientos. Y las cuales se realizaron en el siguiente orden: microscopia, pH, % de acidez, humectabilidad, actividad de agua.

3.1. MICROSCOPIA

Esta técnica permitió observar físicamente el impacto de los 4 tratamientos sobre la ruptura celular. Esta metodología se modificó, y fue comparada con la reportada por (OPAZO, 2000), la modificación se hizo en la manera de preparar la muestra. La muestra fue preparada en fresco y el corte se llevó a cabo con un criostato, Microm, 505-n, y

la tinción se realizó con verde de malaquita y sudan III directos y se observó en microscopio óptico Motic BA210 series. Ver anexo 3.

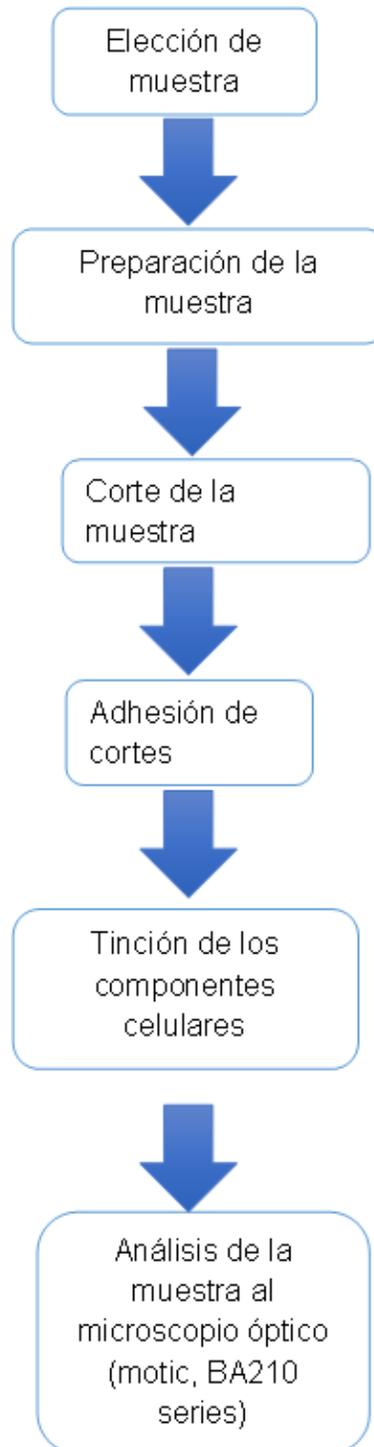


Figura 16. Metodología para análisis microscópico

3.2. pH

Una vez generadas las muestras de los 4 tratamientos se midió el pH de las pastas; y estos con el fin de determinar la influencia que tiene cada tipo de tratamiento en el pH de las muestras. Se utilizó el método del Potenciómetro, (NMX-F-317-NORMEX-2013 Alimentos-determinación de ph en alimentos y bebidas no alcohólicas-método potenciométrico-método de prueba (CANCELA A LA NMX-F-317-S-1978)., 2013).

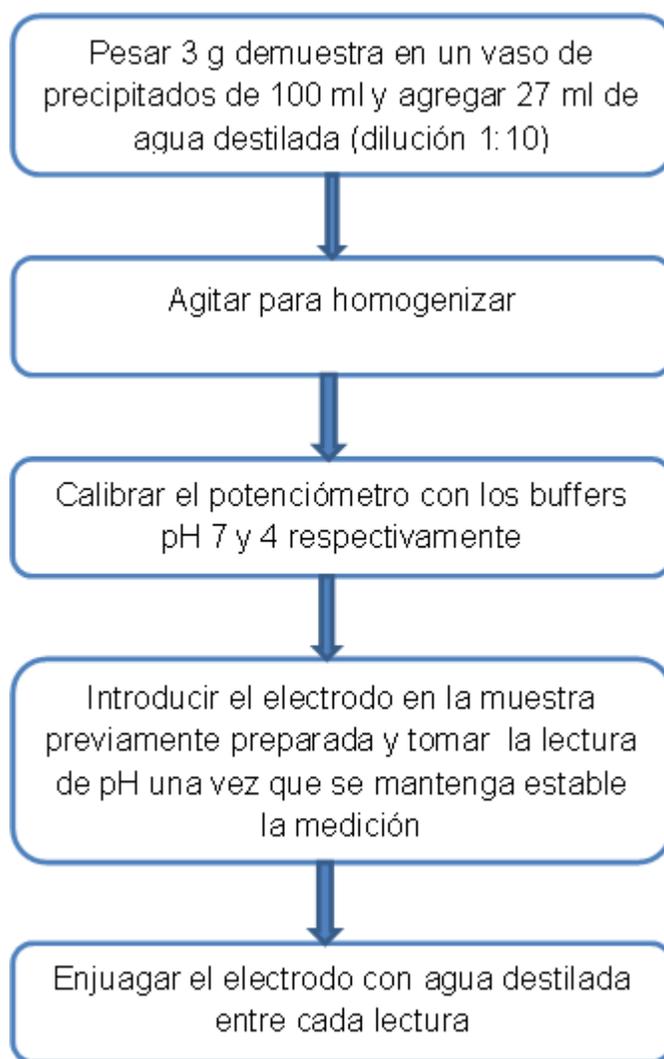


Figura 17. Metodología para análisis de pH

3.3. ACTIVIDAD DE AGUA

Los análisis de la actividad de agua fueron realizados en el laboratorio de control de calidad de la Empresa Si o Si Alimentos S.A. P.I de C.V con la finalidad de ver a qué factores en el aguacate liofilizado con diferentes tratamientos podría ser susceptible a la iniciación de reacciones de degradación enzimática y no enzimática, al igual que la degradación por crecimiento de microorganismos y ver cuanta actividad de agua cuentan cada una de las muestras. Ver anexo 7.

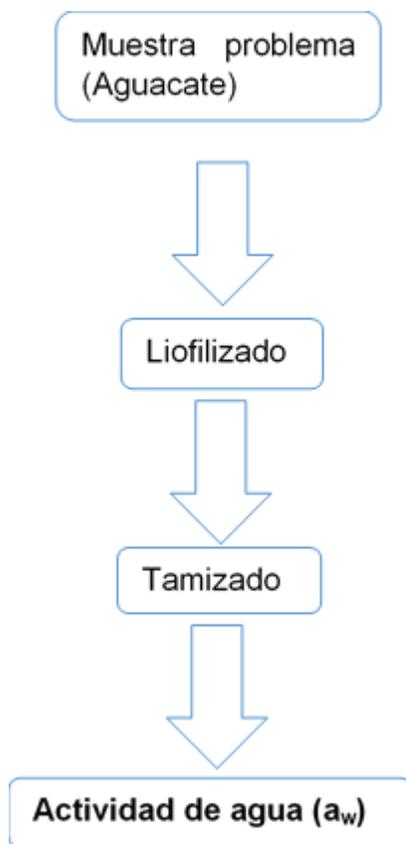


Figura 18. Metodología para determinar actividad acuosa

3.4. HUMECTABILIDAD

Mediante esta técnica se determinó si los polvos generados en el liofilizado fueron impactados sobre sus propiedades de adsorción de agua. Esta técnica se realizó en base a lo reportado por (Ceballos, 2008). Ver anexo 2.

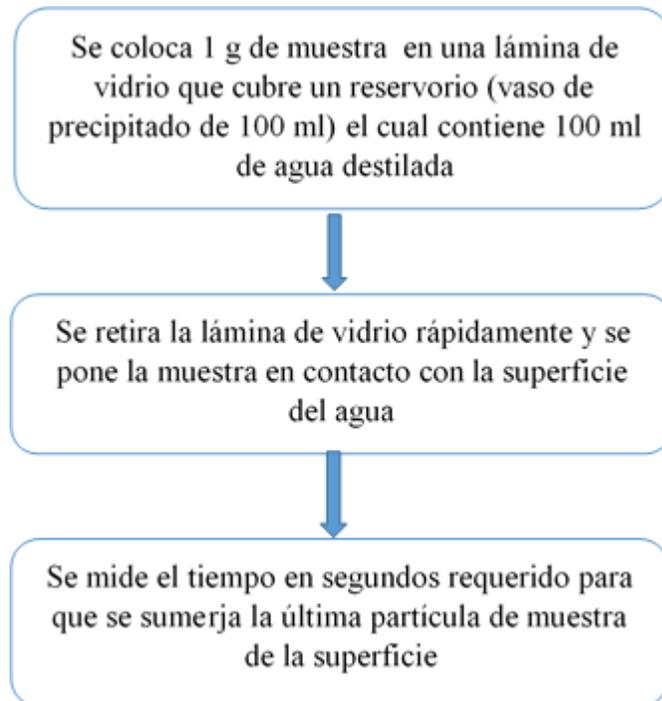


Figura 19. Metodología para determinación de humectabilidad

3.5. ÍNDICE DE ACIDEZ

Determinación de la liberación de grasas por ruptura celular, y se aplicó el método oficial de la AOAC 940.28. Ácidos grasos libres en aceites crudos y refinados. Este método determina la cantidad de ácidos grasos libres por degradación química, mecánica o física, mediante una titulación de ácidos grasos con un álcali.

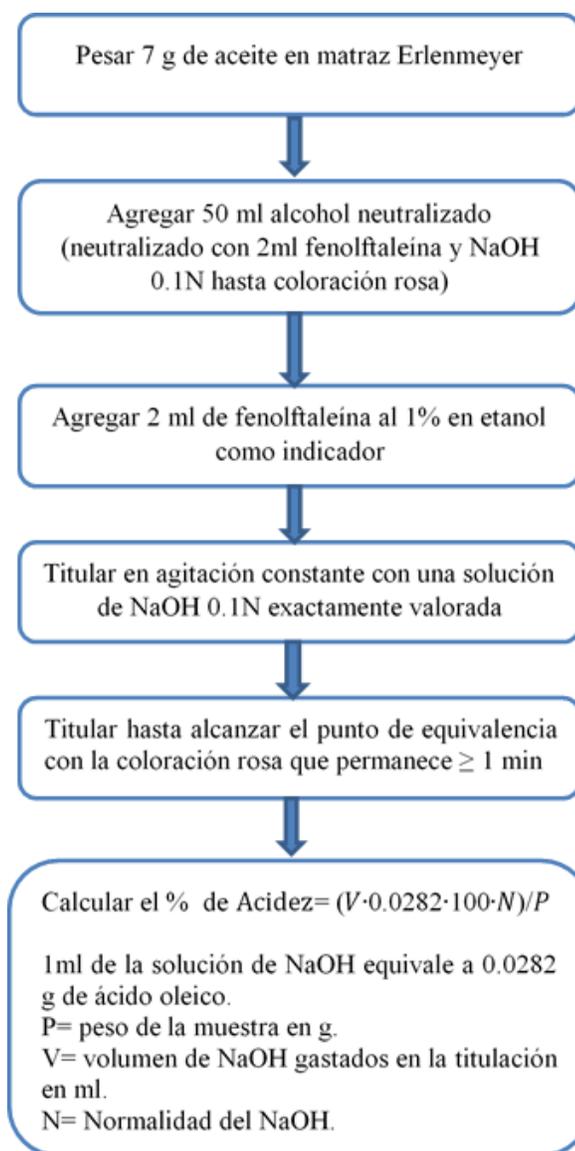
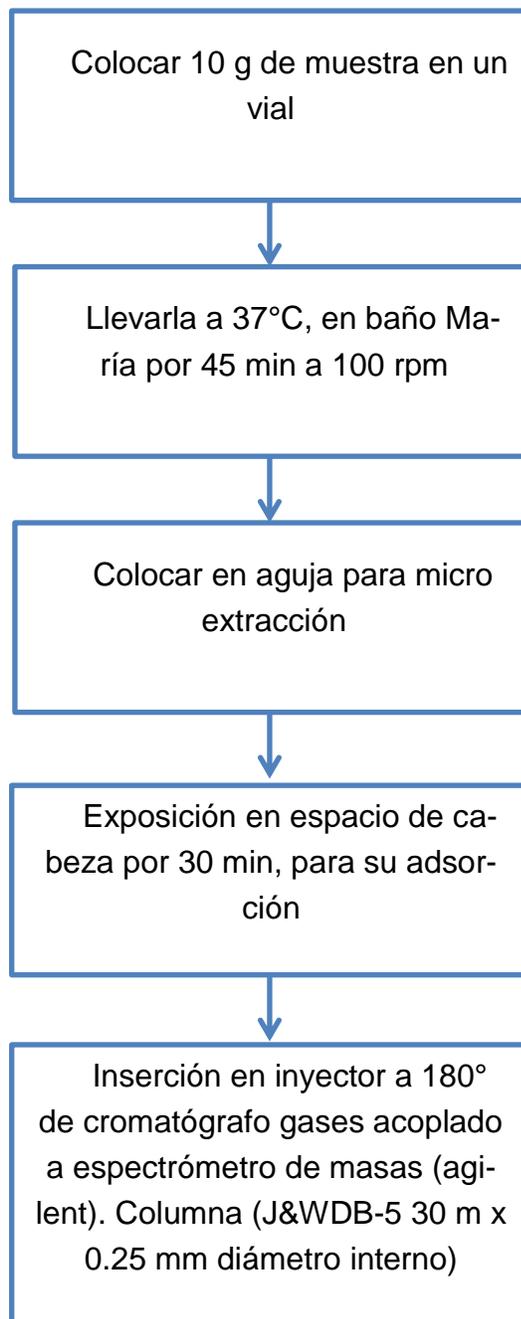


Figura 20. Metodología para determinación de acidez

3.6. COMPUESTOS VOLÁTILES

Esta técnica se realizó con la finalidad de analizar y comparar el efecto de los 4 tratamientos sobre los compuestos volátiles contenidos en cada uno de los productos de cada tratamiento comparado con uno sin tratamientos. Esta determinación se realizó con la finalidad de monitorear sustancias relacionadas con los sabores generados en los 4 tratamientos propuestos en el presente trabajo.



4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el programa JMP12. JMP. El análisis de datos se realizó mediante un análisis de ANOVA de una sola vía, con la finalidad de entender si existe diferencia significativa entre los 4 tratamientos estudiados con base en cada

una de las variables de respuesta (ácidos grasos libres, pH, humectabilidad y compuestos volátiles). Posteriormente se realizó un comparativo entre las medias de cada uno de los tratamientos y en cada variable de respuesta mediante la prueba de Tukey. Esta comparación de medias nos permite entender qué tanta diferencia existe, para cada variable de respuesta, entre cada uno de los tratamientos.

Otro cálculo estadístico utilizado fue el coeficiente de variación de Pearson, el cual permite evaluar si la repetitividad de los ensayos. Entre más cercano a 100, mayor confianza en los valores obtenidos.

Las gráficas de comparación de medias se realizaron en el programa Prism 3.0.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un atributo de la fruta muy apreciado por el consumidor, y que no siempre es considerado por el comercializador, es el tiempo en que la fruta se demora en ablandarse y desarrollar las características propias de una fruta lista para el consumo. Es por ello la importancia de medir este atributo de calidad, y en este caso del aguacate, e identificar el momento en el que presenta las características tanto sensoriales como nutricionales adecuadas.

Los aguacates recién cosechados, utilizados en este estudio fueron sometidos a maduración acelerada durante 4 días, con la metodología utilizada en la empresa CUPANDA y presentaron firmeza de 13.45 ± 2.22 N. (Márquez y col., 2014) reportaron que el aguacate de la misma variedad, presentó valores de firmeza de 10 N, entre el día 10-14 de maduración, y calificándolo como un fruto listo para consumo.

El ablandamiento es el principal aspecto del proceso de maduración en los frutos de aguacate, y como consecuencia de las modificaciones en la composición y estructura de la pared celular. Por otro lado, los cambios ocurridos son debidos probablemente a la hidrólisis de los compuestos pécticos presentes en la pared celular por la acción de enzimas pectinasas, poligalacturonasas, celulasas y amilasas, asociados a la pérdida de turgencia celular debida a la transpiración, dando como resultado final el ablandamiento de los frutos de aguacate (Bower & Cutting, 1988); (Silveira, 2007); (Goulao & Oliveira, 2008).

La humedad que presentaron los aguacates que se utilizaron para este estudio fue de $63.56\% \pm 0.51\%$ antes del proceso de liofilizado y al termino del liofilizado presentaron humedad de $1.47\% \pm 0.22\%$.

Los tratamientos efectuados se presentan en la siguiente tabla

Tabla 11. Tratamientos experimentales

Tratamiento	Variable de estudio del ensayo
1	Sin Altas Presiones + Fricción
2	Sin Altas Presiones + Compresión
3	Altas Presiones + Fricción
4	Altas Presiones + Compresión

1. MICROSCOPIA

El análisis microscópico de la estructura celular se realizó por medio de microscopia con un microscopio óptico provisto con una cámara modelo BA210 Series. A continuación, se presentan las imágenes del pericarpio del aguacate por los diferentes tratamientos. Se utilizó el aguacate sin tratamiento como control para poder entender los cambios comparados con los demás.

1.1. SIN TRATAMIENTO

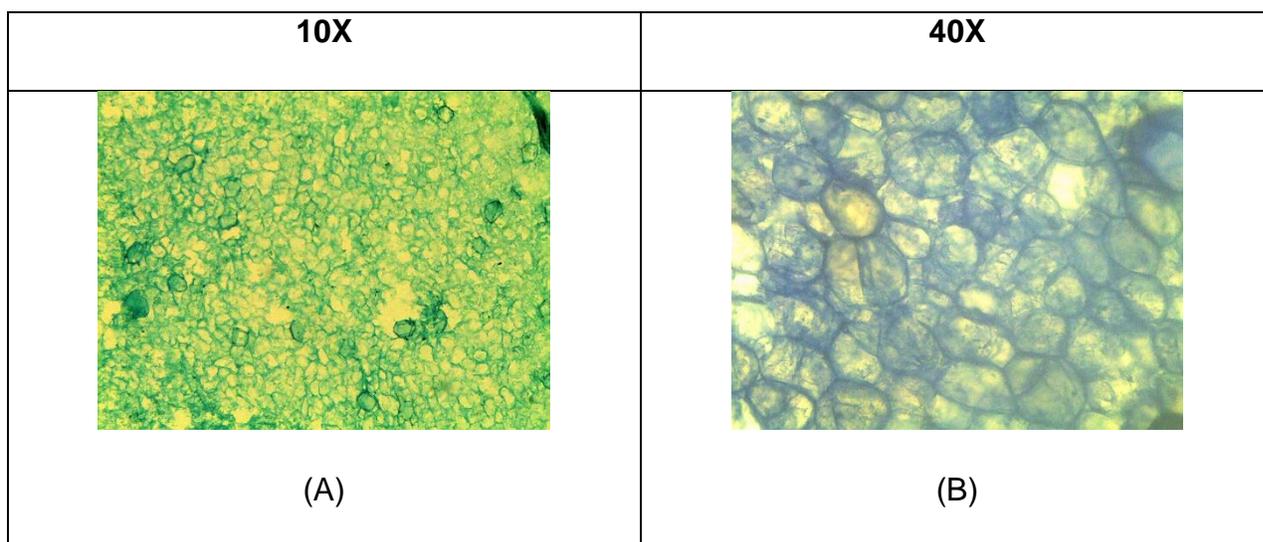


Imagen 1. Aguacate sin tratamiento.

Se puede observar en las imágenes **A** y **B** la estructura celular definida del aguacate fresco sin tratamiento. Se observa la pared celular en color verde y en amarillo los triglicéridos contenidos en las células del pericarpio del aguacate. La forma de la célula mostrada en las imágenes anteriores, es parecida a la reportada por (OPAZO, 2000), con la misma madurez utilizada en este estudio, es decir una madurez para consumo al tacto. Como se muestra en la siguiente figura, y en donde, es posible apreciar la progresiva lignificación que comienza por las aristas de las células, y en donde no es posible apreciar el contenido celular.

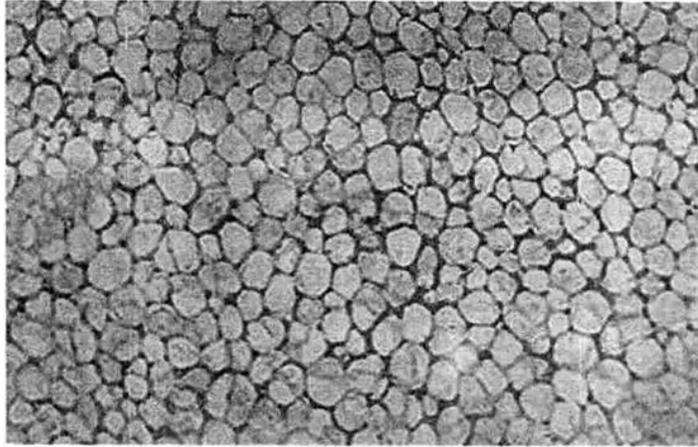


Imagen 2. Vista general de un corte longitudinal de células del mesocarpio.
Palta Hass, Índice de Madurez II, almacenadas a 3°C por 20 días.
Fotografía tomada en microscopio óptico de luz con aumento de 4x
(OPAZO, 2000).

1.2. TRATAMIENTO 1

Este es de sin altas presiones + fricción.

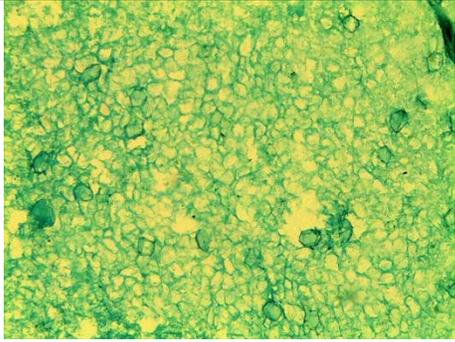
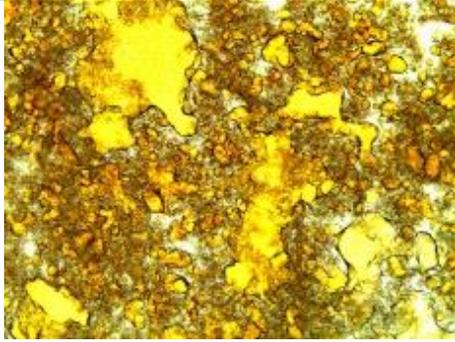
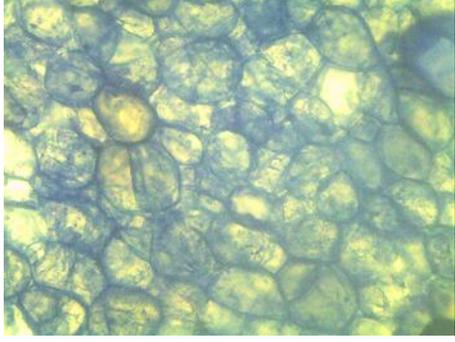
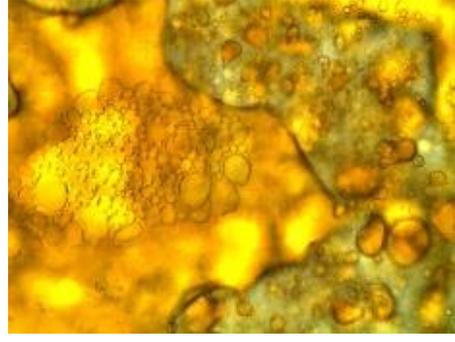
	SIN TRATAMIENTO	SIN ALTAS PRESIONES + REDUCCIÓN POR FRICCIÓN
10X	 (A)	 (T1)
40X	 (B)	 (T1)

Imagen 3. Aguacate sin altas presiones + reducción por fricción.

En la imagen 3, que corresponde al análisis visual de las micrografías **A** y **T1**, donde en esta última se aplicó un sistema de fractura por fricción, se observa una evidente ruptura celular. Se observa la agrupación de la grasa extraída durante el rompimiento de la célula, y debido probablemente a una ruptura masiva de las células, y debida a la fricción.

1.3. TRATAMIENTO 2

Este es de sin altas presiones + compresión.

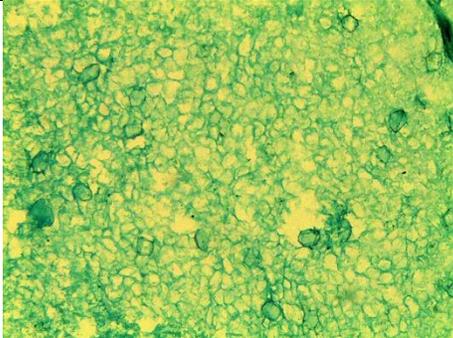
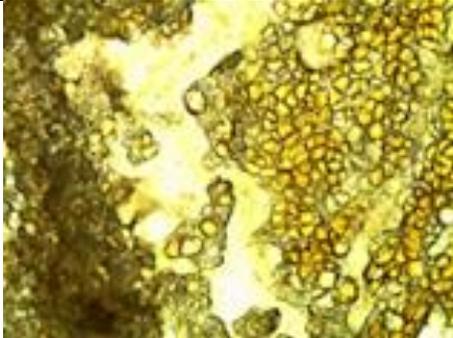
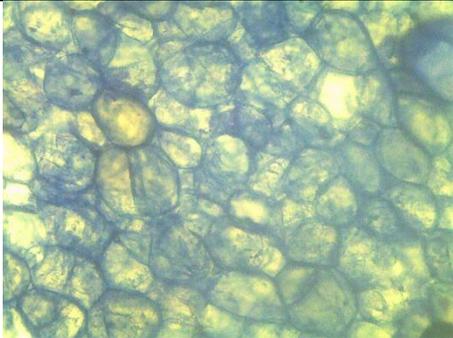
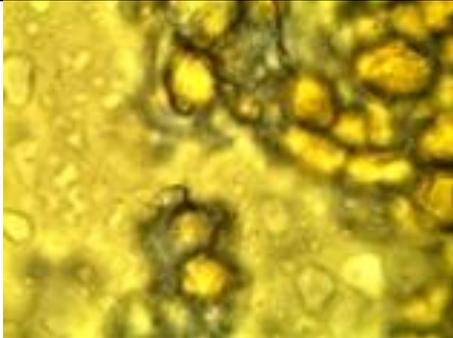
	SIN TRATAMIENTO	SIN ALTAS PRESIONES + REDUCCIÓN POR COMPRESIÓN
10X	 (A)	 (T2)
40X	 (B)	 (T2)

Imagen 4. Aguacate sin altas presiones + reducción por compresión

En la imagen 4 se muestra el impacto del tratamiento de compresión sin altas presiones, y en donde podemos observar en T2, que a diferencia de T1, existen regiones sin ruptura de pared celular.

1.4. TRATAMIENTO 3

Este es altas presiones + fricción. Y en donde la inactivación enzimática se realizó mediante un proceso con altas presiones, 550 MPa por 2 minutos a 20°C.

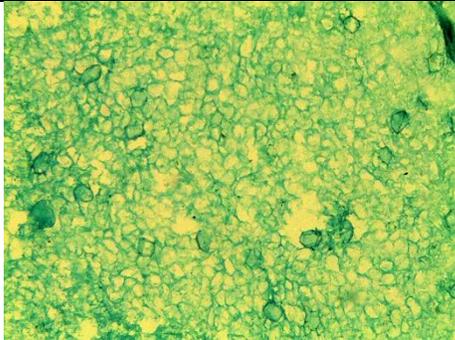
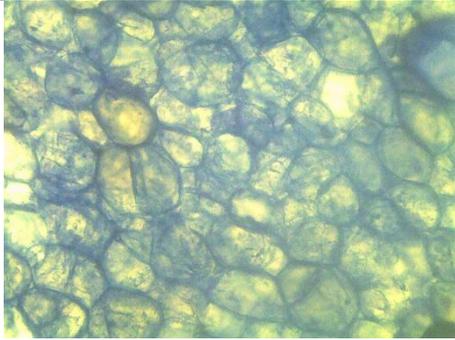
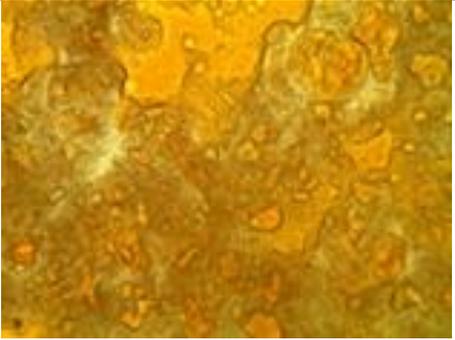
	SIN TRATAMIENTO	CON ALTAS PRESIONES + REDUCCIÓN POR FRICCIÓN
10X	 (A)	 (T3)
40X	 (B)	 (T3)

Imagen 5. Aguacate con altas presiones + reducción por fricción

En la imagen 5, que corresponde al tratamiento 3, y que comparada con el tratamiento 2, se observa que existe una ruptura celular total, similar a la ruptura celular total con el tratamiento 1 de fricción sin altas presiones.

1.5. TRATAMIENTO 4

Este es altas presiones + compresión, y que igual al tratamiento 3, se realizó un tratamiento por altas presiones para inhibir la actividad enzimática.

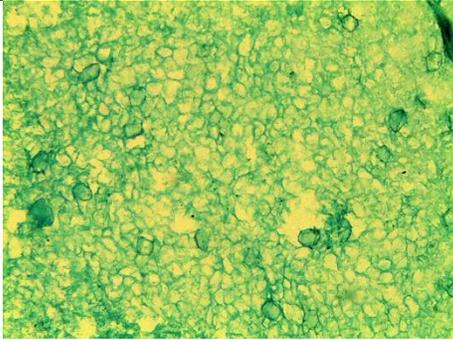
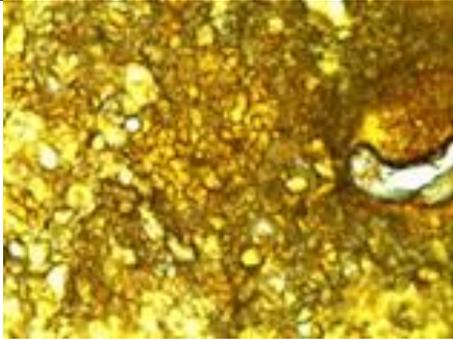
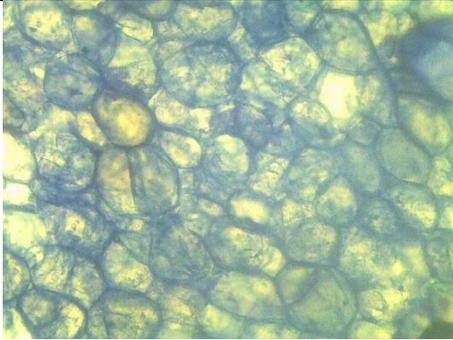
	SIN TRATAMIENTO	CON ALTAS PRESIONES + REDUCCIÓN POR COMPRESIÓN
10X	 (A)	 (T4)
40X	 (B)	 (T4)

Imagen 6. Aguacate con altas presiones + reducción por compresión

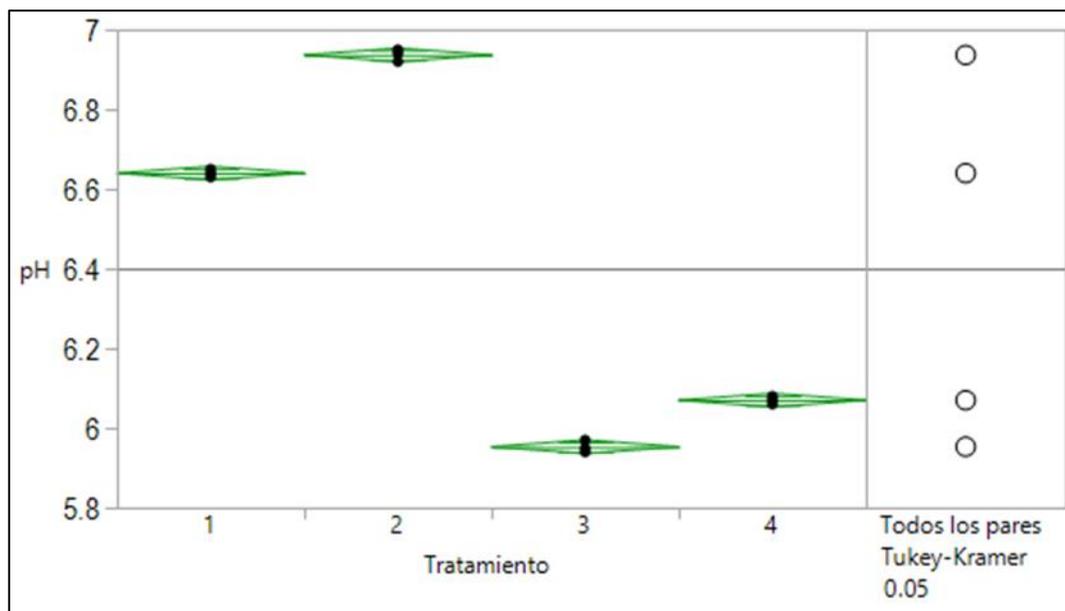
En el tratamiento 4, que se presenta en la imagen 6, se observa una ruptura total como en tratamiento 3 y 1, y se observa un agrupamiento de la grasa extraída.

2. OTRAS VARIABLES DE RESPUESTA

pH, % acidez, humectabilidad, y actividad de agua, también fueron determinados en los productos de los 4 tratamientos. Estos estudios se realizaron por triplicado y posteriormente se llevó a cabo un ANOVA de una sola vía, y el comparativo de medias entre tratamientos usando la prueba de TUKEY con el programa JMP12. Las gráficas de comparación de medias se realizaron con el programa Prism 3.0. Adicional a esto se calculó el coeficiente de variación de PEARSON de los valores promedio, con la finalidad de determinar la confiabilidad de los resultados por triplicado, de cada una de las variables de respuesta. A continuación, se presentan los resultados:

2.1. pH

Los análisis de pH realizados a cada tratamiento obtuvieron coeficientes de variación de Pearson de alrededor de 99.8%; y lo confirma que los análisis tuvieron una buena repetitividad. Por otro lado, los resultados del ANOVA nos muestran que si hay diferencia significativa entre los diferentes resultados y con una $p < 0.0001$, y como se muestran en la gráfica 1.



Gráfica 1. ANOVA. Análisis de pH

En la gráfica anterior podemos observar que existe diferencia entre los tratamientos de fricción sin altas presiones (1) y compresión sin altas presiones (2), y comparado con los tratamientos de fricción con altas presiones (3) y compresión con altas presiones (4), y resaltando que entre cada uno de los tratamientos también existe diferencia significativa, El pH que se utilizó para la comparación es de pH de 6.630 ± 0.008 (Márquez y col., 2014) , para aguacate con una madurez que presento una dureza de 10 N, aproximadamente.

La tabla de comparación de medias realizadas a partir de la prueba Tukey, tabla 12, indica que hay diferencia significativa entre las muestras. El tratamiento que menos afecto al pH fue la compresión (2) sin desactivación enzimática y seguido de la fricción (1) sin desactivación enzimática, y los que sí tienen un efecto importante son los tratamientos de compresión (3) con desactivación enzimática y fricción (4) con desactivación enzimática, que son a los que se les aplicó altas presiones, comparado con el pH de 6.630, reportado por (Márquez y col., 2014) en aguacate fresco. Esto implica que los tratamientos con altas presiones disminuyen el pH del alimento. Así mismo, se observa una mayor disminución en la muestra tratada por fricción que por compresión. Por otro lado, las muestras sin altas presiones, es decir, con actividad enzimática tienden a aumentar el pH, y sobre todo el tratamiento por compresión.

La disminución del pH se espera favorezca un ambiente que acelera la hidrólisis de los esterres de ácidos grasos en el aguacate, y lo cual induciría la oxidación de los ácidos grasos. El efecto de disminución del pH por el tratamiento de altas presiones es mencionado por (Téllez-Luis y Col., 2001), y (Beltrán y col., 2003), ellos indican que existe una liberación de iones metálicos con el tratamiento de altas presiones que catalizan las reacciones de oxidación lipídica.

Tabla 12. Análisis de pH

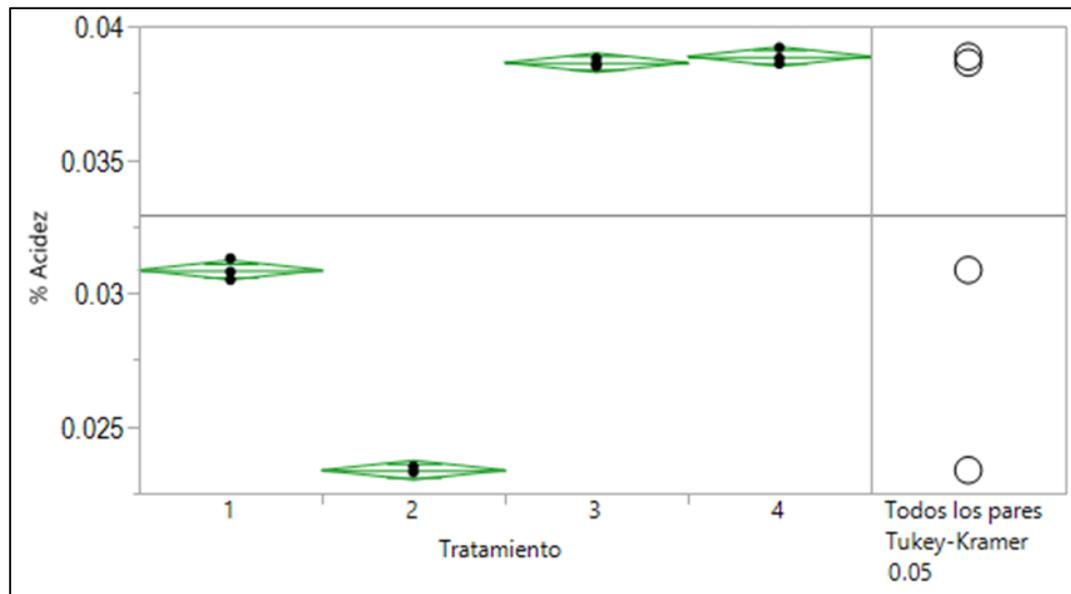
INFORME DE LETRAS DE UNIÓN				
Nivel				Media
(1) Sin Altas Presiones + Fricción	B			6.640
(2) Sin Altas Presiones + Compresión	A			6.937
(3) Altas Presiones + Fricción			D	5.953
(4) Altas Presiones + Compresión		C		6.070
Sin Proceso				6.630

El pH óptimo para las lipasas se encuentra generalmente en el intervalo entre 7.0 y 9.0, cuando la actividad enzimática se ensaya frente a sus sustratos específicos, como el aceite de oliva, la tributirina, otros triacilglicéridos pequeños y la trioleína (Rúa y col., 1993); (Prazeres y col., 1996). No obstante, para algunas lipasas, el pH óptimo se encuentra en la región ácida. A sí mismo, se han encontrado lipasas con mayor actividad a valores en pH más alcalinos. También puede suceder que se obtengan más de un valor de pH óptimo, manteniendo invariables las condiciones de temperatura y concentración de sustrato (Kyotani y col., 1983).

2.2. % ACIDEZ

(Márquez y col., 2014) Reportaron una acidez titulable de 0.170 ± 0.008 para aguacate con una madurez de 10 N aproximadamente. En este trabajo se obtuvieron valores de acidez titulable entre 0.2 y 0.3.

La acidez descrita en la siguiente gráfica muestra cambios significativos entre los lotes a los que no se les aplica altas presiones y los que fueron tratados con altas presiones, y presentando los tratados con altas presiones un aumento en la acidez titulable. Los datos mostraron coeficientes variación de Pearson de 99.26%, y una diferencia significativa en el análisis de ANOVA.



Gráfica 2. ANOVA. Análisis de acidez

Tabla 13. Análisis de acidez

INFORME DE LETRAS DE UNIÓN			
Nivel			Me dia
(1) Sin Altas Presiones + Fricción	B		0.3 087
(2) Sin Altas Presiones + Compresión	C		0.2 337
(3) Altas Presiones + Fricción	A		0.3 863
(4) Altas Presiones + Compresión	A		0.3 887
Sin proceso (Márquez y col., 2014)			0.1 700

A los tratamientos 3 y 4 se les aplicó el proceso de altas presiones y presentando mayor aumento en la acidez en comparación con los tratamientos 1 y 2 sin altas presiones; y que dichos tratamientos no presentaron diferencia significativa entre ellos, y como se muestra en la tabla 13. Cabe señalar que para el análisis de resultados tomamos un valor inicial de acidez de 0.170, reportado por (Márquez y col., 2014).

Se observa que todos los tratamientos aumentan la acidez del producto terminado. Las altas presiones con fricción aumentan la acidez en un 127% y las altas presiones con compresión aumentan hasta 129%. Por otro lado, los tratamientos sin altas presiones bajan la acidez. El tratamiento sin altas presiones y fricción aumenta 82%, mientras que la acidez por compresión y sin altas presiones solo aumenta un 37%.

Se puede concluir que, si hay diferencias a nivel fisicoquímico entre los tratamientos con y sin altas presiones, y en el entendido que lo que evaluamos es la actividad o no actividad enzimática, y en donde asumimos que los tratamientos con altas presiones inhiben la actividad enzimática en los aguacates. Los tratamientos con altas presiones bajan el pH y aumentan la acidez. Así mismo, la fricción baja el pH y aumenta la acidez en comparación con las muestras tratadas por compresión.

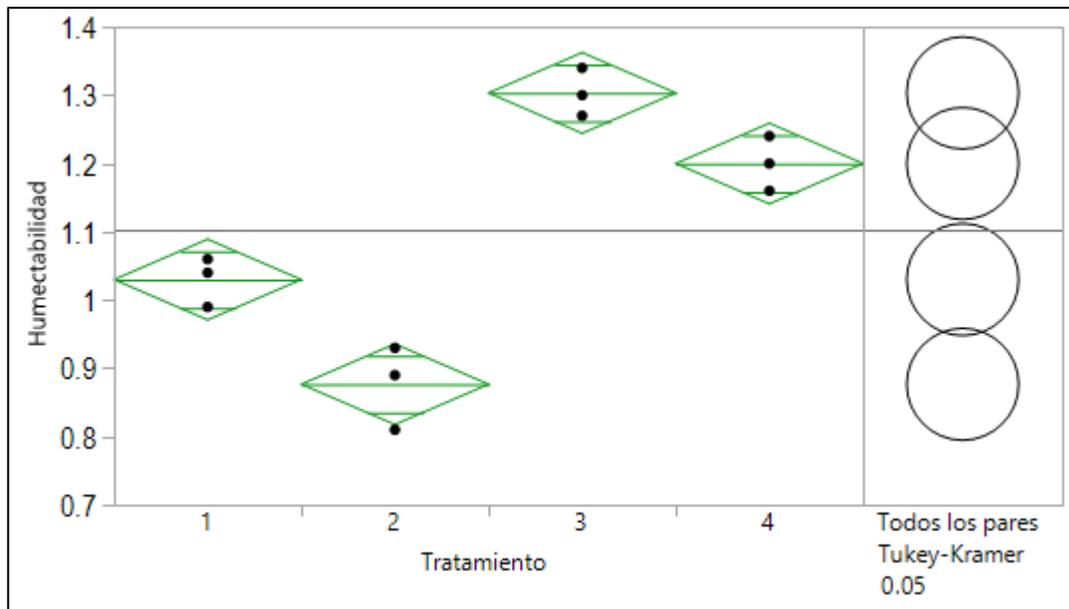
(Pereda, 2008) observó que existe una disminución en el tamaño del glóbulo de grasa en la lecha a medida que aumentaban la presión de trabajo en un tratamiento de altas presiones, al igual que (Picart y col., 2006). Estos últimos observaron que existe un cambio notable en la distribución del tamaño del glóbulo graso en leche tras aplicar el tratamiento de altas presiones entre 100 y 400 MPa. Esta disminución del tamaño del

glóbulo aumenta el área interracial de la emulsión, lo que permite iniciar la oxidación lipídica de las emulsiones, la cual se da en las interfaces (McClements & Decker, 2000).

En presencia de oxígeno los lípidos de la leche sufren una reacción de oxidación en la que los ácidos grasos insaturados reaccionan con el oxígeno molecular a través de mecanismos de radicales libres. Los productos primarios de la oxidación lipídica son los hidroperóxidos, quienes a elevadas temperaturas se pueden descomponer en otros productos secundarios principalmente aldehídos y cetonas (Van Boekel & Walstra, 1995).

2.3. HUMECTABILIDAD

(Ceballos, 2008), reportó una humectabilidad en guanábana liofilizada entre 0.36 segundos a 1.26 segundos, y en función a diferentes tratamientos en la velocidad de congelado, y que determinó en guanábana liofilizada. Para efectos comparativos se tomará el valor medio de la humectabilidad reportada por (Ceballos, 2008), que corresponde a 0.81, para la guanábana liofilizada. Los resultados presentados obtuvieron con coeficiente de variación Pearson de 95.88%, y una ANOVA que mostro diferencia significativa por efecto de los diferentes tratamientos, la cual se muestra en la gráfica 5. Se observa una diferencia entre los grupos sin tratamiento con altas presiones y con tratamiento con altas presiones, pudiendo observar un aumento en la humectabilidad en los grupos que se les aplicó altas presiones. Así mismo, las muestras por fricción presentan mayor humectabilidad que las muestras tratadas por compresión.



Gráfica 3. ANOVA. Análisis de humectabilidad

Tabla 14. Análisis de humectabilidad

INFORME DE LETRAS DE UNIÓN				
Nivel				Media
(1) Sin Altas Presiones + Fricción	B			1.03 s
(2) Sin Altas Presiones + Compresión	C			0.87 s
(3) Altas Presiones + Fricción	A			1.30 s
(4) Altas Presiones + Compresión	A			1.20 s
Sin Proceso				0.81 s

Considerando un valor inicial de la humectabilidad como la media del valor determinado en la guanábana liofilizada por (Ceballos, 2008), la cual es de 0.81seg, podemos observar que los tratamientos disminuyen esta propiedad. Así mismo, la muestra tratada con altas presiones y fricción muestra el mayor valor, y con un incremento de 79% con respecto al valor inicial de 0.81 s. Por otro lado, la muestra tratada sin altas presiones y compresión que presento el valor más bajo solo incrementa 26% su humectabilidad con respecto a la referencia inicial con valor de 0.81 s.

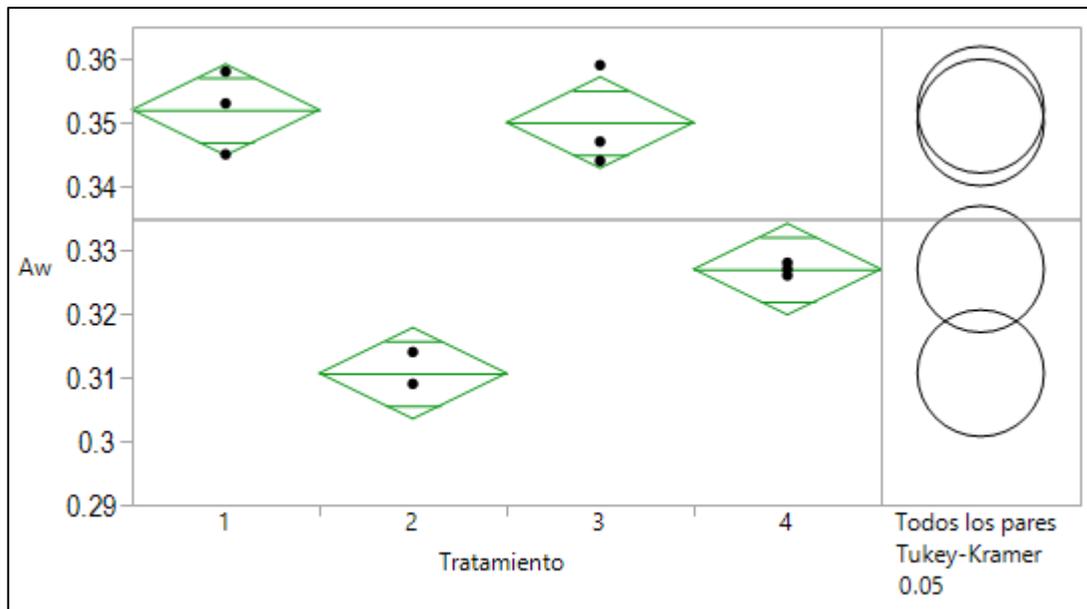
Este aumento de humectabilidad por el uso de fricción y altas presiones podría explicarse debido a lo siguiente: Los fosfátidos son componentes que son extraídos con alguna dificultad, ya que poseen solubilidad limitada en solventes polares (Karnofsky, 2001). Desde el punto de vista de la extracción, los aceites vegetales tienen un alto contenido de glicéridos son fuertemente solubles en hexano (Karnofsky, 2001). La solu-

bilidad en solventes polares se ve alterado dependiendo del tamaño de la cola del ácido graso debido a que es la parte apolar. En la parte de la cabeza donde se encuentra el grupo COOH es polar. Otro factor que influye sobre la solubilidad es el número de dobles enlaces presentes, es decir a medida que aumentan el número de enlaces dobles es más soluble la molécula (Velazquez & Ordorica, 2006).

Esta característica de poca solubilidad en solventes polares debe estar involucrada en el aumento de la humectabilidad, ya que esta es medida con agua y el aumento de la concentración de triglicéridos, generada por tratamientos aplicados, impide que se facilite dicha inundación de las partículas y se manifiesta en una aglomeración observada, que tarda en humectarse.

2.4. ACTIVIDAD DE AGUA

Los resultados presentados de actividad acuosa se reportaron con un coeficiente de Pearson de 98.6%, y una ANOVA que arrojó diferencia significativa. En la siguiente gráfica podemos observar que existe poca diferencia entre los tratamientos 1-3-4 y una diferencia casi nula entre el tratamiento 1-3.



Gráfica 4. ANOVA. Análisis de actividad de agua

En el caso de producto que contienen lípidos, caso del aguacate liofilizado, el rango máximo de la actividad de agua es 0.25-0.4, ya que a valores inferiores se pueden presentar problemas de oxidación de lípidos debido a la pérdida de la capa mono molecular que funciona como barrera al oxígeno (Badui, 2006). En la tabla 15 se muestran los valores de actividad de agua. Se puede observar que todas las muestras presentan valores mayores a 0.3, lo que implica que no habría problemas por oxidación de lípidos. Se puede observar que los tratamientos por fricción en ambos casos con desactivación y sin desactivación enzimática, presentan mayor actividad de agua que los tratamientos por compresión; y recordando que a mayor A_w , menor vida de anaquel, siempre y cuando la A_w no sea menor a 0.25 por la oxidación de lípidos. No se observa una diferencia entre las muestras tratadas por altas presiones y no tratada.

La oxidación de ácidos grasos se acelera entre 0.4 y 0.8 debido al incremento de la movilidad y la solubilización de los reactivos y metales, y por la exposición de nuevas áreas al aumentar el volumen por la hidratación. Por último, a >0.8 , la oxidación se inhibe por la dilución de los metales y, en ciertos casos, por su precipitación como hidróxidos. Las grasas oxidadas favorecen la reacción, por lo que no es conveniente mezclarlas con grasas frescas. (Badui, 2006)

Tabla 15. Análisis de actividad de agua

INFORME DE LETRAS DE UNIÓN			
Nivel			Media
(1) Sin Altas Presiones + Fricción	A		0.3520
(2) Sin Altas Presiones + Compresión		C	0.3106
(3) Altas Presiones + Fricción	A		0.3500
(4) Altas Presiones + Compresión		B	0.3270

En la tabla 15 se presenta el análisis de medias de la actividad acuosa en cada tratamiento. Estos valores muestran el tratamiento 1-3 ambos son tratamientos de fricción con y sin desactivación enzimática, respectivamente, no presentan diferencia significativa.

Las lipasas han suscitado un interés creciente para la industria debido a su versatilidad, estereoselectividad, estabilidad frente a solventes orgánicos, y capacidad de sintetizar compuestos orgánicos en mezclas de reacción con baja actividad de agua (Segura y col., 2004); (Dandavate y col., 2009). Las lipasas son enzimas que requieren de activación interfacial para desplegar al máximo su actividad catalítica (Malaca, 1996); (Ransac y col., 1996). Este fenómeno consiste en el incremento de la actividad enzimática en presencia de interfaces lípido-agua (Chahinian y col., 2002). Se entiende por interfase a la superficie imaginaria que separa dos porciones del espacio homogéneas y distintas físicamente.

Las características físico-químicas del sustrato también contribuyen de manera significativa a la activación interfacial (Egmond, 1996). En el estado de agregación, los triacilglicéridos exhiben un grado de ordenamiento elevado, que minimiza el número de estados conformacionales que puede presentar estas moléculas en solución acuosa, debido a la gran flexibilidad de sus cadenas de ácidos grasos. Este efecto tiene implicaciones favorables en el reconocimiento enzima sustrato (Petersen, 1996)

2.5. COMPUESTOS VOLÁTILES

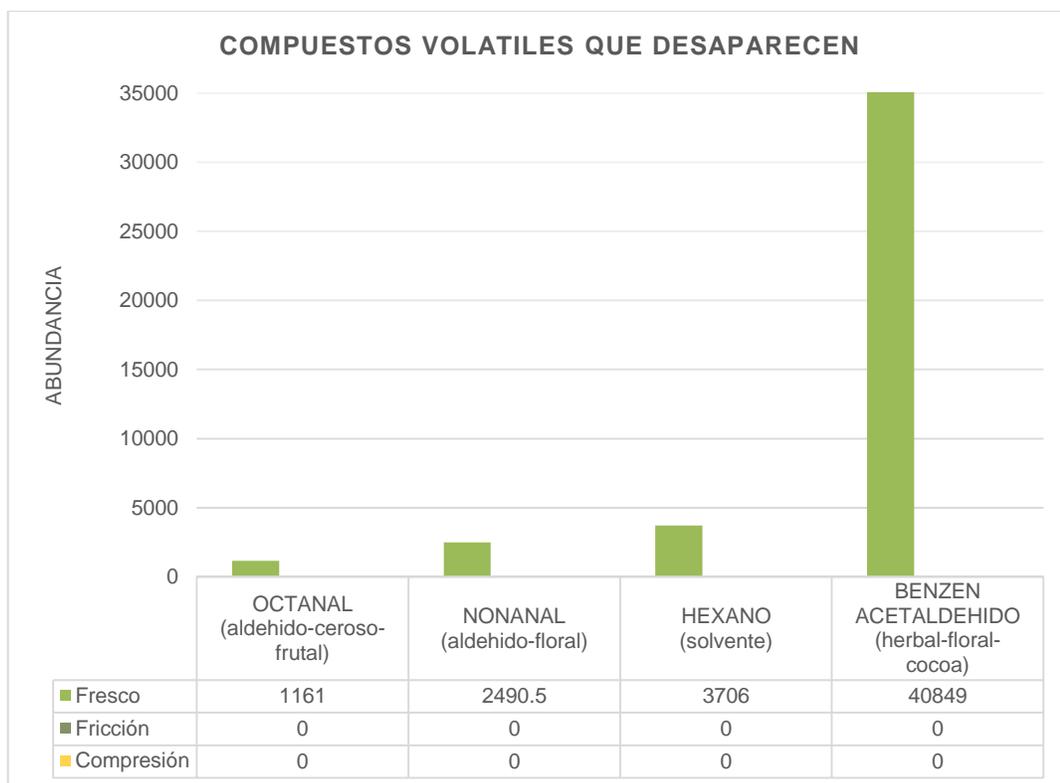
En la tabla 16 se muestran los compuestos volátiles presentes en los tratamientos propuestos en este trabajo.

Tabla 16. Compuestos volátiles de tratamientos.

#CAS	Nombre del Compuesto	Nota aromática	ABUNDANCIA		
			Fresco	Fricción/ Liofilización	Compresión/ Liofilización
122-78-1	BENZEN ACETALDEHIDO	Herbal-floral-cocoa	40849	0	0
110-54-3	HEXANO	Solvente	3706	0	0
124-19-6	NONANAL	Aldehído-floral	2490.5	0	0
124-13-0	OCTANAL	Aldehído-ceroso-frutal	1161	0	0
3777-71-7	2-HEPTILFURANO	Aceitoso-herbal	404.5	53	57.5
14309-57-0	3-NONEN-2-ONA	Frutado-brandy	1112	113	223.5
	GURJUNENO	Maderado	2793.5	1405	1317.5
20085-93-2	SEICHELENO	Herbal, maderado	2793.5	1405	1317.5
18675-34-8	NEODIHIIDROCARVEOL	Medicinal-fenólico-clavo	188.5	1411	607
62108-26-3	DECANO, 2,6,8-TRIMETIL-	No reportado	118	53350.5	39529
17699-14-8	α -CUBEENO	Maderado-ceroso	4921.5	83555.5	93181
66-25-1	HEXANAL	Herbal	58634.5	1035077.5	663809
111-27-3	1-HEXANOL	Herbal	0	9207	7361.5
124-11	1-NONENO	No reportado	0	9207	7361.5
3391-86-4	1-OCTEN-3-OL	Tierra, champiñón	0	4324.5	5248.5
	2-FURANONA	Mantequilla-caramelo	0	22647	26944.5
2363-88-4	2,4-DECADIENAL	Cítrico-graso	0	110	57.5
13466-78-9	3-CARENO	Cítrico-graso	0	64349	45053.5
20307-83-9	BETA-SESQUIFELANDRENE	Herbal-maderado	0	4700	1682
3891-98-3	DODECANO,2,6,10-TRIMETIL	No reportado	0	455.5	510

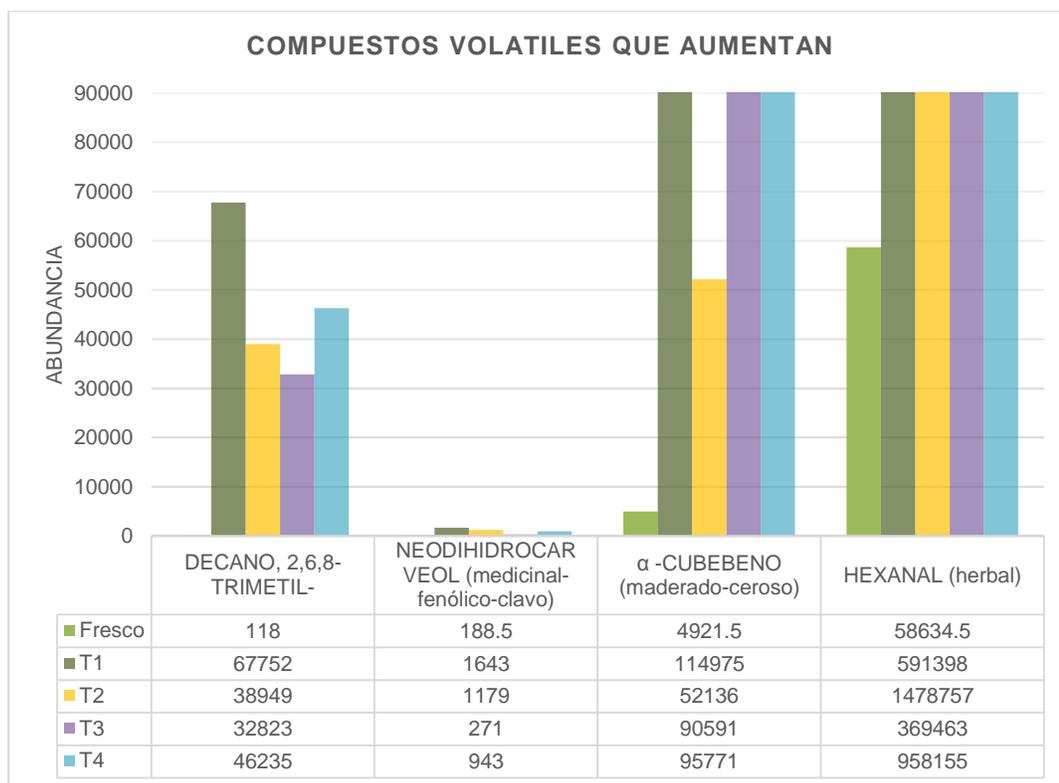
3777-69-3	FURAN, 2-PENTIL-	Frutado	0	53.5	59
589-43-5	HEXANO, 2,4-DIMETIL-	no reportado	0	19657	21403
563-16-6	HEXANO, 3,3-DIMETIL-	no reportado	0	115767.5	44998.5
62016-28-8	OCTANO, 2,2,6-TRIMETIL-	no reportado	0	0	19553
52670-34-5	OCTANO, 2,3,6,7-TETRAMETIL-	no reportado	0	21514	19553
62016-19-7	OCTANO, 6-ETIL-2-METIL-	no reportado	0	379	71337.5
110-62-3	PENTANAL	Fermentado, frutado	0	74726	38947
14912-44-8	YLANGENO	Frutado-perfumado	0	32431.5	34158
6753-98-6	α -CARIOFILENO	Maderado	0	45765.5	50874
80-56-8	α -PINENO	Pino-herbal	0	13602.5	15447
96-22-0	3-PENTANONA	Acetona	0	101233.5	66224
79-20-9	METIL ACETATO	Eter-frutal	0	158691	113258
3856-25-5	COPAENO	Especiado-maderado	0	112577	192829
1071-26-7	HEPTANO, 2,2-DIMETIL-	No reportado	0	164961	152922.5
	TRANS- α -BERGAMOTENO	Maderado	0	164175	125744
17699-05-7	α -BERGAMOTENO	Cítrico-maderado-perfumado	0	65844	133190
87-44-5	CARIOFILENO	Maderado-especiado	0	279511.5	281390.5

De acuerdo a la tabla 16 se puede observar que hay aparición y desaparición de compuestos dependiendo del tratamiento, para reafirmar esta observación se muestra en las gráficas 5,6,7, donde se muestra la abundancia de acuerdo al tratamiento y en orden de si se desaparecen, disminuyen, aumentan o aparecen en comparación con el aguacate entero fresco.



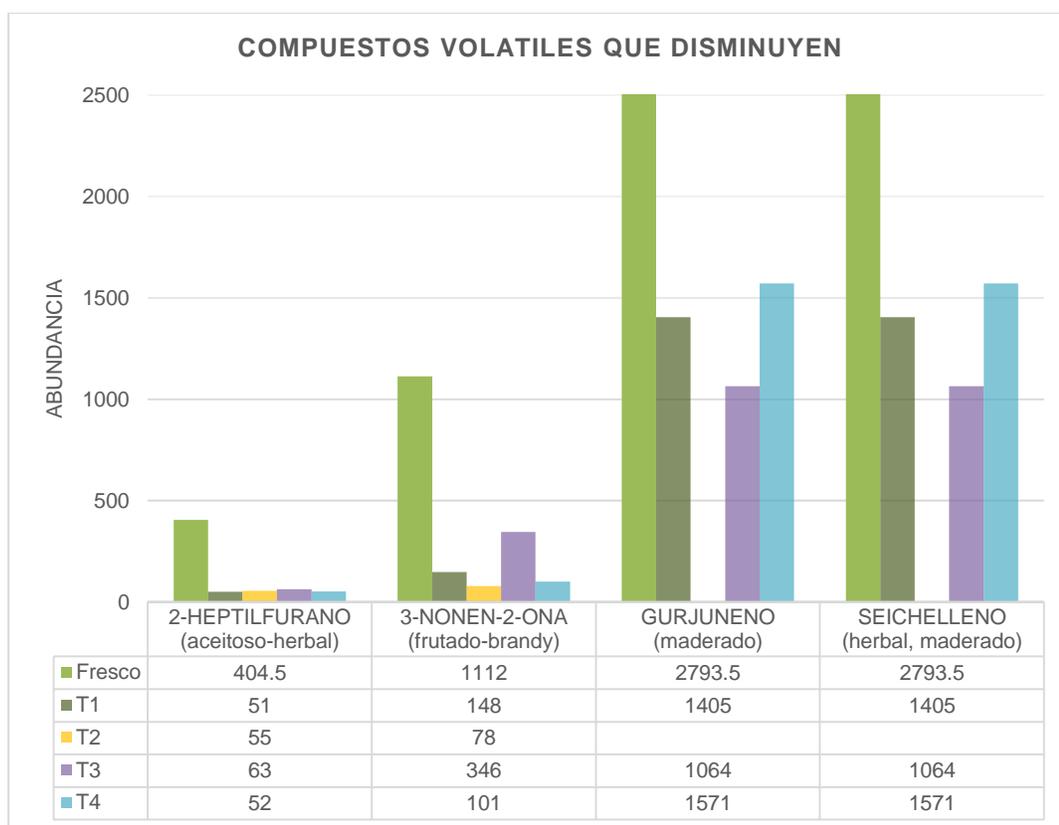
Gráfica 5. Desaparición de compuestos volátiles del aguacate fresco con respecto a la fricción y compresión.

Los compuestos que desaparecen de acuerdo a la gráfica 5 son responsables de notas florales, frutales, cerosas. Se tienen reportes que el hexanal, octanal y nonanal son productos de oxidación de lípidos (Shahidi & Pegg, 1994)



Gráfica 6. Aumento compuestos volátiles del aguacate fresco con respecto a la fricción y compresión.

De los compuestos responsables del sabor fresco es el hexanal reportado por (López y col., 2004), y el cual podemos identificar en la gráfica 6, y presenta un aumento en ambos tratamientos tanto en la fricción como en la compresión comparado con el aguacate fresco 94% y 91% respectivamente.

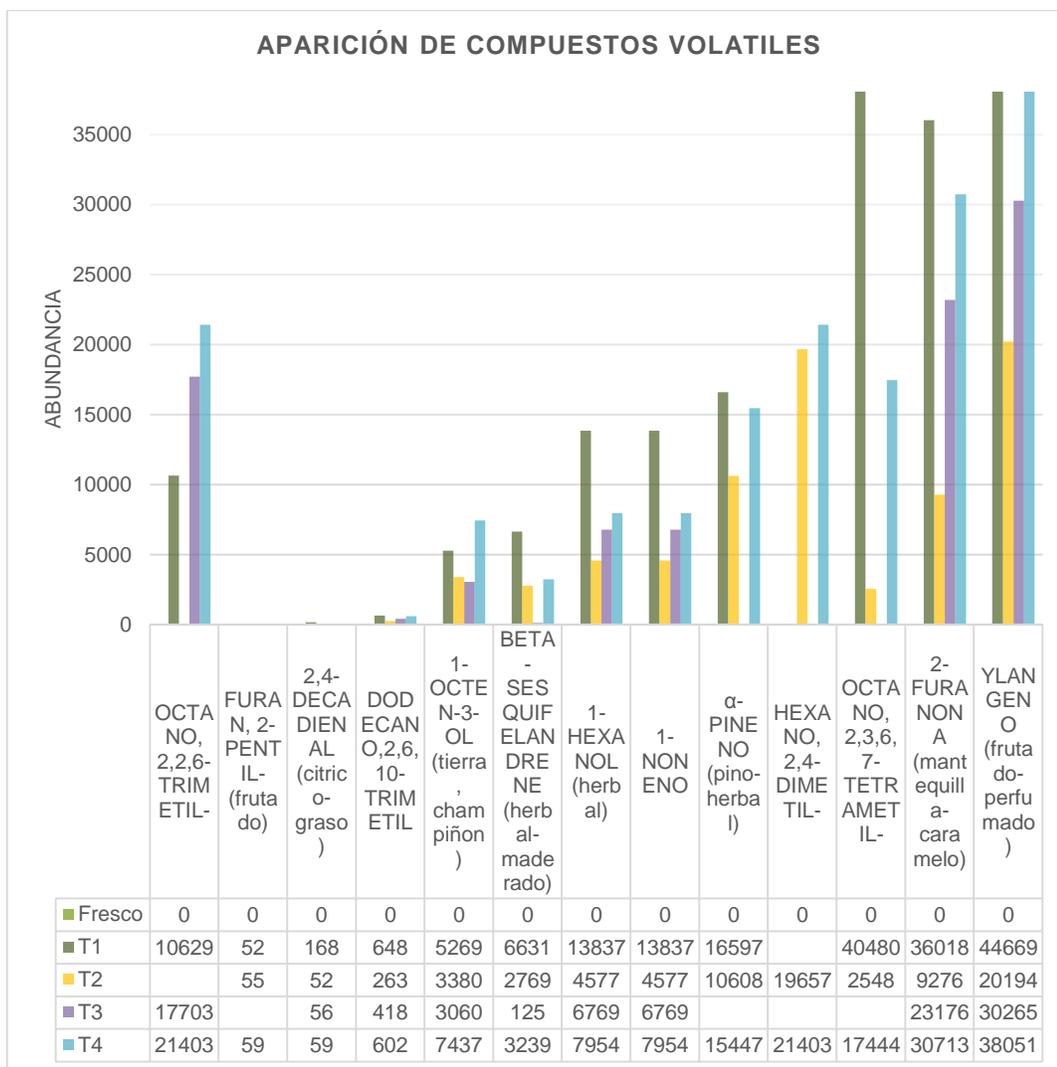


Gráfica 7. Disminución de compuestos volátiles del aguacate fresco con respecto a la fricción y compresión.

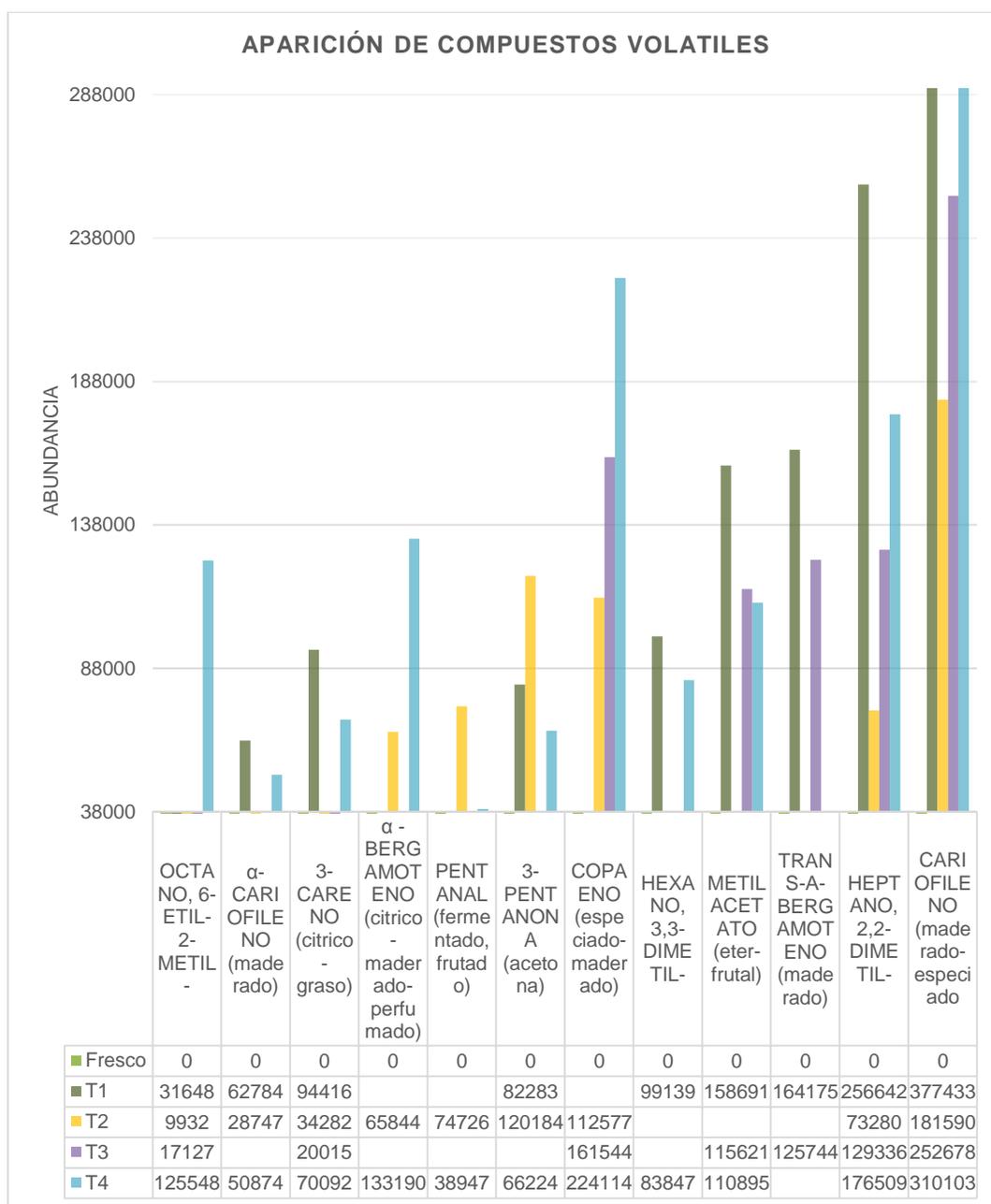
En la gráfica 7, se observa los compuestos volátiles que disminuyen con respecto al aguacate fresco, el 2-HEPTILFURANO presenta una disminución del 86% +/- 1% en ambos casos de fricción y compresión, por otro lado el 3-NONEN-2-ONA disminuyó un 85% +/- 7% en ambos tratamientos, en el caso del GURJUNENO y SEICHELENO disminuyeron 51% +/-2% respectivamente.

Existen reportes que describen la determinación de compuestos volátiles en aguacate fresco, donde registraron la presencia de etano, 3-METIL BUTANOL, PENTANOL, HIDROXIBUNANONA, 1-HEXANOL, Y ÁCIDO ACÉTICO (Degenhardt & Hofmann, 2010). En nuestro estudio también se encontró el 1-HEXANOL, responsable de notas herbal-floral-cocoa.

Por su parte, el número de compuestos generados es mayor que los compuestos que desaparecen.



Gráfica 8. Aparición de compuestos volátiles menores a 38000 unidades de abundancia en los tratamientos de fricción y compresión.



Gráfica 9. Aparición de compuestos volátiles mayores a 38000 unidades de abundancia en los tratamientos de fricción y compresión.

De acuerdo a reportado por (López y col., 2004), entre los compuestos responsables de sabores amargos en el pericarpio del aguacate se encuentran el cariofileno y copano los cuáles se, identificaron en el producto que recibió tanto tratamiento por fricción como por compresión.

. CONCLUSIONES

Acorde a los resultados obtenidos en este trabajo podemos concluir que se cumplió nuestra hipótesis el tipo de reducción de tamaño, tiene un efecto significativo sobre la estabilidad y las características fisicoquímicas y compuestos volátiles del aguacate liofilizado. Con la fricción se tienen efectos semejantes a los obtenidos con las altas presiones, ya que se mostró como aumento la acidez en los tratamientos de altas presiones y de fricción, lo cual genera el principal sustrato tanto para las lipasas como para la reacción de oxidación de lípidos para que posteriormente se desencadena la reacción de autoxidación como pudimos detectar en los compuestos volátiles generados y aumentados con los diferentes tratamientos. Esta oxidación iniciada durante el almacén generara compuestos responsables de sabores indeseables, ya que si aumentan los compuestos volátiles generados por todos los tratamientos.

De este estudio, sugerimos que la mejor opción de tratamiento es sin altas presiones, es decir, sin altas presiones y utilizando el sistema de compresión para la reducción de tamaño.

Debido a la falta de tiempo para este estudio la empresa realizara los estudios de vida de anaquel, actividad enzimática en el aguacate en polvo liofilizado

VII. PERSPECTIVAS

- a) Es necesario conocer el tipo de ácidos grasos que se liberan, al aplicar altas presiones y fricción al pericarpio del aguacate.
- b) Como podemos evitar que exista ruptura de la pared celular, porque se sugiere trabajar en la cantidad y tipo de fuerza necesaria para evitar al máximo la ruptura.
- c) Tiempo que debe exponerse al medio ambiente una vez que se redujo el tamaño el pericarpio, para evitar que la grasa contenida en la misma migre al exterior de la misma.
- d) Que tratamientos se puede aplicar a la pared para fortalecerla y evitar que exista ruptura.
- e) Estudiar los metales contenidos en el aguacate en polvo liofilizado que son promotores de reacciones de oxidación.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Obtenido de ASERCA: (2012).<http://www.aserca.gob.mx/Paginas/default.aspx>
- AOAC 940.28-1940 Fatty acids (free) in crude and refined oils. . (s.f.). Obtenido de http://www.aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&products_id=1999
- Ashton y col., O. W.-J. (2006). Pigments in avocado tissue and oil. *J Agric Food Chem.*, 54(26):10151-8.
- Badui, D. S. (2006). *Química de los alimentos*. Cuarta edición. México.: Pearson.
- Barbosa-Cánovas y col., G. O. (2005). *Food Powders Physical properties, processing, and functionality.* New York: Kluwer academic/Plenum publishers.
- Barrientos y Col., P. A. (1996). *Anatomía del fruto de aguacate, ¿drupa o baya?* Chapingo, edo. de México: universidad autónoma chapingo.
- Beltrán y col., E. P.-M. (2003). Lipid- oxidation of pressurized and cooked chicken: Role of sodium chloride mechanical processing on TBARS and hexanal valvules. *Meat Sci.*, 64, 19-25.
- Bernal, J. A., & Diaz, C. A. (2008). *Tecnología para el Cultivo del.* Corporación Colombiana de investigación agropecuaria, CORPOICA, Centro de Investigación la Selva, Rio Negro, Colombia pp.241.
- Björkling y col, F. G. (1991). The future impact of industrial lipases. *Trends Biotechnol.*, 9, 360-363.
- Blumenfeld, A., & Gazit, S. (1970). Cytokinin Activity in Avocado Seeds during Fruit Development. *Plant Physiol*, 46(2), pp.331–333.
- Bower, J. J., & Cutting. (1988). *Avocado Fruit Development and Ripening Physiology.* Horticultural reviews, 10, pp. 229-271.
- Brennan y col., J. J. (1998). *Las Operaciones de la Ingeniería de Alimentos.* Zaragoza: Acribia.
- Brown, B. I. (1972). Isolation of unpleasant flavor compounds in the avocado (*Persea americana*). *J. Agric. Food Chem*, 20 (4), pp 753–757.
- Cabezas y Col., C. J. (2003). Identificación y descripción de los estados fenológicos tipo del aguacate (*Persea Americana Mill*). *Proceedings V World Avocado Congress*, Málaga, España, pp 237-242.
- Can-alonzo y col., C. J.-E.-A.-V.-N.-P. (2005). Pollination of ´Criollo avocados (*Persea americana*) and the behavior of associated bees in subtropical México. *Journal of apicultural Research*, 44(1), pp.3-8.

- Ceballos, A. M. (2008). Estudio comparativo de tres sistemas de secado para la producción de un polvo deshidratado de pulpa. Manizales: Universidad Nacional de Colombia.
- Chace, E. M. (1921-22). Some notes on the enzymes of avocado. California avocado society, 8, pp 562-53.
- Chahinian y col., H. N. (2002). Distinction between esterases and lipases: A kinetic study with vinyl esters and TAG. *Lipids*, 37(7), pp.653-62.
- Chanona- Pérez y Col., J.-V. I.-A. (2009). Estudio de los cambios microestructurales de la cáscara de aguacate Hass en el proceso de Maduración. En E. N. Departamento de graduados e investigación en Alimentos. México, D.F.: Instituto Politécnico Nacional (IPN).
- Cisneros, R. M., & Rito, P. M. (2005). Estrategias de bioingeniería para la recuperación primaria de productos. *Revista mexicana de ingeniería química*, 4, pp. 131-139.
- Cossio-Vargas y Col., L. S.-G.-D.-T. (2007). Algunos aspectos reproductivos del aguacate "Hass" en clima semicálido. Viña del Mar, Chile: Proceedings VI World Avocado Congress.
- Cowan y col., A. C.-C. (1997). Metabolic control of avocado fruit growth. *Plant Physiol*, 11(4), pp.511-518.
- Cowan y Col., A. K. (2001). Fruit size: Towards an understanding of the metabolic control of fruit growth using avocado as a model system. *Physiologia Plantarum*, Volumen 111, issue 2, pp 127-136.
- Cowan y col., A. N. (2005). Hormone homeostasis and induction of the small-fruit phenotype in "Hass" Avocado. *Plant Growth Regulation*, 45, pp 11-19.
- Cowan y col., C. E. (2001). Fruit size: Towards an undersatnding of the metabolic control of fruit growth using avocado as a model system. *Plant physiol*, 111, pp. 127-136.
- Cowan, A. (1997). Why are small Hass Fruit small. *Avocado Growers Association Yearbook*. South Africa, 20, 52-54.
- Cummings, K., & Schroeder, C. A. (1942). Anatomy of the avocado . *California avocado society*, yearbook 26: 56-64.
- Dandavate y col., V. J. (2009). Production, partial purification and characterization of organic solvent tolerant lipase from *Burkholderia multivorans* V2 and its application for ester synthesis. *Bioresource Technology*, Volume 100, Issue 13, pp. 3374–3381.
- Davenport, T. (1986). Avocado Flowering. *Horticultural Reviews*, 8, pp 257-289.
- Degenhardt, A. G., & Hofmann, T. (2010). Bitter-tasting and kokumi-enhancing molecules in thermally processed avocado (*persea americana* mill.). *J. Agric. Food Chem*, 58, 12906–12915.

- Egmond, M. R. (1996). Action of lipases. En: Malaca F.X. Engineering of/ with lipases. Netherlands: Kluwer Academic Publisers, pp 183-91.
- Espín y col., J. C.-C. (1997). Monophenolase Activity of Polyphenol Oxidase from Haas Avocado. *J. Agric. Food Chem.*, 45 (4), pp 1091–1096.
- FAOSTAT. (Diciembre de 2012). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Obtenido de <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>
- Freuding y col., B. S. (1999). Dispersion of powders in liquids in a stirred vessel. *Chemical Engineering and Processing*, 38:5255-532.
- Fuchs y col., M. T.-M. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Jornal of Food Engineering*, 75, 27-35.
- García-Fajardo¹, J. A., & Ramos-Godínez, M. d. (1999). Estructura de la semilla de aguacate y cuantificación . *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 123-128.
- Goulao, L., & Oliveira, C. (2008). Cell Wall Modifications during fruit ripening physiology. *Hort. Rev.*, 10, pp 223-271.
- Gross, J. (1991). Chlorophylls and Carotenoids. En *Pigments and vegetables* (págs. pp 3-7).
- Gutiérrez- Contreras y col., M. L.-C. (2010). Agroecología de la franja aguacatera de Michoacán , México. *Asociacion Interciencia Venezuela.*, 35 (9): 647-553.
- Houde y col., A. K. (2004). Lipases and their industrial applications: an overview. *Appl. Biochem Biotechnol.*, 118,155-170.
- Hurtado-Fernández, E. C.-P.-G. (2011). Profiling LC-DAD-ESI-TOF MS method for the determination of phenolic metabolites from avocado (*Persea americana*). *J Agric Food Chem.*, 59(6) pp 2255-67.
- Jaya y Das, S. &. (2003). A vacuum drying model for mango pulp. *Drying Technology.*, 21 (7), 1215- 1234.
- Jiménez, M. A. (2001). Propiedades Físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por microondas. *Sociedad Química de México.*, 89-92.
- Kader, A. A., & Arpia, M. L. (Diciembre de 2012). Aguacate (Palta) recomendaciones para mantener la calidad postcosecha. Obtenido de University of California: http://postharvest.ucdavis.edu/frutasymelones/Aguacate_Palta/
- Kalala y Col., M. A. (2005). Contribution of the seed to fruit developmet: A tool to understand avocado tree management and fruit maturity parameters. *Yearbook of South African Avocado Growers Association*, 28,33-39.
- Karnofsky, R. (2001). Diseño de extractores para semillas oleaginosas. *Aceites y Grasas*, 42, pp. 109.
- Kennan y col, D. B. (2011). Effects of thermal and high hydrostatic pressaure processing and storage on the content of polyphenols and some quality attributes of fruit smoothies. *J. Agric. Food Chem.*, 59-601-607.

- Kim y col., E. X. (2002). Surface characterization of four industrial spray-dried dairy powders in relation to chemical composition, structure and wetting property. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.*, 26 (3), 197-212.
- Knight, R. (2002). History, distribution and uses. Wiley, Schaffer y Wolstenholme., 13-24.
- Kyotani y col., K. T. (1983). Lipase activity of guinea pig peritoneal macrophages and mycobacterial lipase inhibitor. *Hiroshima J Med Sci.*, 32(3), pp.267-71.
- Lewis, M. (1978). Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado. Primera Edición en español. Zaragoza : Acriba S.A.
- López y col., M. G. (2004). Solid phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry of volatile compounds from avocado puree after microwave processing. *Journal Of Chromatography A*, 1036, 87-90.
- Malaca, F. (1996). Engineering of/ with lipases:scope and strategies. En Malaca, F.X. *Engineering of//with lipases*. Netherlands:Kluwer Academic Publishers, pp. 1-16.
- Márquez y col., C. I. (2014). Cambios Físico-químicos del aguacate (persea americana mill. C.v "hass") para dos municipios de Atoquia Change physical-chemical of avocado (persea americana mill. CV " Hass") in postharvest for two municipalities of antioquia. *Temas Agrarios*, 19(1), pp. 32-47.
- McClements, D., & Decker, E. (2000). Lipid oxidation in Oil-in- water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Journal of food science*, 65,1270-1282.
- Moore-Gordon y Col., C. A. (1998). Symplastic solute transport and avocado fruit development: A decline in cytokinin/ABA ratio is related to appearance of the Hass small fruit variant. *Plant and Cell Physiology.*, 39(10), 1027-1038.
- NMX-F-083-1986 alimentos - determinación de humedad en productos alimenticios. (14 de 07 de 1986). Obtenido de <http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/detallenorma.nmx?clave=NMX-F-083-1986>
- NMX-F-317-NORMEX-2013 Alimentos-determinación de ph en alimentos y bebidas no alcohólicas-método potenciométrico-método de prueba (cancela a la nmx-f-317-s-1978). (27 de 08 de 2013). Obtenido de <http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/detallenorma.nmx?clave=NMX-F-317-NORMEX-2013>
- Ochoa, A. S. (2009). Calidad y manejo poscosecha del fruto de aguacate. Medellín , Colombia.
- OPAZO, S. (2000). Caracterización histológica y bioquímica de desórdenes fisiológicos en paltas (persea americana mill.) cv. hass en almacenaje refrigerado, en dos estados de madurez. universidad católica de valparaíso facultad de agronomía, 1-68.
- Ortega, T. M. (2003). Valor Nutricional del pericarpio fresco de Aguacate Hass. *Proceedings V World Avocado Congress*, (págs. 741-748).

- Pereda. (2008). Utilización de ultra alta por homogenización como alternativa al tratamiento de paturización para la obtención de leche de consumo. Barcelona: Universitat Autònoma de Barcelona.
- Petersen, S. (1996). Lipases and estereases: some evolutionary and protein engineering aspects. En Malaca, F.X. Engineering of/ with lipases. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, pp. 125-42.
- Picart y col., L. T. (2006). Effects of high pressure homogenization of raw bovine milk on alkaline phosphatase and microbial inactivation. A comparison with continuous short-time thermal treatment. Journal of Dairy Research, 73,454-463.
- Prazeres y col., D. L. (1996). Reversed micellar membrane bioreactor. En Malaca, F.X. Engineering of/with lipases. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, pp 483-513.
- Ransac y col., S. C. (1996). The kinetics, specificities and structural features of lipases. En Malaca, F.X. Engineering of/with lipases. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, p 143-82.
- Rastogi, N. (2010). Effect of high pressure on textural and microstructural properties of fruits and vegetables. Taylor & Francis Group LLC.: 301-303.
- Restrepo y col., D. A.-L. (2012). Comparación del aceite de aguacate variedad Hass cultivado en Colombia, obtenido por fluidos supercríticos y métodos convencionales: Una perspectiva desde la calidad. Lasallista de investigación, 151-161.
- Rocha-Arroyo y col., J. ,.-G.-O.-D. (2011). Fenología del aguacate Hass en Michoacán. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas., 2 (3)- 303-316.
- Román y Col., M. E. (2002). Manejo poscosecha del Aguacate. Medellín , Colombia.: Universidad de Antioquia.
- Rosales y Col., J. G. (2003). Evaluación del ciclo fenológico del palto (Persea americana Mill) cv. Hass para la irrigación Santa Rosa, Perú. Málaga, España.
- Rúa y col., M. D.-M. (1993). Purification and characterization of two distinct lipases from Candida cylindracea. Biochimica et Biophysica, Volume 1156, Issue 2,pp 181-189.
- RUIZ, G. J. (2013). Determinación de parámetros de calidad y pruebas de aceptabilidad en aguacate cv. Hass y cv. Méndez. Morelia: universidad michoacana de san nicolás de hidalgo.
- Salvador Valle-Guadarrama1, T. E.-S.-V. (2005). Oxygen diffusivity in avocado fruit tissue. Biosystems Engineering, 92, pp 197-206.
- Schubert, H. (1987). Food particle technology. Part I: properties of particles and particulate food systems. Journal of food Engineering., 6, 1-32.
- Schubert, H. (1993). Instantization of powdered food products. Int, Chemical Engineering , 33, 28-45.

- Scora y Col., R. B. (2002). The avocado, botany, production and uses. Londres: CABI Publishing.
- Segura y col., R. P.-L. (2004). Different properties of the lipases contained in porcine pancreatic lipase extracts as enantioselective biocatalysts. *Biotechnol Prog*, 20(3), pp.825-9.
- Shittu y Lawal, T. &. (2007). Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food chemistry*, 100(1), pp.91-98.
- SIAP. (2015). Cierre de la producción agrícola por estado, Aguacate. Obtenido de Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera, México.: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Silveira, A. (2007). Fisiología y bioquímica de los productos MPF. Cartagena España: Universidad de Cartagena. Ed. Universidad Politécnica de Cartagena p. 1655: V Congreso Iberoamericano de Tecnología Postcosecha y Agroexportaciones.
- Taylor y Cowan, N. K. (2001). Plant Hormone homeostasis and the control of avocado fruit size. *Plant Growth Regulation*, 35, pp. 247-255.
- Téllez-Luis y Col., S. R.-L.-G. (2001). Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria.*, 71.
- Torres, J. L. (2010). Manejo poscosecha del aguacate (*persea americana* mill.) En Uruapan Michoacán. Tesis de Licenciatura. U.M.S.N.H. Facultad de Agrobiología.
- Valle-Guadarrama y col, S. E.-s.-V.-V. (2005). Oxygen diffusivity in avocado fruit tissue. *Byosistems Engineering*, Volumen 92, Issue 2, pp. 197-206.
- Van Boekel, M., & Walstra, P. (1995). Effect of Heat treatment on chemical and physical changes to milkfat globules. In P.F. Fox. Heat-induced changes in milk, pp. 51-65. International Dairy Federation: Brussels, Belgium.
- Wakabayashia, K., & Donald, J. (2001). Purification and catalytic properties of polygalacturonase isoforms from ripe avocado (*persea americana*) fruit mesocarp. *Physiologia plantarum*, 113, pp 210-216.
- Walstra y col., P. W. (2006). Milk components. In P. Walstra, J. Wouters, y T. Geurts. *Dairy science and technology*, pp.17-108. CRC Press: Boca raron, EEUU.
- Weemaes y col., C. L. (1999). Kinetic study of antibrowning agents and pressure inactivation of avocado polyphenoloxidase. *Journal of food science*, 64, pp 823-827.
- Wolstenholme, & Whiley, B. (1995). Strategies for maximising avocado productivity: An overview. Israel: Proceedings III World avocado Congress.
- Woolf y col., A. B. (2011). High pressure processing: novel technology. Obtenido de <http://worldavocadocongress2011.com/userfiles/file/Allan%20Woolf%201500-1520.pdf>

Zapata y col., L. M. (2010). Arandanos: Avances científicos y Tecnológicos. Argentina.: Universidad Nacional Entre Rios.

IX. ANEXOS

1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Se usó una Termo-balanza Sartorius® MA 150

OBJETIVO: Determinar la humedad contenida en el pericarpio del aguacate.

TÉCNICA:

1. Se conecta el equipo a la alimentación eléctrica y se deja calentar por un periodo de 30 minutos
2. Encender el equipo y se verifica que en la pantalla aparezcan los parámetros deseados de programa y temperatura. Producto terminado a 105°C y 110°C para materia prima.
3. Tomar una charola para muestras con pinza y colocar sobre el soporte del equipo, se baja la tapa del equipo.
4. Tarar el peso de la charola, se coloca en la charola ya tarada la muestra de materia prima o de producto terminado (5 g para PT y 10 g para MP),
5. Esparcir homogéneamente por toda la charola, finalmente se baja la tapa del equipo para iniciar el análisis y tomar lectura de la humedad calculada.



Ilustración 5. Termo Balanza

2. DETERMINACIÓN DE HUMECTABILIDAD

Método estático o modificado y descrito por (Ceballos, 2008).

OBJETIVO: Determinar el efecto de los diferentes tratamientos sobre la capacidad que tienen las muestras para adsorber el agua sobre su superficie.

TÉCNICA:

1. Cribar la muestra con malla # 20.
2. Pesar 1 g de muestra en un vaso de precipitados de 100 mL.
3. Colocar sobre el vaso, con la muestra, una lámina de vidrio.
4. Voltear boca abajo el vaso con muestra junto con la lámina de tal manera que la muestra quede en contacto con la lámina de vidrio.
5. Colocar sobre otro vaso de precipitados que contenga 100 mL de agua destilad. Se retira la lámina rápidamente de entre los dos vasos de precipitados para que la muestra entre en contacto con el agua destilada, como se muestra en la siguiente figura.
6. Medir el tiempo en segundos, requerido para que se sumerja la última partícula de muestra de la superficie.



Ilustración 6. Humectabilidad

3. ANÁLISIS HISTOLÓGICOS

Los análisis histológicos fueron realizados en el laboratorio de histopatología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, "Posta", perteneciente a la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Para llevar a cabo el análisis histológico y ver cuál era el daño causado por los diversos tratamientos fue necesario crear un protocolo que comprende diversas etapas.

FORMACIÓN DE BLOQUES

Los bloques se formaban con ayuda de un soporte para crio congelamiento en forma circular cuyo radio fue de 1.5 cm, y al cual se colocó el polímero Cryo-Embedding-Compound, y cubriendo toda la base para posteriormente colocar el bloque de 1x1x1 cm; y para ello se utilizaron barras Leuckart (dos barras metálicas dispuestas entre si y originando una forma cuadrada). Las barras se llenaron de la muestra problema para obtener la forma deseada. Una vez colocada sobre el soporte para crio congelamiento, se embebe en Cryo-Embedding-Compound para posteriormente ser colocada en la base del criostato y ser congelada a -20°C durante 24 Horas.



Ilustración 7. Formación de Bloques

CORTE DE LA MUESTRA

Una vez obtenidos los bloques sólidos con la muestra en su interior se procedió a montarse en el área del corte. Para ello se utilizó Criostato (microm, 505n), y que fue graduado a un grosor de corte de 25 μm .



Ilustración 8. Corte de la Muestra

ADHESIÓN DE CORTES

Los cortes fueron sobrepuestos en porta objetos previamente untados con alcohol, para adherirlos.

TINCIÓN

Una vez fijadas las muestras se dejaron secar y poder teñir el tejido crio congelado, para lo cual se usó colorante Verde de Malaquita al 0.2% por dos minutos, posteriormente las muestras se lavaron con agua destilada para continuar con la tinción Rojo de Sudan III al 1% por 15 minutos. Posteriormente se sumergieron en Xilol con el fin de infiltrar bien el color y que se fije más la tinción por 5 minutos, una vez concluido este tiempo se le adicionó dos gotas de resina Microscopy Entellan de la Marca Merck KGaA para evitar futuras contaminaciones y preservar la muestra.

El colorante Verde de Malaquita (color verde) indica aquello que corresponde a la estructura celulósica, permitiendo identificar nítidamente la pared celular. El colorante Rojo de Sudán III fue utilizado para demostrar la presencia de lípidos en la célula.



Ilustración 9. Tinción

ANÁLISIS DE LA MUESTRA

Se realizó mediante microscopía usando un microscopio Óptico con cámara fotográfica modelo BA210 Series, y mediante el cual se obtuvieron las fotos de las muestras más relevantes y los aumentos que se estimaron convenientes para su mejor visualización.



Ilustración 10. Microscopio Óptico

4. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE ACIDEZ

Método Oficial de la (AOAC 940.28-1940 Fatty acids (free) in crude and refined oils. , s.f.).

OBJETIVO: Determinar el efecto de los diferentes tratamientos sobre la liberación de ácidos grasos en función del ácido oleico.

TÉCNICA:

EXTRACCIÓN DE ACEITE

Se colocan 100 g de muestra en un contenedor de papel filtro y se coloca en un frasco ámbar con el solvente de extracción (éter) en relación 8:1. Se deja en contacto la muestra con el éter durante 24 horas a temperatura ambiente y se extrae su aceite con un rota vapor marca Hahnvapor®. El aceite obtenido se almacena en un frasco ámbar.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

En un matraz Erlenmeyer se pesan 7 g de aceite en una balanza analítica marca Sartorius®, se le agregan 250 mL de alcohol (previamente neutralizado agregando 2 mL de fenolftaleína y suficiente NaOH 0.1 N hasta una coloración rosa claro, y se agita vigorosamente. Se agregan 2 mL de fenolftaleína al 1% en etanol como indicador.

TITULACIÓN DE LA MUESTRA

Se titula con una solución de NaOH 0.1N exactamente valorada con vigorosa agitación, hasta alcanzar el punto de equivalencia con la coloración rosa que permanece ≥ 1 min.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El porcentaje de ácidos grasos libres se expresa en términos de ácido oleico; los mililitros de NaOH 0.1 N usados para la titulación corresponden a este porcentaje. Dónde 1 mL de la solución de NaOH equivale a 0.0282 g de ácido oleico. P= peso de la muestra en g. V= volumen de NaOH gastados en la titulación en mL. N= Normalidad del NaOH.

$$\% \text{ Acidez} = \frac{V \cdot 0.0282 \cdot 100 \cdot N}{P}$$

5. DETERMINACION DE pH

Método potencio métrico (NMX-F-083-1986 ALIMENTOS - DETERMINACION DE HUMEDAD EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS, 1986)

OBJETIVO: Determinar la influencia que tiene cada tipo de tratamiento en el pH de las muestras.

TÉCNICA:

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Se pesan 3 g demuestra en un vaso de precipitados de 100 mL, se le agrega 27 mL de agua destilada (dilución 1:10) y se agita para homogenizar.

CALIBRACIÓN DEL POTENCIÓMETRO

Se enciende el potenciómetro y se presiona la tecla calibrar (Cal), se enjuaga el electrodo con agua destilada, posteriormente se sumerge el electrodo en el buffer 1 (pH 7) hasta que en la pantalla aparezca la palabra confirmación (cfm) y se presiona el botón de confirmación (cfm), se retira el electrodo y se enjuaga nuevamente con agua destilada, enseguida se sumerge en el buffer 2 (pH 4), y se procede de igual forma.

LECTURA DE pH

Se introduce el electrodo en la muestra previamente preparada y se toma la lectura de pH una vez que se mantenga estable la medición, se enjuaga el electrodo entre cada lectura con agua destilada.



Ilustración 11. Equipo

6. DETERMINACIÓN DE DUREZA

OBJETIVO: Este atributo está ligado con los cambios fisicoquímicos y estructurales del material biológico. A su vez el atributo de la textura de los frutos y vegetales está relacionada con el punto de cosechas, la calidad de la comercialización, procesamiento.

Definición: Se define dureza de un material como la fuerza necesaria para romper los tejidos carnosos, es decir, la resistencia de un material a la deformación o penetración y está vinculada con los diferentes estados durante el proceso de maduración, por lo tanto, la dureza de los frutos se considera como indicativo adecuado de la madurez. (Zapata y col., 2010).

TÉCNICA:

ELECCIÓN DE MATERIA PRIMA

Se utilizaron aguacates de tamaño similar con un peso de entre 136-170 g, y de acuerdo a la clasificación por tamaño corresponde al calibre mediano. Las condiciones de almacenamiento fueron de temperatura ambiente $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y HR de $85 \pm 10\%$.



Imagen 7. Tamaño y Peso de Materias Primas

CALIBRACIÓN Y PARÁMETROS DEL EQUIPO.

Se utilizó la punta TA44 Cylinder 4 mm D, y la cual se colocó en el equipo BROOKFIELD CT3 con capacidad de 25 Kg. Se operó con ayuda del software "CT3 Texture Analyzer" propio del equipo y calibrando con ayuda de esta interface a una dis-

tancia de 3 mm de penetración, una velocidad de desplazamiento de 3.00 mm/s y una carga de activación neta de 6N.



Imagen 8. Texturómetro

TEST DE DUREZA

Se colocó el aguacate entero en la base del texturómetro BROOKFIELD CT3 y haciendo bajar la punta hasta que se mantuviera un espacio mínimo entre el aguacate y la punta; y evitando que el fruto se perforara antes de la medición. Una vez teniendo estas condiciones con ayuda de la interface se inicia el test del equipo.

INFORME DE DATOS

El equipo genera automáticamente un informe de los datos obtenidos comparándolo contra los datos que previamente se calibran. Obteniendo la fuerza máxima de penetración del aguacate midiendo la fuerza en Kg utilizando el fruto completo.

7. DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ACUOSA

Los análisis de la actividad de agua fueron realizados en el laboratorio de control de calidad DE LA EMPRESA SI O SI ALIMENTOS S.A. P.I DE C.V.

GRANULOMETRÍA

Se hizo pasar por una maya de tamaño $< 1\text{mm}$ y una cantidad de 10 gramos, y con la finalidad de obtener el mismo tamaño de partícula.

ANÁLISIS DE LA MUESTRA

Se realizó a temperatura ambiente, $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y un HR de $85 \pm 10 \%$, y mediante ayuda de medidor de la actividad de agua automático AquaLab modelo Pre. Se realizaron 3 mediciones y se reportó la media.

8. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS VOLÁTILES

Metodología:

1. Se colocaron 30 g de la muestra de aguacate en un vial de vidrio ámbar.
2. Colocar en un baño María a 37°C (temperatura promedio de la boca humana), y se mantuvo en agitación a 100 rpm por 45 minutos,
3. Introducir una aguja metálica conteniendo en su interior una fibra para micro-extracción en fase sólida, y recubierta con una capa de divinilbenceno-carboxen-poldimetilsiloxano (50/30), y que le confiere una amplia gama de polaridad.
4. Exponer la fibra a la fase gaseosa del espacio de cabeza durante 30 min y manteniendo la agitación. Durante este tiempo los compuestos de la fase gaseosa son adsorbidos en la superficie de la fibra, transcurrido el tiempo de adsorción, se retrajo la fibra.
5. Insertar en el inyector del cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas (Agilent®). La temperatura del inyector del cromatógrafo se mantuvo a 180°C. Para desorber los compuestos volátiles la fibra se mantuvo en el inyector durante 6 minutos.

Condiciones cromatográficas

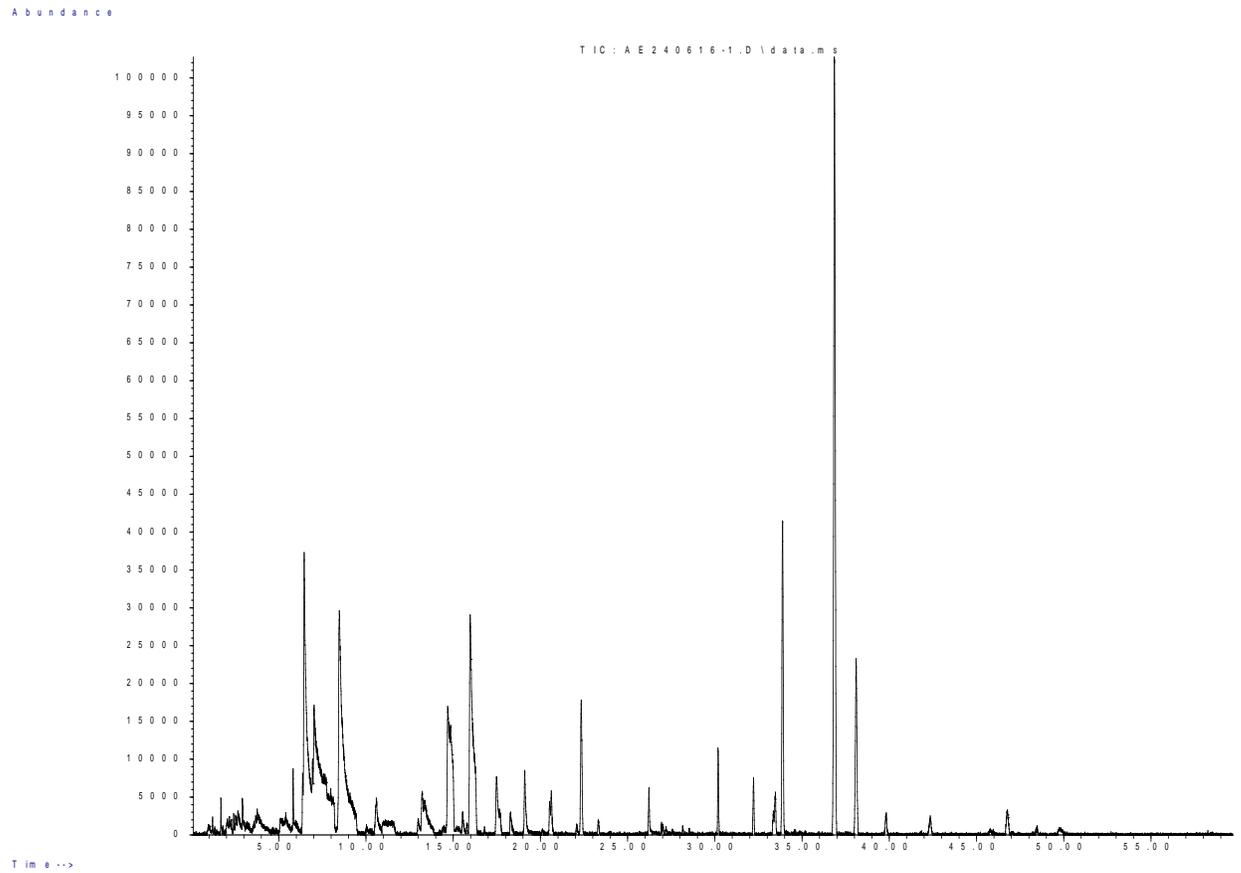
5.1 Temperatura del inyector: 180°C.

5.2 Tiempo de desorción 6 min en modo "splitless".

5.3 Flujo de gas acarreador (He) 0.8 ml/min Programa de temperatura : Temp inicial 40° durante 3 min ; aumento a razón de 3°C/min hasta llegar a 120°C y mantener 3 min

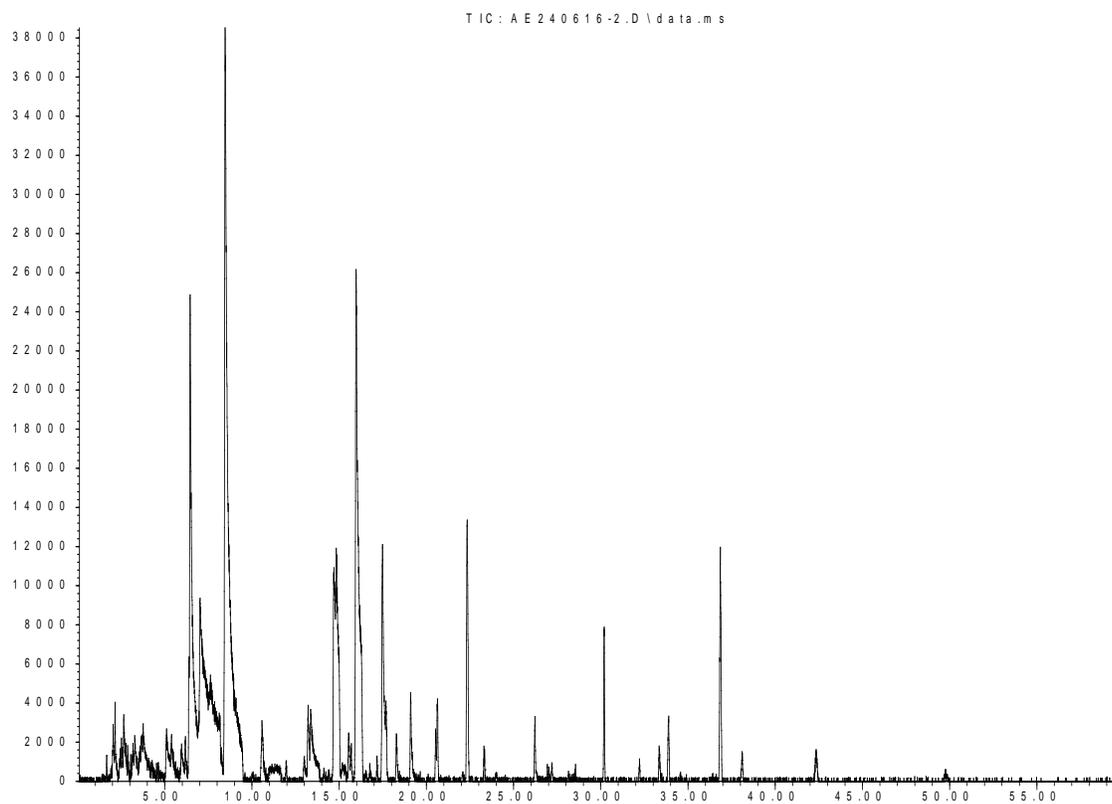
9. CROMATOGRAMAS

9.1. AGUACATE ENTERO 1

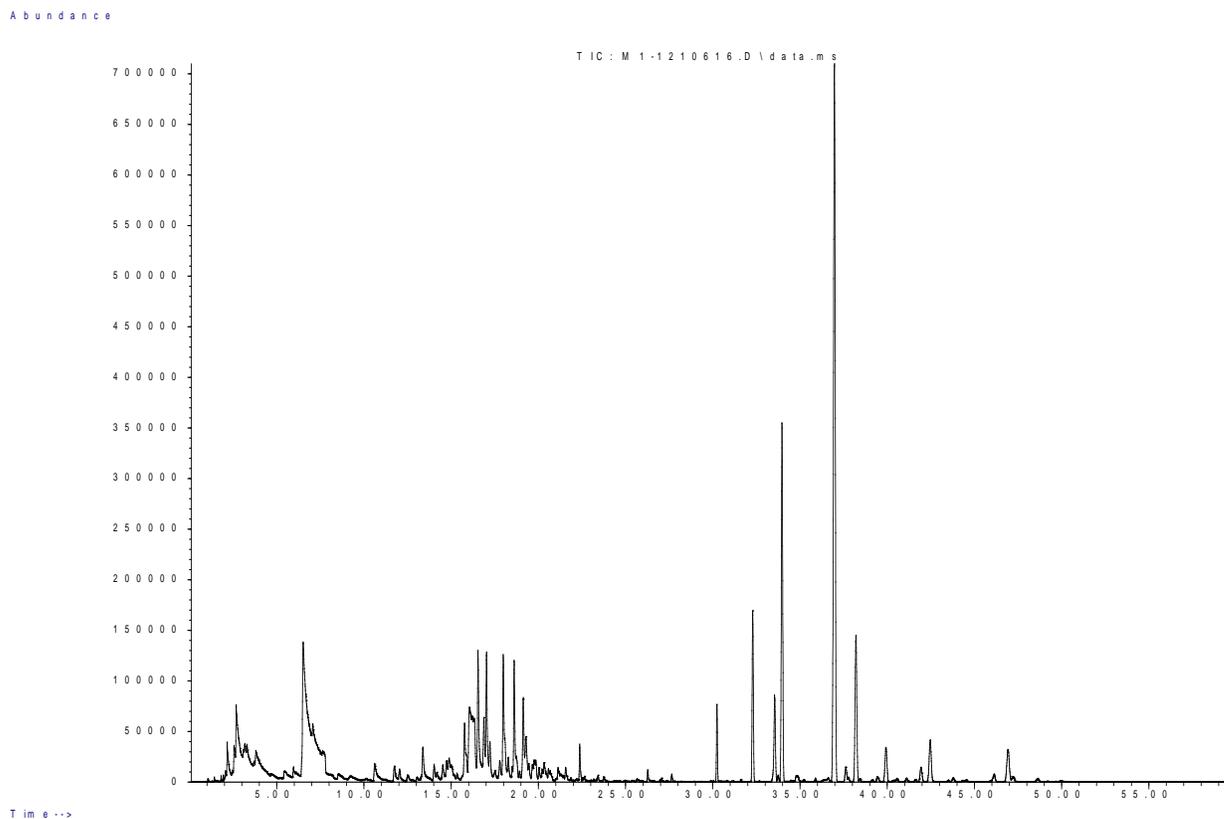


9.2. AGUACATE ENTERO 2

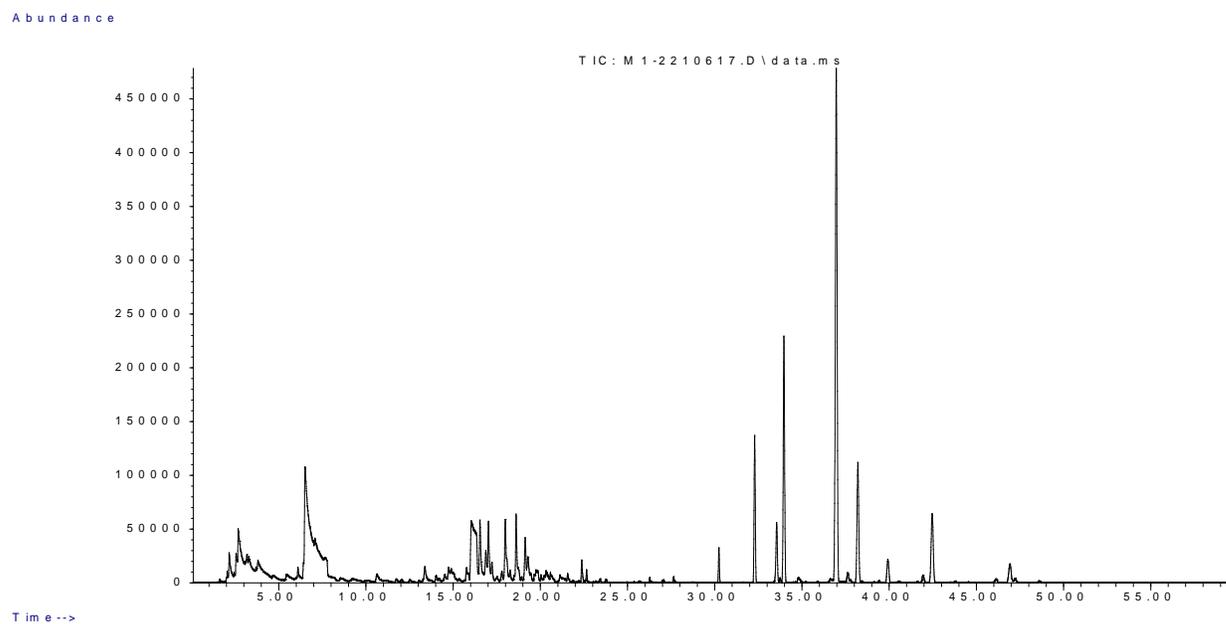
Abundance



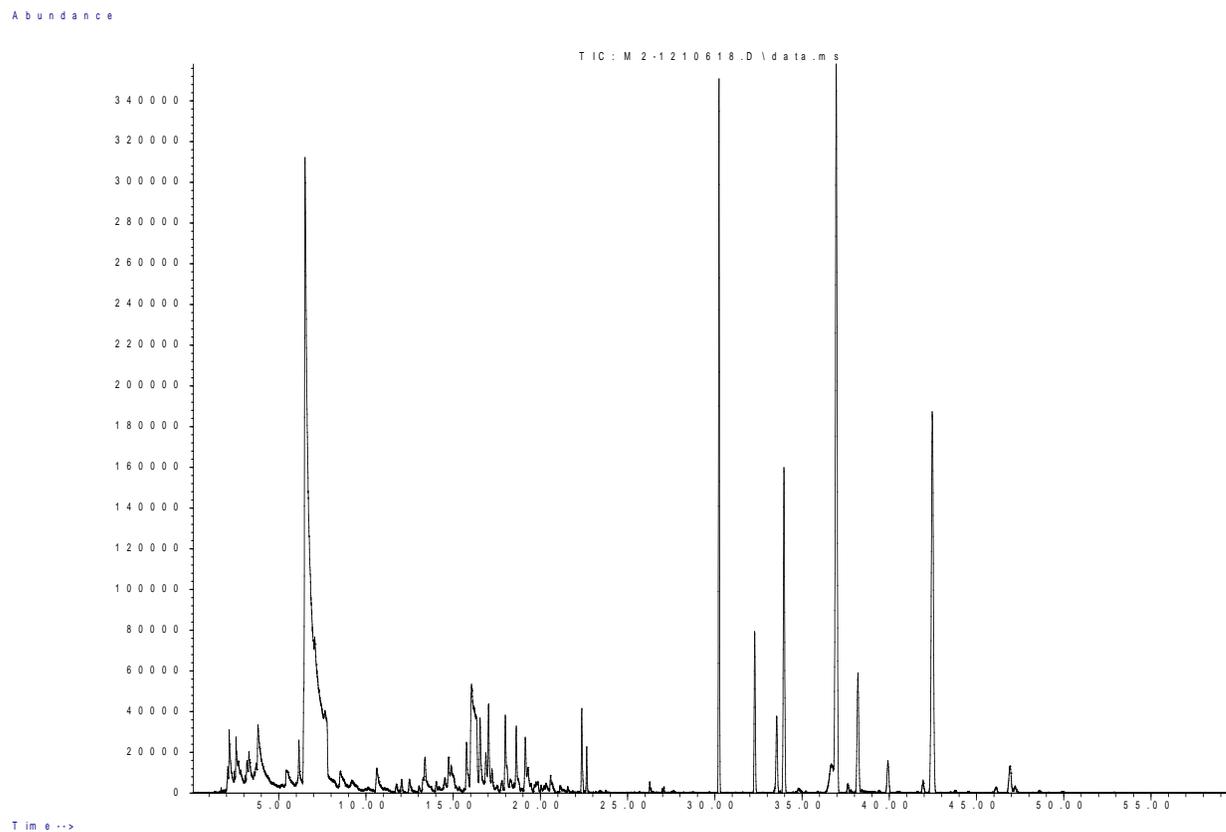
9.3. FRICCIÓN SIN ALTAS PRESIONES



9.4. FRICCIÓN SIN ALTAS PRESIONES



9.5. COMPRESIÓN CON ALTAS PRESIONES



9.6. COMPRESIÓN CON ALTAS PRESIONES

