



Universidad Nacional del Nordeste
Facultad de Ciencias Exactas y
Naturales y Agrimensura

Tesis Doctoral

**Efecto de la aplicación de tecnologías emergentes en los atributos
de calidad de productos derivados del mango y su comparación
con tratamientos térmicos convencionales**

Adriana María Arias Gorman

Directora: Dra. Noemí Zaritzky

Co – Directora: Dra. Sonia Cecilia Sgroppo

Corrientes, Argentina
2017

El presente trabajo de Tesis Doctoral, para aspirar al título de Doctor de la Universidad Nacional del Nordeste en Química, fue realizado en el Laboratorio de Tecnología Química de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura de la UNNE, bajo la dirección de la Dra. Noemí Zaritzky y la codirección de la Dra. Sonia Sgroppo.

Corrientes, marzo de 2017.

*A Dios, quien eligió esto para mí.
"Nada te turbe, nada te espante.
Todo se pasa. Dios no se muda.
La paciencia todo lo alcanza.
Quien a Dios tiene, nada le falta.
Sólo Dios basta."*

Santa Teresa de Jesús

Agradecimientos

A mi directora de tesis, Dra Noemí Zaritzky, por brindarse a este trabajo sin conocerme y por su invaluable apoyo y colaboración.

A mi co directora de tesis Dra. Sonia Sgroppo, por darme la oportunidad de introducirme en el mundo de la investigación y por su contribución a mi formación científica durante estos años. Gracias por su confianza, por ser soporte tantas veces y por su apoyo incondicional hasta el final.

A la Universidad Nacional del Nordeste y la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, por la formación otorgada y permitirme continuar con mis estudios de posgrado, brindándome el lugar de trabajo y la carrera de Doctorado en Química.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) por la beca otorgada para concretar este trabajo de tesis.

Al Dr. Luis Merino, por facilitarme desinteresadamente la cepa de *Escherichia coli* ATCC 29522.

A mis compañeros del Laboratorio de Tecnología Química: los "Vegetales". Enzo, Karina y Melisa por su compañerismo y su colaboración. Gonzalo, por su amistad y buena predisposición en todo el camino recorrido. A Lore, excelente persona y compañera que la vida puso en mi caminar. A Maida, te extrañamos! Las "Porotos": Pinty, Guada y Belén, por su desinteresada colaboración a lo largo de estos años. Infinitas gracias. Felicitas, Nico, Andrea, Eliana, Marga, por el día a día y su compañerismo.

Párrafo aparte para quien primero fuera mi compañera de trabajo, luego mi amiga y finalmente mi familia. Victoria, gracias es poco.

A Celina y María por su asesoramiento y buena predisposición.

A mis amigas de la facu: Andrea, Marta, Mónica y Andrea, por seguir siendo parte de mi vida y alentarme en esta etapa.

A mi familia.

A mi marido Carlos, mi compañero desde hace 20 años. Por estar a mi lado día a día, por su amor, por ser parte de mis logros incondicionalmente....Te amo infinitamente.

Resumen

Resumen

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutos tropicales más conocidos y ampliamente cultivados, nativo de la región Indo-Burmana. Es una drupa de tamaño y forma y peso variable. La piel es fina y de color verde en los frutos jóvenes, y cuando está maduro toma otras tonalidades además del verde. La pulpa es amarilla o naranja-amarilla y jugosa y la semilla dura, con fibras que pueden extenderse a la pulpa según la variedad.

La FAO estimó que en 2014 se produjeron en el mundo alrededor de 28,8 millones de toneladas de mango, representando el 35% de las frutas tropicales. El 90% de esa cantidad proviene de países en vías de desarrollo, mayoritariamente asiáticos y en cantidades menores de América Latina, el Caribe y África.

En el NOA se está promoviendo la plantación de mangos como una alternativa a los frutos tradicionales, aunque en la región del NEA, se encuentran numerosas plantaciones silvestres de mango que producen el mango “criollo”. Esta producción en épocas estivales es desaprovechada casi en su totalidad debido al alto contenido en fibra que poseen, por lo tanto, y dadas sus características organolépticas, estos frutos mínimamente procesados podrían ser ofrecidos como ingredientes para la elaboración de bebidas, postres, etc.

El puré o pulpa de mango triturada es el subproducto más común utilizado en la elaboración de otros productos derivados y es preservada aplicando diversos métodos. El néctar de mango es una bebida elaborada a partir del fruto fresco, añadiendo agua, con o sin la adición de azúcares, miel y/o jarabes, y/o edulcorantes.

Uno de los objetivos del procesamiento de los alimentos es incrementar su vida útil, previniendo el desarrollo microbiano y las reacciones enzimáticas responsables de su deterioro. Los tratamientos por calor son los más comunes, pero suelen tener efectos adversos en la calidad nutricional y sensorial, siendo más notorios cuanto mayor es la intensidad del tratamiento. En el procesamiento industrial del mango, se utilizan los tratamientos por calor durante la elaboración del puré o néctar, ya sea para pelar el fruto, inactivar enzimas endógenas oxidativas o pasteurizarlo.

En la actualidad los consumidores demandan alimentos que, además de ser sabrosos, saludables y microbiológicamente seguros, sean “naturales” y producidos de modo amigable con el ambiente, siendo cada vez mayor el rechazo de alimentos adicionados de aditivos.

La irradiación con luz ultravioleta es un método físico de preservación, de buena aceptación entre los consumidores, no aumenta excesivamente la temperatura del producto, no provoca pérdidas de agua ni genera sustancias tóxicas y es de bajo costo. La energía requerida para lograr la inactivación microbiana y enzimática depende del producto y de la sensibilidad a la luz UV-C de los microorganismos. Los parámetros fisicoquímicos, absorptividad, pH, sólidos solubles, otros componentes y la carga microbiana pueden afectar la tasa de destrucción de microorganismos o la inactivación de las enzimas.

Por otra parte con el uso de tratamientos de preservación combinados se busca minimizar la rigurosidad de los tratamientos aplicados, proponiéndose la combinación de tratamientos no térmicos (altas presiones, ultrasonido, luz UV-C) con tratamientos térmicos menos rigurosos. De esta forma se busca potenciar los efectos y obtener un producto inocuo, estable microbiológicamente y con características organolépticas aceptables.

En este trabajo de Tesis se realizó la caracterización del fruto del árbol de mango silvestre que crece en la Provincia de Corrientes, mango “criollo”, entre los años 2008 a 2015. Es un fruto pequeño con alto contenido de azúcares totales, acidez, fenoles totales y fibra, además de tener una buena capacidad antioxidante. Adicionalmente se realizaron determinaciones físico-químicas al mango denominado “brasileño”, encontrándose menores tenores de azúcares y fibra.

A continuación se aplicaron los siguientes tratamientos de conservación a subproductos del mango: tratamientos térmicos a 90 °C, de irradiación con luz UV-C y una combinación de luz UV-C y tratamiento térmico (UV-C+TT). Además se evaluaron los cambios en el color y la calidad sensorial y microbiológica de los productos durante el almacenamiento a temperaturas de refrigeración.

Inicialmente se seleccionaron las condiciones de los tratamientos térmicos (temperatura-tiempo) a aplicar al puré de mango teniendo en cuenta las variaciones del color total y observaciones organolépticas. Asimismo, se determinó el tiempo de vida útil.

Según los resultados obtenidos en los ensayos preliminares se efectuaron tratamientos térmicos a 90 °C durante 1 y 15 minutos al puré de mango envasado en bolsas de polietileno y en frascos de vidrio con tapa de hojalata a rosca y almacenaron a 10 y 4 °C. Se determinó la influencia de la temperatura de almacenamiento en los atributos sensoriales y la vida útil

del producto, aumentando en 40 días el tiempo a almacenamiento a 4 °C para ambos tipos de envases.

Los parámetros de color analizados L^* , a^* y b^* en los purés envasados en bolsas de polietileno, tratados térmicamente y almacenados a las dos temperaturas, presentaron una evolución similar entre sí, disminuyendo por el tratamiento y durante el almacenamiento. En los purés envasados en frascos de vidrio el parámetro a^* fue el más afectado tras la aplicación del tratamiento, mientras durante el almacenamiento la disminución más marcada fue de L^* y b^* . El parámetro L^* puede utilizarse como indicador del oscurecimiento del puré de mango criollo, mientras que b^* indicaría cambios en el color amarillo.

El tratamiento térmico no afectó el pH, la acidez y el contenido de azúcares totales y reductores en los purés de mango, pero sí produjo una disminución en el contenido de pigmentos carotenoides y de β -caroteno, fenoles totales, ácido ascórbico y en la actividad antioxidante.

Las enzimas oxidativas peroxidasa y polifenoloxidasas fueron inhibidas tras la aplicación del tratamiento a 90 °C, tanto de 1 como de 15 minutos, y se mantuvieron inactivas durante los 60 días de almacenamiento a 10 y 4 °C para ambos tipos de envases. Sin embargo, el ΔE^* mantuvo su tendencia a aumentar durante el almacenamiento, tanto a 10 como a 4 °C, siendo en este último de menor magnitud. Del mismo modo, también fueron inhibidos el desarrollo de aerobios mesófilos totales y de mohos y levaduras, asegurando la calidad microbiológica del puré de mango.

En los purés tratados con luz UV-C, las mediciones instrumentales de color arrojaron importantes variaciones en el valor de ΔE^* . Durante el almacenamiento refrigerado la luminosidad L^* y el parámetro b^* disminuyeron, mientras que a^* experimentó un ligero aumento, indicando una tendencia hacia la tonalidad roja, lo cual influyó en la saturación del color (chroma) sin afectar de modo significativo el tono (amarillo-anaranjado). La luz UV-C, en las condiciones ensayadas, redujo parcialmente la actividad de la PPO y no fue efectiva en el control microbiano de la *E. coli* ATCC 25922.

Durante el almacenamiento del néctar de mango tratado con luz UV-C, no fueron afectados L^* y b^* , sin embargo a^* incrementó, modificando la saturación del color, no afectando significativamente el tono (amarillo). Se observaron menores cambios de color en comparación con el puré, lo cual podría deberse a una menor actividad de las enzimas PPO

y POD. El néctar presentó una tendencia al blanqueamiento, mientras que el puré lo hizo hacia el oscurecimiento. Se verificó la efectividad de las dosis de UV-C superiores a 75 kJ/m² para el control de la *E. coli* ATCC 25922, microorganismo subrogante de la *E. coli* patógena en el néctar de mango.

Dado que los tratamientos individuales de luz UV-C no fueron lo suficientemente efectivos para controlar los cambios de color en el néctar, se llevó a cabo un ensayo combinado de tratamiento térmico con luz UV-C. Se aplicó un diseño de Box-Behnken y utilizando la metodología de superficie de respuesta, se determinaron las condiciones óptimas de procesamiento del néctar de mango, las cuales fueron: Dosis de luz UV-C de 73,36 kJ/m² y tratamiento térmico a 75 °C durante 10 minutos.

El néctar así tratado presentó características organolépticas aceptables durante 50 días de almacenamiento a 10 °C, siendo rechazados los productos por el atributo color. Se determinaron cambios de color respecto del néctar recientemente preparado, aunque durante el almacenamiento el ΔE^* fue inferior a 4. La actividad residual de PPO se mantuvo por debajo del 22% mientras la POD fue inactivada y no se determinó actividad durante el almacenamiento, lo cual permitió reducidos cambios de color total, prolongando su vida útil. Por otra parte, el tratamiento combinado fue efectivo para controlar el desarrollo microbiano, no detectándose a los 50 días de almacenamiento desarrollo de microorganismos aerobios mesófilos ni mohos y levaduras, pudiendo considerarse un tratamiento de pasteurización según la FDA.

La aplicación de luz UV-C seguida de tratamientos térmicos a menos de 90 °C representa una alternativa promisoriosa para el néctar de mango, capaz de retener su calidad organoléptica y microbiológica.

Índice

1. Introducción	1
1.1. Generalidades	3
1.2. Cultivo del mango	4
1.3. Características del fruto	4
1.4. Composición del fruto	7
1.5. Productos a base mango	8
1.5.1. Características organolépticas	10
1.5.1.1. Alteraciones del color	13
1.5.2. Aspectos microbiológicos	16
1.6. Métodos de preservación	18
1.6.1. Tratamientos térmicos	18
1.6.2. Tratamientos con luz UV-C	23
1.6.3. Tratamientos combinados	26
1.7. Envasado	27
1.8. Objetivos de la tesis	31
2. Materiales y métodos	33
2.1. Material vegetal	35
2.2. Caracterización de los frutos	35
2.3. Tratamientos de preservación	35
2.3.1. Tratamientos térmicos	35
2.3.1.a. Tratamiento térmico en bolsas de polietileno	36
2.3.1.b. Tratamiento térmico en frascos de vidrio con tapa a rosca de hojalata	37
2.3.2. Tratamientos con luz UV-C	37
2.3.2.a. Puré de mango	37
2.3.2.b. Néctar de mango	39
2.3.3. Tratamientos combinados	39
2.4. Almacenamiento	40
2.4.a. Puré tratado térmicamente envasado en bolsas de polietileno	40
2.4.b. Puré tratado térmicamente envasado en frascos de vidrio con tapa a rosca de hojalata	40
2.4.c. Néctar de mango	41
2.5. Determinaciones	41
2.5.1. Contenido de agua	41
2.5.2. pH	41
2.5.3. Color de la pulpa	41
2.5.4. Acidez titulable	42
2.5.5. Fibra bruta	42
2.5.6. Determinación de fibra dietética total	43
2.5.7. Azúcares totales y reductores	43
2.5.8. Actividad antioxidante	44
2.5.9. Fenoles totales	44

2.5.10. Flavonoides	45
2.5.11. Pectinas totales	45
2.5.12. Carotenoides totales	45
2.5.13. β -Caroteno	46
2.5.14. Ácido ascórbico	47
2.5.15. Proteínas	47
2.5.15.a. Cuantificación de proteínas	47
2.5.15.b. Perfil proteico	47
2.5.16. Actividad de enzimas oxidativas	48
2.6. Análisis microbiológico	48
2.6.a. Calidad microbiológica	49
2.6.b. Ensayos de inoculación	49
2.7. Análisis sensorial	50
2.8. Análisis estadístico	50
3. Caracterización de frutos de mango "criollo" (<i>Mangifera indica</i> L.)	51
3.1. Introducción	53
3.2. Resultados y discusión	55
3.2.1. Contenido de agua	55
3.2.2. Acidez y pH	55
3.2.3. Contenido de azúcares	55
3.2.4. Fibra bruta y pectinas	56
3.2.5. Polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante	57
3.2.6. Carotenoides	58
3.2.7. Proteínas y Perfil proteico	59
3.3. Conclusiones parciales	60
4. Aplicación de tratamientos térmicos a puré del mango	63
4.1. Introducción	65
4.2. Tratamientos térmicos aplicados a puré de mango envasado en bolsas de polietileno	67
4.2.1. Ensayos preliminares	67
4.2.1.a. Determinación del perfil de temperatura	67
4.2.1.b. Efecto sobre el color del puré de mango tratado térmicamente a diferentes temperaturas y tiempo de tratamiento	68
4.2.1.c. Determinación del tiempo de vida útil a 10 °C del puré tratado a 90 °C	73
4.2.1.d. Determinación del tiempo de vida útil a 4 °C del puré tratado a 90 °C	73
4.2.2. Ensayos de almacenamiento del puré envasado en bolsas de polietileno tratado térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos, almacenado a 10 y 4 °C	74
Acidez y pH	75
Color	76
Azúcares totales y reductores	82
Actividad antioxidante	84

Fenoles totales	85
Carotenoides totales	88
β-caroteno	90
Ácido ascórbico	92
Actividad de enzimas POD y PPO	93
Análisis microbiológico	94
Análisis sensorial	95
4.3. Tratamientos térmicos aplicados a puré de mango envasado en frascos de vidrio	99
4.3.1 Ensayos preliminares	99
4.3.1.a. Determinación del perfil de temperatura durante el tratamiento	99
4.3.1.b. Determinación del tiempo de vida útil a 4 °C del puré de mango tratado térmicamente a 90 °C	100
4.3.2. Ensayos de almacenamiento del puré envasado en frascos de vidrio con tapa a rosca de hojalata tratado a 90 °C durante 1 y 15 minutos y almacenado a 4 °C	101
Acidez y pH	102
Color	103
Azúcares totales y reductores	106
Actividad antioxidante	107
Fenoles totales	108
Contenido de pigmentos carotenoides	110
β-caroteno	111
Ácido ascórbico	112
Actividad enzimática	113
Análisis microbiológico	113
Análisis sensorial	114
4.4. Conclusiones parciales	116
5. Aplicación de luz UV-C a productos derivados del mango	117
5.1. Introducción	119
5.2. Aplicación de luz UV-C	122
5.2.1. Puré de mango	122
5.2.1.a. Control de microorganismos patógenos	122
5.2.1.b. Ensayos de almacenamiento	123
Color	123
Actividad de PPO	130
5.2.1.c. Otros tratamientos ensayados	131
5.2.2. Néctar de mango	132
5.2.2.a. Control de microorganismos patógenos mediante tratamiento UV	133
5.2.2.b. Ensayos de almacenamiento	133
Color	134
Actividad de PPO y POD	141
5.3. Conclusiones parciales	142

6. Aplicación de tratamientos combinados a néctar de mango	145
6.1. Introducción	147
6.2. Determinación de las condiciones óptimas de tratamientos UV-C y térmico (UV-C + TT) combinados	149
6.3. Ensayos de almacenamiento	156
6.3.1. Color	158
6.3.2. Actividad enzimática	160
6.3.3. Análisis microbiológico	161
6.3.4. Análisis sensorial	161
6.4. Conclusiones parciales	165
7. Conclusiones	167
8. Bibliografía	173

Capítulo 1

Introducción

1. Introducción

1.1. Generalidades

El mango (*Mangifera indica* L.) también conocido como manga (Tamil), mangga (Filipinas, Malasia, Indonesia) y manguier (Francia) es uno de los frutos tropicales más conocidos y ampliamente cultivado, siendo producido en la mayor parte de los países tropicales y subtropicales (Paull y col., 2011, Wu y col., 2005).

Pertenece a la familia *Anarcadiaceae*, nativo del sur y de la región sudeste de Asia conocida como región Indo-Burmana y fue cultivado en India desde hace más de 4000 años. Está profundamente asociado a la religión hindú, y los comerciantes indios y sacerdotes budistas probablemente introdujeron el mango en Malasia y otros países del este de Asia durante los siglos 4 y 5 a.C. y en Filipinas entre 1400 y 1450 d.C. Los portugueses lo transportaron desde India hacia el este de África y Brasil, en tanto los españoles lo hicieron desde Filipinas hasta la costa oeste de México antes de que los ingleses llegaran a las Islas de Hawaii en 1778. Aparentemente desde Brasil se extendió hacia Barbados y otras islas del Caribe (Paull y col. 2011).

La FAO estimó que en 2016 se produjeron en el mundo alrededor de 46,5 millones de toneladas de mango, representando el 41,8% de las frutas tropicales denominadas “principales” (mango, ananá, palta y mamón). El 90% de esa cantidad proviene de países en vías de desarrollo, Asia y el Pacífico (India, China, Pakistán, Filipinas y Tailandia) en su gran mayoría, y en cantidades menores de los países de América Latina y el Caribe (Brasil y México) y del continente africano.

La India es el mayor productor de mango mundial, con el 40% de la cosecha total (11,6 millones de toneladas), siendo los Estados Unidos de América y la Unión Europea los principales importadores de estos frutos, absorbiendo los países desarrollados el 80% del comercio mundial. Su popularidad en el mercado internacional se debe al excelente sabor del fruto, atractiva fragancia, hermoso color y propiedades nutricionales. Son una buena fuente de ácido ascórbico, carotenoides y compuestos fenólicos y otros antioxidantes (Sivakumar y col., 2011). El mango se consume como fruta fresca o procesada, mango fresco cortado, jugo, puré, néctar, etc.

En el Noroeste de Argentina se está promoviendo la plantación de mangos como una alternativa a los frutos tradicionales, habiéndose alcanzado en las provincias de Salta y Jujuy una producción de 7500 toneladas en el año 2012 (INTA, 2015). En la región del NEA, se encuentran numerosas plantaciones silvestres de mango, cuya producción en los meses de verano es desaprovechada casi en su totalidad debido al alto contenido en fibra que poseen estos frutos, que son conocidos como mangos “criollos”. Dadas las características organolépticas de los frutos producidos en esta región, se pueden utilizar para la elaboración de bebidas, postres, lácteos, etc.

1.2. Cultivo del mango

La familia Anarcadiaceae posee 75 géneros y 700 especies, mayormente tropicales con algunas especies subtropicales y de climas templados. El género *Mangifera* está constituido por 69 especies, aunque no todos dan frutos comestibles (Paull y col., 2011).

El mango es un árbol de hoja perenne, simétrico, que varía en altura desde 8 a 30 m (figura 1.1.), con hojas simples, de 10 a 40 cm de largo, de forma elíptica o de lanza y situadas espiraladamente. Puede ser cultivado en un amplio espectro de suelos y climas, pero no tolera temperaturas extremas. Si bien no es exigente en cuanto a tipo de suelo, son preferentes los suelos aluvionales con pH comprendido entre 5,5 y 7,0 y una profundidad mínima de 1 metro (Paull y col., 2011). La altitud óptima para su cultivo es inferior a los 800 metros, aunque en zonas tropicales puede ser cultivado hasta los 1200 metros. La temperatura mínima para desarrollo del árbol es de 15 °C, siendo ideal entre 25 y 27 °C, y para la floración y maduración del fruto de 33 °C, aunque si tiene una adecuada irrigación tolera temperaturas de hasta 48 °C durante el desarrollo del fruto (Paull y col., 2011).

1.3. Características del fruto

El fruto de mango es una drupa de tamaño y forma variable, variando en peso desde unos pocos gramos a poco más de 1 kg. Es carnoso, de forma aplanada, redondeada o alargada (figura 1.2.) (Paull y col., 2011).



Figura 1.1. Árbol de mango (Corrientes, Argentina)

Es un fruto climatérico, tiene un patrón de crecimiento sigmoideo simple, la piel es de color verde en los frutos jóvenes, algunas veces púrpura, y cuando está maduro toma otras tonalidades además del verde, como el amarillo, naranja, rojo-amarillo, púrpura o rojo-púrpura. El período desde la fructificación a la maduración es de 10 a 28 semanas dependiendo de la variedad y del clima.

La piel, cáscara o exocarpio, que representa el 11-18% del fruto, es fina; la pulpa o mesocarpio representa el 60-75%, es amarilla o naranja-amarilla y jugosa en el fruto maduro; y la semilla es dura, con fibras que pueden extenderse a la pulpa dependiendo de la variedad. La piel contiene látex con un alérgeno, el urushiol, que es una toxina presente en otros miembros de la familia *Anarcadiaceae*, causante de alergias por contacto en piel (Paull y col., 2011).



Figura 1.2. Imágenes de frutos de mango “criollo” en diferentes estadios de crecimiento y maduración.

Entre los diferentes cultivares de mango se pueden mencionar a los cultivares indios, que tienen un fuerte olor a trementina, variable longitud de las fibras, dulces, poco ácidos y color de piel amarillo, amarillo verdoso, amarillo-rosado, rosado o rojizo. Los cultivares indochinos o filipinos que son muy dulces, sin fibra ni sabor a trementina y piel amarilla o verde amarillenta y los cultivares “Haden”, “Tommy Atkins”, “Zill”, “Kensington”, “Keitt”, etc., que tienen un color rojo atractivo en la piel y con alto contenido en ácidos. Estos últimos son los cultivares más producidos en las Provincias del NOA (Salta y Jujuy). Además, en la mayor parte de América Latina, crecen diferentes variedades de mango “criollo”, los cuales

derivan de las variedades indochina-filipina. Estos tipos criollos han sobrevivido como tal, ya que son poliembriónicos y se propagan casi exclusivamente por semilla (Paull y col., 2011).

La madurez para la cosecha se determina mediante el uso de criterios tales como cambios en el color, plenitud de las mejillas y el endocarpio endurecido, siendo este último el indicador más fiable de la madurez. El mango se cosecha a mano desde el suelo, siempre que sea alcanzable, o desde escaleras y con el uso de un palo largo con una cesta de metal o una bolsa de tela para sujetar dos o tres frutos grandes (Paull y col., 2011).

Se debe evitar cualquier forma de magulladura durante la cosecha y el transporte hasta la empacadora. Normalmente la fruta se cosecha con 3-4 cm del pedúnculo, los frutos se ponen a la sombra de los árboles, con la parte cortada del pedúnculo hacia abajo durante unos 30 minutos hasta que el flujo de la savia se detenga. En la planta de empaque, las frutas por lo general se colocan en un baño de agua o son lavadas a mano para quitar de la superficie la savia del tallo, y el pedúnculo se corta de acuerdo con las especificaciones. La eliminación del látex es esencial para evitar el deterioro de la piel del fruto y se debe hacer dentro de las 24 horas poscosecha. Las normas de clasificación se basan por lo general en el tamaño, el color y ausencia de lesiones y defectos.

A temperatura ambiente, la vida útil de este fruto climatérico es de 7-14 días para frutos maduros. Se lo puede almacenar a temperaturas de refrigeración superiores a los 8-10 °C, dado que es un fruto sensible al daño por frío.

La comercialización del mango como fruto fresco está limitada por su alta perecibilidad (Lizada, 1993). Los mercados importadores son cada vez más exigentes en cuanto a calidad, y los frutos tropicales y climatéricos resisten alrededor de 20 a 25 días de transporte (Camargo Neves y col., 2008). Su maduración no puede ser suficientemente retrasada de modo de poder ser transportado largas distancias. Es altamente susceptible a enfermedades y al daño mecánico (Lizada, 1993). La mayor parte de las tecnologías poscosecha aplicadas tienen como objetivo el control de la tasa de maduración y el desarrollo de insectos y enfermedades, y la protección contra el daño mecánico.

1.4. Composición del fruto

El mango es una excelente fuente de provitamina A y se considera que realiza un aporte razonable de vitamina C, aunque esto varía en gran medida entre las variedades, con un rango de un mínimo de 5 mg a 142 mg/100 g de material fresco. Asimismo aporta minerales (P, Fe, Na, K, Ca), vitaminas del grupo B, carbohidratos simples y complejos, lípidos y aminoácidos. En promedio, por cada 100g de mango aportan 69 calorías.

El mango es una muy buena fuente de carotenoides, de los cuales el β -caroteno representa más de la mitad (Schieber y col., 2000; Rodriguez-Amaya, 2001), seguido por violaxantina, 9-cis-violaxantina, isómeros de luteoxantina, neoxantina y 13-cis-violaxantina (Rodriguez-Amaya, 2001). Entre los fenoles detectados en estos frutos se encuentran el ácido gálico, m-di gálico, β -glucogalinas, galotaninos, quercetina, isoquercetina, kaempferol, mangiferina, ácido elágico y peonidina 3-galactosido. Entre los volátiles, eugenol, ácido ferúlico y timol (Shieber y col., 2000; Shaidi y col., 2004).

El pH de los mangos maduros es de 4,2-4,3 y la acidez titulable se encuentra en un rango de 0,33 a 0,66% expresado en ácido cítrico para las variedades “Tommy Atkins” y “Keitt” (Boynton y col., 2002).

1.5. Productos a base mango

La mayoría de los mangos producidos son comercializados en estado fresco para el consumo como fruta de postre, simplemente pelada y trozada, o se pueden añadir piezas cortadas en cubos a ensaladas y cócteles de frutas.

Sin embargo, una cantidad considerable de fruta se procesa para obtener diversos productos como rodajas en conserva, jaleas, mermeladas, bebidas, derivados lácteos, helados, confituras y pastelería, etc.

El puré o pulpa de mango triturada es el subproducto más común que se prepara en algunas regiones del mundo para ser utilizado en la elaboración de otros productos derivados, especialmente en las épocas de alta producción. La pulpa del mango puede ser preservada por el envasado aséptico, congelado rápido, esterilizado o la adición de sorbato de potasio, metabisulfito, ácido cítrico o utilizando una combinación de métodos (Moraes y col., 2010; Younis y col., 2011).

El néctar de mango es una bebida que se elabora a partir del fruto fresco, del puré, del jugo concentrado, etc. Es un producto formulado, definido por el Codex Alimentarius (2005) como el producto sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene añadiendo agua, con o sin la adición de azúcares, miel y/o jarabes, y/o edulcorantes. Debe tener un mínimo de un 25% de puré o jugo de fruta y 13,5 °Brix.

El fruto de mango de buenas características para su procesamiento debe tener la pulpa con buen sabor y color y sin olores a terpenos. La consistencia del puré debe ser agradable al consumidor y generalmente se utilizan cultivares que, a pesar de no ser adecuados para el consumo en fresco, dan productos de alta calidad por sus características organolépticas. La composición de la pulpa del mango destinada a la elaboración de puré varía considerablemente según el cultivar que se trate, las prácticas de agricultura, el clima, el estado de madurez al momento de la cosecha, su almacenamiento y manejo posterior. Estos factores afectan la calidad de la fruta fresca y consecuentemente, la calidad del producto final.

En la mayoría de las áreas de producción, los mangos alcanzan la mejor calidad de consumo cuando se dejan madurar en el árbol. No obstante, los mangos son usualmente cosechados en estado verde-maduro y los índices de madurez de cosecha actualmente usados se basan en un balance entre aquellos que asegurarían la mejor calidad de consumo y los que proveen la flexibilidad requerida durante el mercadeo.

La cosecha en las plantaciones comerciales necesita de gran cuidado en la selección de los frutos maduros; siendo el método más seguro la observación del color verde y la determinación del momento en que éste pasa al verde claro y al amarillo. También el cambio del color de la pulpa del amarillo verdoso al amarillo o al anaranjado. Uno de los principales problemas para el proceso es obtener una maduración uniforme en toda la fruta.

Para la elaboración del puré de mango se deben seleccionar los frutos, teniendo en cuenta que la fruta esté sana, sin ataque de insectos ni daños mecánicos, con color y textura uniformes y característicos del fruto, 10 °Brix como mínimo y pH entre 3,5 y 4,0. Se los debe mantener a 12 °C y manejarlos con cuidado para evitar daños o magulladuras.

Luego, los frutos deben ser lavados para remover suciedad, látex y cualquier elemento extraño antes de ser pelado. Se utilizan soluciones de agua clorada a fin de reducir la carga

microbiana, eliminar impurezas y suciedades del fruto. Luego se debe enjuagar para eliminar cualquier residuo de cloro que pudiera haber quedado.

Durante el pelado y trozado, se retira la piel, separa la pulpa de la semilla y reduce el tamaño del tejido. Es una operación que debe realizarse con cuidado, dado que la cáscara tiene un elevado contenido en polifenoles y su incorporación al puré puede generar sabores extraños. Se realiza en forma manual utilizando cuchillos con filo de acero inoxidable, o por otros métodos de pelado como el uso de lejía, congelado, agua caliente y vapor de agua, siendo estos dos últimos los más utilizados.

En algunas industrias se utiliza un despulpador con paletas que deja la semilla intacta. En este proceso, semillas, cáscaras y una gran parte de las fibras pueden ser separadas de la pulpa semilíquida por centrifugación o presionando a través de una serie de mallas de 0,8 a 0,5 mm de diámetro de poro. El uso de una malla adicional para finalizar de un poro de diámetro menor a 0,5 mm remueve prácticamente todas las fibras y hace que el puré sea más fluido y fácil de ser tratado térmicamente. La cantidad de puré que se obtiene por fruto depende del grosor de la cáscara y el tamaño de la semilla y generalmente representa un 70% del peso del fruto.

Posteriormente se aplican tratamientos de preservación a fin de evitar el deterioro del producto. El deterioro de un alimento es toda modificación del mismo por causas microbiológicas, enzimáticas o químicas que, de acuerdo a los hábitos, costumbres y preferencias individuales, hace que no resulte apropiado para el consumo humano.

Si bien algunos alimentos alterados pueden no representar inicialmente un riesgo para la salud, al estar modificadas sus características organolépticas no son apetecibles para los consumidores. La calidad de los productos depende de la preservación de su color, flavor, aroma y apariencia general durante el procesamiento y distribución.

1.5.1. Características organolépticas

Las pérdidas de calidad sensorial de los alimentos se producen antes que su deterioro microbiológico. En el caso de productos a base de frutas se deben principalmente al desarrollo de colores anormales, tales como el pardeamiento o decoloración y la aparición de “off-flavors”.

El análisis sensorial es muy importante durante el desarrollo de un producto y la evaluación de su calidad durante el almacenamiento (Giménez y col., 2012). Los estudios que se realizan con un panel entrenado permiten determinar los cambios que afectan los atributos sensoriales durante las diferentes etapas de producción y el almacenamiento. Para ello se requiere realizar varias sesiones de entrenamiento con los evaluadores para generar los descriptores y acordar los puntajes a fin de lograr un panel capaz de evaluar al producto.

El proceso sensorial se inicia ante un estímulo que actúa sobre los receptores sensoriales. El impulso nervioso generado por el receptor sensorial se transmite por el sistema nervioso al cerebro que lo interpreta como sensación y la toma de conciencia de esa sensación es la percepción.

Los atributos de un alimento se perciben en el siguiente orden: apariencia, aroma, textura y sabor. La apariencia es el primer atributo que evalúa el consumidor, en el que se basa la decisión de compra o ingesta. El aroma de un producto se detecta cuando sus componentes volátiles entran en la cavidad nasal y se perciben por el sistema olfatorio, dependiendo de la temperatura y naturaleza de los componentes. El gusto es detectado por los receptores gustativos que se distribuyen en la lengua y sus papilas, en el paladar y en la faringe. La textura es un conjunto de características de un producto capaces de estimular los receptores mecánicos y táctiles de la boca durante la degustación. El sabor o flavor define una sensación compleja que se obtiene por la estimulación de los órganos de varios sentidos en la boca, que incluyen gusto, olfato y sensaciones químicas.

Los atributos positivos del puré de mango incluyen el aroma y flavor frutal y a fresco, y el color amarillo, mientras los atributos negativos se definen como flavor oxidado o cocido, aroma a cocido o caramelizado y color pardo. Por otra parte, en estudios realizados por el Grupo de Desarrollo de Productos Tropicana se encontró una correlación directa entre la evaluación de la aceptabilidad global del puré de mango y su color (Greenberg y col., 2008).

El color es considerado por algunos autores como un método real de la medida de defectos del puré de mango, tales como el pardeamiento y los cambios de flavor, que estarían relacionados con los cambios durante el almacenamiento (Greenberg y col.; 2008).

Para muestras de néctar de mango, Silva Cadena y col. (2013) utilizaron los descriptores apariencia, que evaluaba en conjunto el color, la viscosidad, el brillo y la presencia de

partículas; aroma, flavor y textura, siendo el aroma ácido el descriptor limitante de la vida útil del producto almacenado en dichas experiencias.

Las mediciones instrumentales de color se pueden realizar con espectrofotómetros que miden la luz reflejada o transmitida en muchos puntos del espectro visible, resultando una curva característica única para cada muestra de color. También se utilizan los colorímetros, que son dispositivos triestímulo que usan filtros rojo, verde y azul para emular la respuesta del ojo al color y la luz.

Cada color tiene su propia apariencia basada en el tono, matiz o hue; luminosidad o brillo y croma o saturación. Al describir un color con estos tres atributos se lo identifica con precisión y permite distinguirlo de cualquier otro. El tono es la percepción del color del objeto: rojo, anaranjado, verde o azul. El croma describe lo llamativo o apagado de ese color, su proximidad del gris o del tono puro. La luminosidad o grado de claridad permite comparar los colores en el rango de tenues a oscuros. Un observador promedio distingue primero las diferencias de tono, luego de croma y finalmente de luminosidad.

La Comisión Internacional de la Iluminación (CIE) es la institución responsable de las recomendaciones internacionales para la fotometría y colorimetría. En 1931 estandarizó los sistemas de orden de color especificando las fuentes de luz, el observador y la metodología utilizada para encontrar los valores para la descripción del color.

Los sistemas CIE utilizan tres coordenadas para ubicar un color en un espacio, que incluyen el CIE L^* a^* b^* . El L^* define la claridad, a^* el valor rojo-verde y b^* el valor amarillo-azul. El eje a^* va de izquierda a derecha y una medición de a^* positivo muestra el desplazamiento hacia el rojo. El eje b^* va de arriba hacia abajo y un desplazamiento hacia b^* positivo representa un cambio hacia el amarillo. El eje L^* muestra $L=0$ para el negro o absorción total. El tono se determina como el $\arctang b^*/a^*$ y $croma = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})}$.

El cálculo de la diferencia de color total ΔE^* permite analizar la diferencia o igualdad de un color al compararlo con una referencia, mide la magnitud del cambio. Se determina mediante la fórmula $\Delta E = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$.

Limbo y col. (2006) lo propusieron como un método rápido y simple para estudiar el pardeamiento enzimático en papas prepeladas. Una de las escalas utilizadas para cuantificar las diferencias de color es la siguiente, si bien el ojo humano recién es capaz de notar cambios de color para valores de $\Delta E^* > 6$:

$\Delta E^* < 0,2$: diferencias no perceptibles

$0,2 < \Delta E^* < 0,5$: ligeras o muy pequeñas diferencias

$0,5 < \Delta E^* < 2$: pequeñas diferencias

$2 < \Delta E^* < 3$: diferencias moderadamente perceptibles

$3 < \Delta E^* < 6$: diferencias perceptibles

$6 < \Delta E^* < 12$: fuertes diferencias

$\Delta E^* > 12$: colores diferentes

Si bien esta escala es valiosa en términos generales, las diferencias de color percibidas dependerán del sistema alimentario considerado.

En rodajas de mango escaldadas con vapor, los parámetros L^* , b^* , tono y croma tuvieron mayores valores que en las rodajas sin tratamiento, mientras los valores de a^* y ΔE^* fueron inferiores, debido al pardeamiento desarrollado por estas últimas (Ndiaye y col.; 2009). Asimismo, en puré de mango procesado se determinaron pérdidas de L^* y del tono en los purés envasados asépticamente, con una tonalidad oscura y de color amarronado (Greenberg y col.; 2008).

Los cambios de color por pardeamiento en el mango afectan su calidad, siendo el espacio de color definido en las coordenadas (CIE $L^* a^* b^*$) el modelo de color más utilizado entre los indicadores físicos del pardeamiento, debido a la uniformidad de la distribución de los colores en el espacio (Yam y col.; 2004).

1.5.1.1. Alteraciones del color

El mango es un fruto que tiene un característico color amarillo debido a la presencia de los carotenoides, por lo que es deseable que los productos elaborados a base de mango tengan una coloración semejante. Sin embargo, el color puede ser afectado durante el procesamiento y/o el almacenamiento del fruto desarrollando colores pardos o disminuyendo su color amarillo por blanqueamiento.

Las enzimas oxidativas polifenoloxidasas (PPO, EC 1.14.18.1) y peroxidasa (POD, EC 1.11.1.7) son reconocidas como las enzimas responsables de las reacciones de pardeamiento enzimático en mangos. Ambas enzimas se encuentran en las células en compartimientos separados de los sustratos, pero una vez que el tejido es dañado, pelado o se rompen las membranas, se ponen en contacto entre sí y se originan las reacciones de pardeamiento, dando colores pardos y compuestos con flavor indeseable (figura 1.3). Asimismo, debido a la termoestabilidad de estas enzimas se las podría utilizar como indicadores tecnológicos.

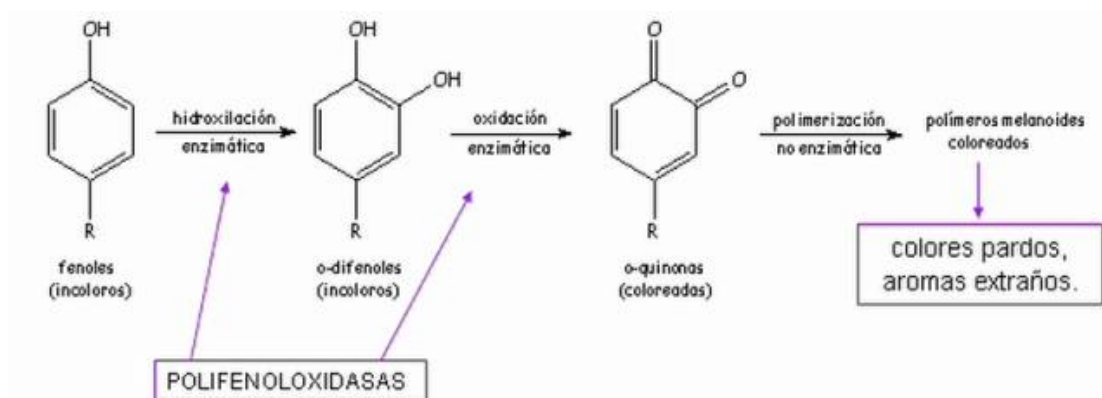


Figura 1.3. Acción de la PPO sobre los compuestos fenólicos.

La PPO del mango es una enzima que contiene cobre en su grupo prostético y está asociada a la transformación de los compuestos fenólicos en quinonas y otros productos de polimerización. Interviene en la hidroxilación de los monofenoles y la oxidación de los o-difenoles a o-quinonas (Tomás-Barberán y col., 2001). Está involucrada en los procesos de reparación de tejidos, defensa ante microorganismos patógenos y muchos otros procesos celulares, entre ellos, el control de los niveles de oxígeno en los cloroplastos (Constabel y col., 1995; Mayer, 2006).

Cheema y col. (2015) encontraron que extractos crudos de mango cv "Ataulfo", tienen actividad PPO con el pirogalol, 3-metilcatecol, catecol, ácido gálico y protocatéquico. En la pulpa de mango el ácido gálico presente es el sustrato de la PPO, mientras en la piel el sustrato es el ácido eláxico (Prabha y col., 1986). El rango de pH óptimo para estos sustratos es de 5,4 a 6,4 y el ascorbato de sodio, glutatión y ácido kójico podrían ser inhibidores efectivos del pardeamiento. Asimismo, se vio que la actividad PPO se incrementa durante la maduración del fruto y siempre es superior en la piel respecto de la pulpa. Se encontraron

niveles de actividad PPO en extractos crudos de rodajas de mango de 840 UAbs.mL⁻¹.min⁻¹ (Ndiaye y col., 2009).

La POD tiene varias isoenzimas, una de ellas con alta termoestabilidad, la cual es responsable de la oxidación de un gran número de compuestos en presencia de peróxido de hidrógeno. Esta enzima puede producir un gran número de reacciones separadas, teniendo un grado de versatilidad muy alto respecto de otras enzimas. Puede intervenir en reacciones peroxidativas, utilizando un sustrato oxidante y otro reductor (figura 1.4). Además, esta enzima está relacionada con el desarrollo de off-flavor en productos congelados (Yemenicioğlu y col., 1999). En mangos se determinaron actividades de POD en un rango de 0,37 a 4,15 UAbs.mL⁻¹.min⁻¹ en variedades comercializadas en China o “Chaunsa” (Ndiaye y col., 2009; Sugai y col., 2006).

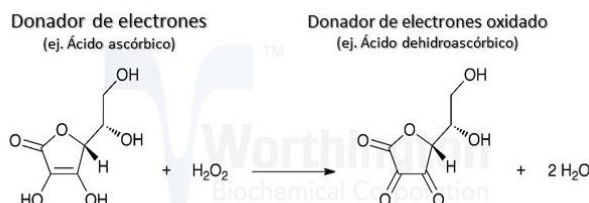


Figura 1.4. Acción de la peroxidasa frente a un compuesto donador de electrones.

(Tomado de Worthington Biochemical Corporation, NJ, USA).

Por otra parte, existe entre PPO y POD una actividad sinérgica debida a la generación de peróxido de hidrógeno durante la oxidación de los compuestos catalizados por la PPO (Sugai y col., 2006; Tomás-Barberán y col., 2001).

Otros cambios de color que pueden ocurrir se deben al pardeamiento no enzimático, fenómeno conocido que tiene lugar durante el procesamiento a altas temperaturas y el almacenamiento de los alimentos. Consiste en la formación de melaninas y otros compuestos pardos o marrones debido a la reacción entre los grupos carbonilos de los azúcares reductores y grupos amino de los aminoácidos o proteínas (reacciones de Maillard). También participan los productos de degradación del ácido ascórbico o azúcares, como el furfural y el 5-hidroximetilfurfural. Es el principal problema de calidad de muchos productos

concentrados de vegetales, se origina una pérdida de nutrientes y formación de compuestos indeseables. Manayay Sanchez y col. (2014) modelaron la cinética de evolución del hidroximetilfurfural durante el tratamiento térmico de la pulpa de mango concentrada cv. "Haden" y "Kent". La pulpa fue tratada a temperaturas entre 80 y 98 °C en un rango de 0 a 240 minutos, y determinaron que el contenido de HMF tiende a incrementarse a mayor tiempo y temperatura de tratamiento térmico, y esta evolución es descripta de manera indistinta por una cinética de primer orden o auto catalítica de segundo orden. Del mismo modo, Rattanathanalerk y col. (2005) hallaron la misma tendencia de aumento lineal para el HMF en jugo de ananá tratado de 55 a 95 °C durante 80 minutos.

Además, los productos a base de mango pueden sufrir pérdida del color amarillo o un blanqueamiento debido a la oxidación de los carotenoides del fruto, con lo cual el color resultante es una mezcla de las diferentes reacciones que tuvieron lugar (Gómez, 2013; Meléndez-Martínez y col., 2004; Ramos Parra, 2006).

1.5.2. Aspectos microbiológicos

La microbiología de los productos derivados de frutas está basada en los microorganismos capaces de representar un riesgo para la estabilidad o la inocuidad de los mismos. Los microorganismos presentes en los jugos dependerán de varios factores, siendo algunos los métodos utilizados para su preservación, las condiciones de almacenamiento y el uso que le dará el consumidor o la industria, dado que puede ser utilizado como ingrediente en una formulación.

Los jugos de frutas pueden ser contaminados por una gran variedad de microorganismos y por varias vías. Además, los microorganismos pueden presentar diferentes características, comportamientos y respuestas a las condiciones ambientales encontradas en los productos, poniendo en riesgo a los consumidores o la estabilidad del jugo. Tienen un potencial redox en el rango de 300 a 400 mV, lo cual indica la disponibilidad de oxígeno libre para los microorganismos aeróbicos (Tapia y col., 1996). Es por ello que la supervivencia y crecimiento de bacterias aerobias y mohos es alta, siendo los principales grupos responsables del deterioro.

Los microorganismos de deterioro en los jugos de fruta ácidos se consideran

pertenecientes a 2 grupos: las bacterias acidúricas y los mohos y levaduras, siendo los indicadores más importantes de calidad de la materia prima. Al día de hoy las bacterias *Alicyclobacillus* spp son consideradas emergentes en estos productos. (Tribst y col., 2009). Tradicionalmente las bacterias lácticas fueron consideradas como los microorganismos más importantes de deterioro en productos ácidos, generan off-flavor, acidez, CO₂ y etanol en los jugos. Pueden aparecer en jugos no pasteurizados y la carga se reduce durante el lavado de los frutos con sanitizantes. Las levaduras son capaces de crecer en condiciones de bajo pH, alto contenido de azúcares y temperaturas de refrigeración. Su desarrollo deteriora los jugos produciendo CO₂ y alcohol, aumentando la turbidez y provocando floculación y separación de fases debido a la acción de enzimas microbianas (Jay y col.; 2001). Los mohos son generalmente aerobios, toleran acidez y desarrollan en ambientes con alto contenido de azúcares. Pueden producir gas, cambios de olor y desarrollar micelios.

En todo proceso de preservación, es necesario establecer el microorganismo “target” considerado como “patógeno pertinente”, el cual se define de acuerdo al tipo de alimento. En jugo de naranja se considera a *Salmonella* spp. como el “patógeno pertinente”, mientras en jugo de manzana la *E. coli* y el *Cryptosporidium* son considerados más apropiados. Para otros jugos que nunca estuvieron involucrados en brotes la *Listeria* es el microorganismo “target” (Tribst y col., 2009).

En frutos o jugos de frutas los brotes de enfermedades o problemas de deterioro se empezaron a reportar en los últimos 25 años. En estos episodios, estuvieron involucrados patógenos como *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp y *Cryptosporidium parvum* y microorganismos alterantes como los *Alicyclobacillus acidoterrestris* (Tribst y col., 2009). Antes de la década de 1980 y la aparición de brotes de enfermedades en jugos de frutas, se pensaba que con jugos de bajos valores de pH (< 4,5) no se observaría desarrollo de patógenos y su supervivencia, aunque fuera posible, sería improbable. Sin embargo, una de las primeras alertas se activó cuando se produjo un brote de *E. coli* O157: H7 por consumo de jugo de manzana en USA (CDC, 1996) y jugo de naranja contaminado con *Salmonella* (Cook y col., 1998), dado que los jugos no sólo tienen buenas condiciones para la supervivencia de los microorganismos sino también para su desarrollo.

Para todos los frutos, excepto los citrus, se considera que la carga microbiana del jugo luego de la etapa de extracción del jugo debe ser reducida en 5 ciclos log por el tratamiento aplicado (FDA, 2004).

En estudios realizados para evaluar la presencia de patógenos en frutos frescos como mangos, naranjas y duraznos (Abadias y col., 2008) o jugos de fruta como el de naranja (Oliveira y col., 2006) se encontró una baja incidencia o ausencia de este tipo de microorganismos. Por otra parte, en pulpa de mangos africanos almacenada a temperatura ambiente en contenedores de plástico cerrados herméticamente se observó a los 3 días desarrollo de mohos, un color amarillo oscuro y la pérdida del aroma a frutal y fresco (Benhura y col., 2012).

En jugos de mango frescos recién exprimidos, Santhirasegaram y col. (2015) determinaron una carga de 2,74 log UFC/mL de bacterias aerobias, 1,00 log UFC/mL de coliformes y los recuentos de mohos y levaduras fueron de 2,42 log UFC/mL. En jugos de mango pasteurizados a más de 80 °C durante 3 minutos comercializados en Bangladesh, se determinaron recuentos de bacterias aerobias totales de 1,10 a 3,10 log UFC/mL (Amin, 2015). Keyser y col. (2008) informaron recuentos iniciales de 1,4 y 2,8 log UFC/mL de bacterias aerobias y mohos y levaduras respectivamente en néctar de mango recientemente preparado. Por su parte, Massaguer y col. (2006) aislaron 8 cepas de *Aspergillus niger* en 50 muestras de néctar de mango brasileño tratados a 100 °C durante 15 minutos, indicando la existencia ocasional de cepas resistentes al calor.

1.6. Métodos de preservación

1.6.1. Tratamientos térmicos

Uno de los objetivos del procesamiento de los alimentos es incrementar su vida útil, previniendo el desarrollo microbiano y las reacciones enzimáticas responsables de su deterioro. Los tratamientos por calor son los más comunes, pero suelen tener efectos adversos en la calidad nutricional y sensorial (Manas y col., 2005; Raso y col., 2003; Henry, 1997), siendo más notorios cuanto mayor es la intensidad del tratamiento. Es así como puede tener lugar la aparición de aromas y sabores extraños, modificaciones del color, pérdida de

compuestos nutricionales o cambios de textura.

En jugos de ananá tratados térmicamente entre 55 y 80 °C se determinaron pérdidas en el contenido en carotenoides, en el caso de mamón esterilizado a 95 °C durante 45 minutos se informaron disminuciones de carotenoides y ácido ascórbico, y en jugos de ñangapiry y castaña de cajú pasteurizados industrialmente la quercetina, kaempferol y miricetina fueron afectados (Rawson y col., 2011). Es numerosa la bibliografía referida al efecto de la aplicación de tratamientos térmicos sobre los compuestos bioactivos presentes en productos derivados de frutas, y a continuación se reúnen en la Tabla 1.1 y en la figura 1.5. algunos de ellos.

En el procesamiento del mango en las plantas industriales para la elaboración del puré o néctar se utilizan los tratamientos por calor, ya sea para realizar el pelado por vapor, inactivar térmicamente las enzimas endógenas y pasteurizar el producto. El pelado utilizando vapor o agua caliente es un método que facilita la separación del tejido externo de la pulpa del fruto, y es elegido antes que el uso de cuchillas mecánicas o el pelado manual. Por otra parte, la inactivación térmica de las enzimas oxidativas después de la desintegración de la pulpa es indispensable para prevenir el pardeamiento en el procesamiento de los mangos maduros. Además las peroxidasa tiene formas termorresistentes que eventualmente contribuyen a la formación de productos de oxidación capaces de oxidar un amplio rango de moléculas donadoras de hidrógeno, provocando una decoloración indeseable en los purés de mango y sus bebidas. Por último con la pasteurización se logra la estabilidad microbiana del producto. (Vásquez-Caicedo y col., 2007).

El uso de las altas temperaturas produce en las poblaciones microbianas un progresivo y ordenado descenso de su tasa de crecimiento debido a la inactivación de las células, tanto más elevado cuanto más extenso es el tiempo de exposición. La termorresistencia de los microorganismos es dependiente del tipo de microorganismos, número de células existentes, fase de crecimiento en que se encuentran y las condiciones del medio en el que se efectúa el calentamiento.

Las esporas bacterianas son muy resistentes a las temperaturas extremas y algunas pueden sobrevivir a tratamientos de varios minutos a 120 °C y de horas a 100 °C. Sin embargo, la mayoría de las formas vegetativas, al igual que las levaduras y mohos son eliminadas a 70-80 °C durante unos minutos y ninguno resiste más que algunos segundos a

100 °C.

Por otra parte, una alta carga microbiana inicial del alimento provocará un aumento del tiempo de proceso para alcanzar un determinado valor de reducción de la población. Asimismo, el tipo de microorganismo presente en un alimento depende del pH y de la actividad de agua. En los alimentos ácidos, de pH igual o inferior a 4,5, los microorganismos capaces de crecer son eliminables por una pasteurización suave.

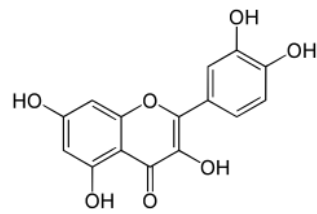
Las enzimas son catalizadores esenciales en numerosas reacciones del metabolismo de las plantas, lo que hace que sean las principales responsables de la pérdida de calidad de los vegetales. Para obtener alimentos de buena calidad y larga vida útil deben ser inactivadas, siendo el tratamiento térmico el método más utilizado para ello. La efectividad del tratamiento térmico en la inactivación enzimática depende de las variables de tratamiento: tiempo de exposición, temperatura y pH, la composición del alimento y el tipo de enzima. Ndiaye y col. (2009) informaron que los tratamientos de escaldado con vapor aplicados a rodajas de mango durante 5 y 7 minutos fueron capaces de inhibir totalmente la actividad de la POD y PPO.

Aunque se realizan tratamientos térmicos para prolongar la vida útil deseada de purés y concentrados, estos pueden afectar sus propiedades nutricionales, reduciendo el contenido de carotenoides con actividad pro-vitamina A, particularmente el all-trans- β -caroteno. El β -caroteno es oxidado en presencia de radicales libres, produciendo epóxidos, y compuestos hidroxilados o carbonilos, además de compuestos de bajo peso molecular como la β -ionona, la 5,6-epoxi- β -ionona y el dihidroactinodiolido, frecuentemente asociado con notas frutales, florales o de madera (Vásquez-Caicedo y col., 2007). Aunque los carotenoides están estabilizados en la matriz del tejido vegetal, su ruptura favorece la exposición al oxígeno y enzimas oxidativas endógenas provocando su oxidación (Rodríguez-Amaya, 2001).

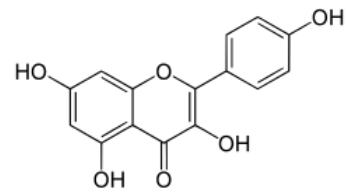
Tabla 1.1. Cambios en compuestos bioactivos de productos derivados de frutas exóticas
(Adaptada de Rawson y col., 2011).

Fruto	Tipo	Condiciones de tratamiento	Parámetros afectados	Referencias
Açaí (Euterpe oleracea)	Puré	80 °C por 1, 5, 10, 30 y 60 minutos.	(↔) Polifenoles no antocianicos	Pacheco-Palencia y col., 2009.
Açaí (Euterpe precatoria)	Puré	80 °C por 1, 5, 10, 30 y 60 minutos.	(↓) Antocianinas	
Cacao blanco	Néctar	60-99 °C por 0-240 minutos.	(↓) Ácido ascórbico (↓) Ácido dehidroascórbico	Vieira y col., 2000.
Mango	Puré	85 y 93 °C por 16 minutos.	(↓) Vitamina A, (↓) PPO, (↔)POD residual	Vásquez-Caicedo y col., 2007.
Tomate de árbol	Néctar	Pasteurizado a 80, 90 y 95 °C por 10 minutos		Mertz y col., 2010.
		Desgasificado	(↔) Ácido ascórbico, (↓)ácido dehidroascórbico (↔) carotenoides totales	
		No desgasificado	(↓) Ácido ascórbico, (↓)ácido dehidroascórbico (↔) carotenoides totales	
Ananá	Jugo	55-95 °C por 80 minutos	(↑) HMF, (↓) carotenoides	Rattanathanalerk y col., 2009.
Acerola	Jugo/Pulpa	Pasteurizado industrialmente	(↓) Quercetina, (↓) kaempferol	Hoffmann-Ribani y col., 2009.
Ñangapiry	Jugo/Pulpa	Pasteurizado industrialmente	(↓) Quercetina, (↓) kaempferol (↓) Miricetina	Hoffmann-Ribani y col., 2009.

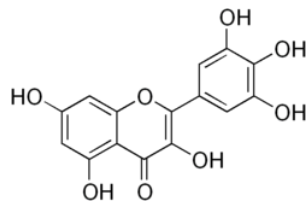
Referencias: (↓) disminución del nivel, (↑) aumento del nivel, (↔) sin cambios en el nivel.



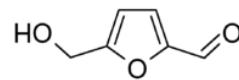
Quercitina



Kaempferol



Miricetina



Hidroximetilfurfural

Figura 1.5. Compuestos bioactivos presentes en productos derivados de frutas.

Los isómeros *cis*- β -caroteno están presentes naturalmente en los mangos, sugiriéndose que la exposición a la luz y el calor podría propagar la isomerización *trans*-*cis*, habiéndose informado la presencia de 13-*cis*- y 9-*cis*- β -caroteno. Este último compuesto se encontró en frutos de mango secos al sol debido a la isomerización foto inducida a temperaturas intermedias (60-62 °C) (Pott y col., 2003). Los carotenoides tienen diferente estabilidad térmica y la sensibilidad del color del mesocarpio difiere entre variedades dependiendo del patrón de carotenoides del fruto fresco. Los carotenoides están parcialmente disueltos en gotas de lípidos y la relativamente alta estabilidad del β -caroteno se debe al efecto protector de la matriz, lo cual puede estar parcialmente asociado al alto contenido en pectinas y fibra, además, los tratamientos térmicos incrementan la biodisponibilidad, lo cual compensa la pérdida por calentamiento (Vásquez-Caicedo y col., 2007).

Vásquez-Caicedo y col. (2007) aplicaron tratamientos térmicos entre 85 y 93 °C con tiempos de exposición inferiores a los 16 minutos al puré de mango (cv. "Tommy Atkins") y

encontraron una significativa isomerización trans-cis del β -caroteno, la pérdida de vitamina A no superó el 15,4%, reteniendo un 93% del contenido de β -caroteno inicial. Asimismo, la actividad PPO fue totalmente inhibida luego de 1 minuto de tratamiento, pero se detectó una actividad residual de la POD del orden del 4 al 6,3%. Godoy y col. (1987) informaron una retención del 87 y 62% del β -caroteno y la α -criptoxantina en puré de mango enlatado o embotellado, calentado a 80 °C durante 10 minutos y posterior inmersión en agua caliente de las latas en agua hirviendo durante 20 minutos.

En puré de mango tratado por pasteurización a 80-90 °C almacenado a 25-30 °C en envases de plástico herméticos se mantuvo un color amarillo pálido durante 4 días, observó desarrollo de mohos y perdió el aroma a fresco. Sin embargo, al combinar el tratamiento térmico con la adición de conservantes químicos se prolongó el periodo de almacenamiento llegando a los 21 días, aunque el color se volvió pardo amarillento y los productos tenían un olor a cocido (Benhura y col., 2012).

Ledeker y col. (2014) efectuaron un análisis de los atributos sensoriales de puré de mango tratado térmicamente a 85 °C durante 15 segundos y observaron un aumento del sabor a caramelizado en la mayoría de los cultivares analizados, lo cual podría deberse a compuestos aromáticos como acetilfurano y el 5-metil furfural.

Por su parte, Santhirasegaram y col. (2015) en jugo de mango cv. "Chokanan" determinaron que el tratamiento a 90 °C durante 30 y 60 segundos modificó los caracteres organolépticos, recibiendo puntajes por debajo del límite de aceptabilidad. En estos jugos tanto el olor como el color y sabor recibieron calificaciones de "disgusto" en grado moderado y ligero respectivamente. Los cambios en los atributos sensoriales pueden haberse originado como resultado de reacciones de pardeamiento no enzimático, las cuales producen un incremento en el grado de oscurecimiento y contribuyen al desarrollo de off-flavors en muchos productos (Tiwari y col., 2009).

1.6.2. Tratamientos con luz UV-C

En la actualidad los consumidores demandan alimentos que, además de ser sabrosos, saludables y microbiológicamente seguros, sean lo más "natural" posible, frescos y que sean

producidos de modo amigable con el ambiente. Además, es cada vez mayor el rechazo hacia alimentos adicionados de productos químicos (Koutchma y col., 2009).

La irradiación con luz ultravioleta es un método físico de preservación de alimentos, de aplicación relativamente reciente y buena aceptación entre los consumidores (Koutchma y col., 2009). Tiene las ventajas de no aumentar excesivamente la temperatura del producto, no provoca pérdidas de agua ni genera sustancias tóxicas, es de bajo costo y sus requerimientos de seguridad son mínimos (uso de anteojos, guantes y guardapolvos protectores de la exposición directa de la vista o piel). Además se ha comprobado su capacidad para inactivar compuestos tóxicos como la patulina y degradar pesticidas (Dong y col; 2010).

Las longitudes de onda de la radiación UV abarcan desde los 100 a 400 nm, correspondiendo las longitudes de onda entre 200 y 280 nm a la radiación UV-C. La luz a 254 nm de longitud de onda es germicida, efectiva contra microorganismos incluyendo a bacterias, hongos filamentosos, levaduras, virus, protozoos y algas, dado que produce la inhibición de la replicación del ADN sin utilizar compuestos químicos (Keyser y col., 2008). Esta radiación es absorbida por el ADN y el ARN, induciendo el entrecruzamiento de bases pirimidínicas vecinas en el ADN, bloqueando la transcripción y replicación microbiana, causando eventualmente la muerte celular (Guerrero-Beltrán y col., 2006). Asimismo, la radiación UV-C podría afectar las proteínas alterando sus funciones básicas dentro de la célula.

La luz UV-C se utiliza en tratamientos para la desinfección del aire, superficies y agua para beber. Uno de los inconvenientes que tienen estos tratamientos es la baja penetración de la radiación, la cual es afectada por la presencia de solutos y partículas presentes que disminuye la energía incidente (Koutchma y col., 2009).

En el año 2000, la Food and Drug Administration (FDA) autorizó el uso del tratamiento con luz UV-C como un método de pasteurización de jugos. Para ello, se debe lograr una disminución de 5 ciclos log de los patógenos de riesgo durante el tratamiento en un sistema de flujo turbulento. Es considerada una tecnología emergente de pasteurización (Koutchma y col., 2009).

En jugos de frutas se estudió el efecto de la luz UV-C sobre la flora normal y la carga de microorganismos inoculados, pero el efecto sobre las enzimas alterantes (oxidases,

estearasas) aún está poco analizado (Fredericks y col., 2011; Lu y col., 2010; Koutchma y col., 2009; Forne y col., 2004; Tran y col., 2004).

La aplicación de radiación UV-C a jugos de naranja en un rango de irradiación entre 0,230 a 1,607 kJ/L, fue efectiva para el control de la carga microbiana y eliminación de patógenos (Keyser y col., 2008; Oteiza y col., 2008). Por otra parte, Tran y col. (2004) determinaron una mayor resistencia de mohos y levaduras respecto de las bacterias en jugos de naranja tratados con UV debido a la estructura del ADN y el espesor de su pared celular. Farid y col. (2001) observaron que el jugo de naranja tratado con dosis de 214,2 W/m² no tenía cambios en el color y sabor y duplicó el tiempo de almacenamiento.

Los tratamientos de UV-C realizados con reactores comerciales demostraron su efectividad en reducir 5,72 ciclos log de *E. coli* ATCC 25922 inoculada a jugos de naranja (Pala y col.; 2013). Un efecto similar se reportó en una solución de caramelo inoculada con *E. coli* K12 (Koutchma y col., 2007) al igual que en jugo de manzana inoculado con *E. coli* ATCC 25922 (Donahue y col., 2004).

Caminiti y col. (2012) determinaron una reducción de 4,59 log UFC/mL de *E. coli* K 12 y *Listeria innocua* en jugos de manzana tratados con UV-C con dosis de 2,66 J/cm², desarrollando menos pardeamiento que los jugos no tratados. Pala y col. (2011) encontraron disminuciones de 6,15 log UFC/mL de *E. coli* para dosis de 34,4 J/mL en jugo de granada sin detectar cambios en el contenido en antocianinas.

Por otra parte, se encontraron reducciones en los recuentos de levaduras del orden de 2,42 y 2,70 ciclos log en jugos de pomelo y néctar de mango respectivamente cuando fueron tratados por radiación en un sistema continuo (Guerrero-Beltrán y col., 2009, 2006). Algo similar se observó en jugos de manzana y uvas tratados con luz UV-C, en los cuales se alcanzó una reducción de 2 ciclos log de bacterias aerobias totales y de mohos y levaduras luego de aplicar dosis de 100,47 kJ/L. En estos últimos jugos, la actividad residual de la PPO se redujo al 15,8% y 60,9% respectivamente (Müller y col., 2014).

Keyser y col. (2008) trabajaron un sistema de flujo turbulento para el tratamiento de néctares de mango y de frutilla y jugos de manzana y mezcla de guayaba y ananá con dosis de UV-C en un rango de 0 a 2066 J/L, y obtuvieron una reducción de la carga microbiana a niveles aceptables manteniendo un color y sabor similar a las bebidas tratadas

térmicamente. Los productos más claros como los de manzana requirieron de menores dosis de tratamiento que los que contenían mayor cantidad de solutos en suspensión.

Falguera y col. (2013, 2011) encontraron una reducción en la actividad de PPO en jugo de manzana y uva, la cual fue afectada por la presencia de melanina cuando se trataron sistemas buffer modelos. Por otra parte, en estudios realizados para inactivar la PPO de hongos, se determinó que dosis de $4,8 \text{ J/cm}^2$ provocaron pérdidas del 90% de la actividad y que no hubo reactivación durante el almacenamiento. Asimismo, el efecto inhibitorio se ve incrementado ante la presencia de fructosa y bajos valores de pH (3,8), aunque disminuye al aumentar el número de partículas en suspensión debido a la dispersión (scattering) de la radiación (Haddouche y col., 2015).

En jugos de sandía se encontró que los tratamientos con luz UV-C reducían la actividad de la pectinmetilesterasa, así como también en otros frutos enteros y productos derivados (Zhang y col., 2011; Pombo y col., 2009; Manzocco y col., 2009). En bebidas a base de zanahoria no se percibieron diferencias organolépticas entre los productos tratados con UV-C y sin tratamiento (Hernández-Carranza y col., 2016), aunque la aplicación de dosis de radiación superiores a $10,62 \text{ J/cm}^2$ a jugos de manzana produjeron efectos adversos en el color y flavor (Caminiti y col., 2012).

La energía requerida para lograr la inactivación microbiana y enzimática depende del producto (tipo y composición), de la sensibilidad a la luz UV-C de los microorganismos (estructura, composición y espesor de la pared celular, estructura de los ácidos nucleicos, capacidad de reparación del daño, cepa, estado fisiológico, etc.) y de las enzimas presentes. Los parámetros fisicoquímicos, como la absorptividad del producto, pH, sólidos solubles, otros componentes y la carga microbiana pueden afectar la tasa de destrucción de microorganismos o la inactivación de las enzimas. (Keyser y col., 2008; Koutchma y col., 2009).

En base a lo anteriormente expuesto, la luz UV-C sería capaz de asegurar la inocuidad del producto, controlar los microorganismos alterantes y suprimir las reacciones de pardeamiento durante el almacenamiento refrigerado. Por lo tanto, la aplicación de luz UV-C es potencialmente apropiada para aumentar la vida útil de los productos a base de mango.

1.6.3. Tratamientos combinados

La combinación de tratamientos de preservación es una alternativa al uso de métodos tradicionales, con los cuales se busca alcanzar efectos similares pero minimizando la rigurosidad de los tratamientos. Dado que cada tecnología de preservación tiene una determinada forma de inactivación microbiana, se podría realizar una selección de los tratamientos aplicando el concepto de barreras. Leistner (2000) definió las tecnologías de barrera como una combinación de técnicas de preservación que pueden actuar en forma sinérgica en la destrucción microbiana, con el mínimo impacto en la calidad del producto.

Actualmente se propone la combinación de tratamientos no térmicos como las altas presiones, ultrasonido, luz UV-C con tratamientos térmicos menos rigurosos, de forma de potenciar los efectos y obtener un producto inocuo, estable microbiológicamente y con características organolépticas aceptables.

En jugos de naranja, tomate, mango y manzana, inoculados con microorganismos patógenos, se aplicaron tratamientos con luz UV-C, pulsos eléctricos, altas presiones, ultrasonido, combinados con tratamientos térmicos a temperaturas medias (Gayan y col., 2013, 2012; Espin y col., 2012).

En jugos de naranja inoculados con un cóctel de cepas patógenas de *E. coli*, incluida la O157:H7, tratados con dosis de luz UV-C de 23,72 J/mL y combinados con calor (55 °C durante 3,6 minutos) se determinó una reducción de 5 ciclos log, inactivación del 64% de la enzima pectin metil estearasa, disminución del 16,45% del contenido en ácido ascórbico y no se detectaron modificaciones en el pH, acidez, °Brix ni en el color del producto (Gayán y col., 2012). En experiencias con jugo de manzana, llevadas a cabo en iguales condiciones de tratamiento por el mismo grupo de trabajo, se tuvieron resultados similares, duplicándose la inactivación de la polifenoloxidasas al compararla con los tratamientos individuales (Gayán y col., 2013), observándose la acción sinérgica de los tratamientos aplicados. En jugo de ananá se observó una reducción del contenido de fenoles totales luego de la aplicación de tratamientos combinados UV-C + tratamiento térmico (Sew y col., 2014).

1.7. Envasado

El envasado es una de las etapas más importantes durante el proceso de la elaboración de alimentos. El envase es el encargado de mantener su calidad durante la distribución y

almacenamiento hasta el momento del consumo, previene su deterioro frente a los factores ambientales y contribuye con la distribución eficiente, las ventas y el consumo (Marsh y col., 2007).

El envase se diseña para contener y proteger al producto, proveer la información requerida al consumidor y hacer manejable el producto durante el transporte y la distribución. No debe ser tóxico y debe tener compatibilidad con el alimento, evitar la contaminación y la pérdida o absorción de humedad, ofrecer protección a la acción de la luz, resistencia ante el impacto, etc. (Marsh y col., 2007).

Como material de envasado se utiliza el papel (36%), plásticos (34%), vidrio (10%) y metales (20%), basando su elección en las propiedades y el tipo de producto a envasar. Adicionalmente se consideran la imagen en el mercado, el costo y el impacto ambiental que tiene su empleo.

Muchos tipos de papeles y cartones son utilizados en el envasado de alimentos, como envases primarios y son tratados, recubiertos o laminados para aumentar sus propiedades protectoras. Con respecto a los metales, se utilizan latas de acero estañadas o recubiertas de resinas, no siendo siempre totalmente resistentes a la corrosión. El vidrio es químicamente inerte, pero tiene el inconveniente de su fragilidad. En general, cuando se utiliza este tipo de envases, pueden ocurrir deterioros del color, flavor y la pérdida de ácido ascórbico. Con respecto a los plásticos, son numerosas las opciones, entre las que se pueden mencionar al polietileno, poliestireno, Nylon, polipropileno y cloruro de polivinilo, y son reconocidos por la FDA como aditivos indirectos. Sus propiedades son afectadas por la composición química de la materia prima y por el estado físico y las condiciones ambientales. Los polímeros son desarrollados teniendo en cuenta su resistencia química y resistencia al calor, permeabilidad alta, media o baja a los gases, permeabilidad al vapor de agua, resistencia a la abrasión y comportamiento mecánico y térmico, etc. Este tipo de envases tienen el inconveniente de una posible migración de componentes responsables del flavor (Rodríguez Peula, 2013; Smith, 2005).

Las bebidas a base de mango se venden bajo diferentes tipos de envases tales como botellas de vidrio, de polietilenterftalato y cajas de tetra-pack® (Hasan y col., 2014). En general, el envasado de los productos a base de mango se realiza en caliente.

Por otra parte, según la experiencia de los productores hindúes, los productos de mango son extremadamente sensibles al pardeamiento si no son envasados en latas recubiertas de estaño. En puré de mango hindú comercial envasado en latas de estaño, se encontró que el contenido en β -caroteno permaneció invariable durante los primeros 3 meses de almacenamiento, aunque mostró niveles de pardeamiento significativos. Este pardeamiento no estaría relacionado con la degradación del ácido ascórbico debido a que los contenidos de dicho compuesto fueron muy reducidos, inferiores a 1ppm (Greenberg y col., 2008). El puré de mango almacenado en latas a 4 y 32 °C tuvo una vida útil de 9 meses mientras que el puré envasado en bolsas asépticas no superó los 2 meses, siendo productos de una tonalidad más oscura y color marrón.

Vásquez-Caicedo y col. (2007) reportaron que el puré de mango envasado en botellas de vidrio tuvo una mejor retención de compuestos pro-vitamina A y del color al compararlo con el producto envasado en latas laqueadas.

Finalmente, se debe tener en cuenta que, los antecedentes respecto a las características de los frutos de mango y los distintos los tratamientos aplicados a los mismos a fin de ofrecer el producto como fruta fresca o derivados son muy numerosos. Sin embargo, no se cuenta con información acerca de los “mangos criollos”, los cuales son producidos por árboles silvestres en la región Nordeste del país. Estos frutos son altamente perecibles, con una vida útil de entre 7 a 14 días y son poco aprovechados debido a su alto contenido de fibras, a pesar de ser muy dulces y tener buen sabor. A su vez, en épocas de verano se generan toneladas de frutas en descomposición, las cuales atraen moscas y roedores, transformándose en un problema sanitario.

En base a lo anteriormente expuesto, se decidió realizar la caracterización del “mango criollo” y analizar su potencial aprovechamiento como subproducto en la industria alimenticia, aplicando tratamientos térmicos y de radiación UV-C como métodos de preservación.

1.8. Objetivos de la tesis

Objetivo general:

Estudiar el impacto de los tratamientos térmicos y la aplicación de la radiación UV-C en la calidad fisicoquímica, organoléptica y nutricional de los productos derivados del mango “criollo”, a fin de ofrecer una alternativa a la producción de interés regional.

Objetivos particulares:

- ✓ Conocer las características de la materia prima a utilizar.
- ✓ Analizar el efecto de la aplicación de los tratamientos térmicos sobre el color, la actividad de enzimas relacionadas, compuestos bioactivos y carga microbiana del puré de mango.
- ✓ Estudiar los cambios en el color, actividad de enzimas oxidativas, compuestos bioactivos luego de la exposición a la radiación de luz UV-C en puré/néctar de mango.
- ✓ Establecer las modificaciones en los caracteres organolépticos, color y enzimas oxidativas del néctar de mango tratado por una combinación de UV-C + tratamiento térmico
- ✓ Determinar la calidad organoléptica, nutricional y microbiana durante el almacenamiento refrigerado de los derivados de mango sometidos a diferentes tratamientos de conservación.

Capítulo 2

Materiales y métodos

2. Materiales y métodos

2.1. Material vegetal

Se trabajó con frutos de mango (*Mangifera indica* L.) conocidos como “mangos criollos”, producidos por árboles silvestres ubicados en los Departamentos Capital (27° 36' 67" S, 58° 16' 07" O) y San Cosme (municipios de Paso de la Patria, San Cosme y Santa Ana) de la Provincia de Corrientes, Argentina.

Los frutos maduros con piel de color amarillo, libres de daño y enfermedades se recogieron entre los meses de Enero a Marzo del 2008 a 2015. Se utilizaron frutos con un peso en promedio de $191,51 \pm 33,11$ g, dimensiones de los ejes mayor y menor de $7,641 \pm 0,504$ y $6,259 \pm 0,334$ cm respectivamente y $10,0 \pm 2,5$ °Brix.

Una vez en el laboratorio, los frutos se lavaron con abundante agua corriente retirando restos de tierra y hojas, sanitizaron con solución de NaClO 100 ppm durante 30 segundos y enjuagaron con agua potable. Posteriormente se retiraron manualmente las partes no comestibles del fruto, piel y carozo, trozaron y almacenaron a -18 ± 3 °C en lotes de 15 frutos por “pool” hasta el momento de su uso.

2.2. Caracterización de los frutos

Para realizar los análisis de caracterización, se realizó un muestreo del “pool” antes mencionado y trituró el tejido utilizando un procesador doméstico de 700 Watts de potencia (Phillips, Argentina) durante 2 minutos, obteniéndose un puré del material vegetal. Se determinaron contenido de agua, pH y acidez titulable, fibra bruta y fibra dietaria total, azúcares totales y reductores, actividad antioxidante, fenoles totales, flavonoides, pectinas totales, carotenoides totales, proteínas y perfil proteico.

2.3. Tratamientos de preservación

2.3.1. Tratamientos térmicos

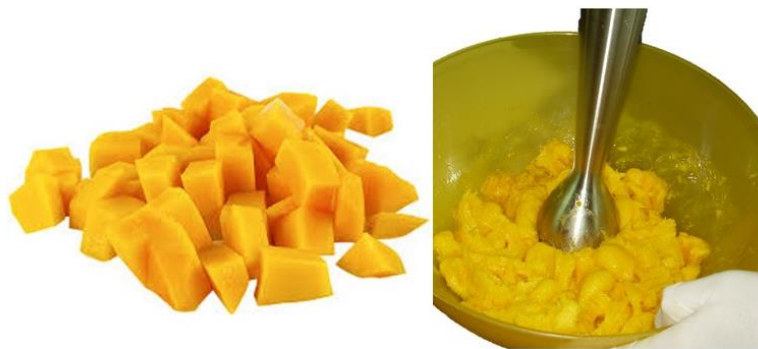


Figura 2.1. Pulpa de mango sin tratamiento, cortada en cubos y triturada con un procesador doméstico.

Para llevar a cabo los tratamientos térmicos se preparó el material vegetal según se describió en 2.2., y a fin de seleccionar las condiciones de aplicación de los tratamientos, se realizaron las experiencias preliminares que se detallan a continuación.

2.3.1.a. Tratamiento térmico en bolsas de polietileno

En primera instancia se realizó un ensayo para seleccionar el material de las bolsas a utilizar. Para ello se usaron bolsas confeccionadas en el laboratorio con polietileno de baja densidad, cerradas con una selladora de polietileno por impulso con corte (Lipari, Argentina) (bolsas A) y bolsas comerciales de polietileno con cierre a presión (bolsas B). Se dispusieron 100 g de puré de mango en cada bolsa y trató térmicamente por inmersión en baño de agua caliente a 90 °C hasta que la temperatura del punto frío del puré alcanzó el valor asintótico de equilibrio, determinándose el tiempo mediante un termómetro con sonda TES 1317R RTD data logger thermometer. Pt 385 (Taipei, Taiwan, R.O.C.).

A partir de estos ensayos se seleccionaron los envases de polietileno preparados en el laboratorio (bolsas A) dada su mejor disponibilidad y aseguramiento de provisión de la película.

Se realizó un ensayo a temperatura ambiente de los purés tratados a 75, 80, 85 y 90 °C durante 1, 5, 10 y 15 minutos evaluando los cambios de color superficial.

2.3.1.b. Tratamiento térmico en frascos de vidrio con tapa a rosca de hojalata

Se llevó a cabo un ensayo para determinar el tiempo necesario para que el punto frío del puré de mango alcance la temperatura de tratamiento seleccionada. Para ello, 35 g de puré de mango se envasaron en frascos de vidrio, trató térmicamente por inmersión en baño de agua caliente a 90 °C hasta que la temperatura del punto frío del puré alcanzó el estado de equilibrio, determinándose el tiempo mediante un termómetro con sonda TES 1317R RTD data logger thermometer. Pt 385 (Taipei, Taiwan, R.O.C.).

A partir de los resultados obtenidos en las experiencias preliminares, los cuales se presentan en el capítulo 4, ítems 4.2.1. y 4.3.1., se decidió efectuar los ensayos de almacenamiento refrigerado utilizando bolsas de polietileno A y recipientes de vidrio con tapa a rosca de hojalata en purés tratados a 90 °C durante 1 y 15 minutos.

2.3.2. *Tratamientos con luz UV-C*

Se utilizó una cámara de tratamiento provista de 3 lámparas Phillips/TUV 36 W con un pico de emisión a 253,7 nm, una tensión de 103 V y una corriente de 0,44 A dispuestas de manera horizontal y paralelas entre sí (Figura 2.2.).

Las dosis se midieron con un dosímetro digital (Vilber Lourmat, Model VLX-3 WCE, Francia) y calcularon teóricamente utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Dosis (kJ/m}^2\text{)} = I \text{ (kW/m}^2\text{)} * t \text{ (s)}$$

Siendo:

I: intensidad de la lámpara (dependiente de la distancia a la fuente de radiación).

t: tiempo de exposición a la radiación UV en segundos.

2.3.2.a. Puré de mango

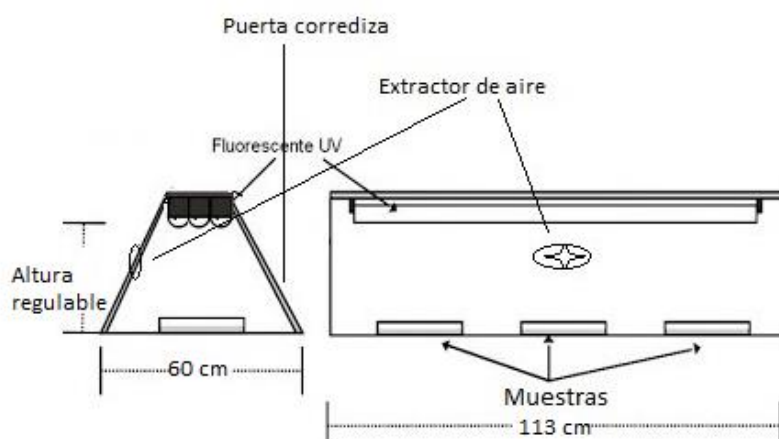


Figura 2.2. Esquema de la cámara de tratamiento UV-C (adaptada de Silva Ramirez y col., 2010).

Se realizaron ensayos preliminares de tratamiento con luz UV-C al puré de mango dispuesto en placas de vidrio de 10 cm de diámetro. Para ello se pesaron 20 g de puré y dispusieron de manera uniforme en la placa de modo de lograr un espesor de material de aproximadamente 3 mm. Se colocaron las placas en la cámara a 30 cm de distancia y se aplicaron 5 dosis en un rango de 9,40 a 75,19 kJ/m². Se realizó el control microbiano del puré, efectuando el recuento de aerobios mesófilos totales y mohos y levaduras antes y después de la aplicación de los tratamientos. La descripción de los medios de cultivo y condiciones de incubación se detallan en 2.6.1.a.

En una segunda etapa se aplicaron dosis de 37,60 y 56,40 kJ/m² y almacenó en bolsas de polietileno a temperatura ambiente. Se realizó el control microbiano inicial y se monitorearon los cambios organolépticos del producto.

A los fines de determinar el efecto de la luz UV-C frente a la *E. coli*, se llevaron a cabo ensayos de inoculación con una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 a purés de mango esterilizados, los cuales luego de inoculados fueron expuestos a dosis en un rango de 18,80 a 75,19 kJ/m², según se describió anteriormente.

Se continuó el estudio del efecto de la luz UV-C utilizando dosis de 18,80, 37,60 y 112,8 kJ/m². El puré se envasó en bolsas de polietileno que se almacenaron a 25, 10 y 4 °C. Se determinó actividad de las enzimas PPO y POD y el color.

Adicionalmente se llevaron a cabo ensayos de adición de reguladores de acidez y antioxidantes al puré previo a su exposición a la luz UV-C. Se efectuó el agregado de ácido ascórbico al 0,1%, ácido cítrico en un rango de 0,3 a 0,5% en forma individual y de una mezcla de ambos aditivos. Se efectuó un seguimiento organoléptico del producto almacenado a temperatura ambiente.

2.3.2.b. Néctar de mango

El producto elaborado a base del mango al que se denomina “néctar de mango”, se preparó mezclando un 40% (p/p) del puré obtenido según se detalla en 2.3.1. con agua potable previamente hervida y enfriada, con un contenido de sólidos solubles de $6,7 \pm 0,3$ °Brix y un pH de $4,28 \pm 0,02$. 60 g del néctar así preparado, se dispusieron en recipientes de vidrio de 15 cm de diámetro formando un lecho de 3 mm de espesor para realizar los tratamientos en el dispositivo descrito en la figura 2.1. Las lámparas se ubicaron a una distancia de 18,6 cm y se expuso a dosis de $19,56 \text{ kJ/m}^2$ sin agitación y con agitación permanente, utilizando un agitador orbital 3D (DragonLab, Beijing, China). Se determinaron los cambios del color superficial a lo largo del almacenamiento a temperatura ambiente.

Por otra parte, se realizaron ensayos de inoculación con *Escherichia coli* ATCC 25922 como se describió en 2.3.2.a. utilizando dosis de $19,56$ a $146,67 \text{ kJ/m}^2$ con y sin agitación permanente. Para este mismo rango de dosis, se determinó la actividad de las enzimas PPO y POD y realizó un almacenamiento a 25, 10 y 4 °C, evaluándose los cambios de color.

2.3.3. Tratamientos combinados

Posteriormente y con el objetivo de mejorar la eficiencia de los tratamientos, se llevaron a cabo tratamientos combinados de radiación UV-C en un rango de 0 a $146,67 \text{ kJ/m}^2$ y posterior tratamiento térmico (TT) en un rango de 55 a 85 °C de temperatura y tiempos de tratamiento entre 0 y 15 minutos al néctar envasado en bolsas de polietileno. Se analizaron la actividad de las enzimas PPO y POD.

A los fines de obtener las condiciones de tratamiento combinado (UV-C+TT) más apropiadas, se utilizó el método de superficie de respuesta (MSR) aplicando un diseño

experimental de Box-Behnken. En este tipo de diseño, los puntos se situaron en las combinaciones de los niveles extremos de los factores y en sus puntos medios. Se propuso un modelo teórico con buen ajuste y optimizó la función deseabilidad. Se creó el diseño a partir de los factores dosis de luz UV-C, temperatura de tratamiento térmico y tiempo de exposición al tratamiento térmico en un rango de 0 a 146,67 kJ/m², 55 a 80 °C y 0 a 15 minutos respectivamente. Se obtuvieron 15 corridas con 3 puntos centrales para las variables respuesta actividad de enzimas PPO y POD.

2.4. Almacenamiento

En base a los resultados preliminares obtenidos, se continuó con los siguientes ensayos de almacenamiento a los productos.

2.4.a. Puré tratado térmicamente envasado en bolsas de polietileno

Se prepararon lotes de 35 bolsas de polietileno conteniendo puré de mango tratado térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos, almacenaron a 10 ± 1 y 4 ± 1 °C durante 60 días. En paralelo se efectuó el almacenamiento de las muestras control durante 10 días. Para cada temperatura de almacenamiento se utilizó puré de mango proveniente de diferentes lotes.

A tiempos prefijados se retiraron las muestras y determinó pH, acidez, color, contenido de azúcares totales y reductores, actividad antioxidante, fenoles totales, pigmentos carotenoides, ácido ascórbico, análisis microbiológico y sensorial.

2.4.b. Puré tratado térmicamente envasado en frascos de vidrio con tapa a rosca de hojalata

Un lote de 56 frascos de vidrio con tapa a rosca de puré de mango envasado tratado térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos se almacenó a 4 ± 1 °C durante 60 días. Simultáneamente se almacenaron muestras sin tratamiento (control) envasadas en condiciones similares durante 10 días.

A tiempos prefijados se retiraron las muestras y determinó pH, acidez, color, contenido de azúcares totales y reductores, actividad antioxidante, fenoles totales, pigmentos carotenoides, ácido ascórbico, análisis microbiológico y sensorial.

2.4.c. Néctar de mango

Una vez seleccionadas las condiciones de tratamiento combinado del néctar: dosis de 73,36 kJ/m² y 75 °C de tratamiento térmico durante 10 minutos, se almacenaron lotes de 40 Bolsas de polietileno a 10 ± 1 °C durante 50 días. Simultáneamente se almacenaron muestras sin tratamiento (control) envasadas en condiciones similares durante 14 días. A tiempos prefijados se retiraron 5 bolsas de cada condición para realizar el análisis sensorial, determinaciones de color, enzimas PPO y POD y efectuó el control microbiológico.

2.5. Determinaciones

2.5.1. Contenido de agua

Se determinó por secado en estufa al vacío a 60 °C. Para ello, 10 g de muestra se colocaron en placas de vidrio previamente taradas que luego fueron llevadas a estufa hasta pesada constante. Los resultados se expresaron porcentualmente.

2.5.2. pH

Se determinó el pH del puré/néctar de mango por medio de un Medidor de pH y temperatura Testo 206 (Barcelona, España).

2.5.3. Color de la pulpa

Se utilizó la técnica de análisis digital de imágenes (Fernández y col., 2005; Yam y col., 2004). Para ello, se escanearon los purés de mango por medio de un escáner HP Deskjet F4280 All-in-one y los resultados se analizaron por medio del software Adobe Photoshop

versión 8.0.1. (USA). Se registraron los parámetros L, a y b, los cuales no son parámetros de color estándar y fueron convertidos a L*, a* y b*.

Asimismo, se efectuaron mediciones del color con un colorímetro Minolta CR-400 (Osaka, Japón) realizando las mediciones de los parámetros de color L*, a* y b*.

El cálculo del valor ΔE^* que permite establecer la diferencia de color respecto de un valor de referencia se hizo con la fórmula:

$$\Delta E^* = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2)^{1/2}$$

tomando como referencia (L_0 , a_0 y b_0) al puré/néctar sin tratamiento (control) o tratado al tiempo inicial.

2.5.4. Acidez titulable

Se utilizó el método propuesto por la A.O.A.C. A 10 g de puré de mango recién preparado, se le adicionaron 50 mL de agua destilada previamente hervida y enfriada, y tituló con NaOH 0,1 N hasta pH 8,1 utilizando un peachimetro Metrohm 692 pH/ion meter y electrodo Metrohm 6.0228.000, pt 1000 (Herisau, Suiza). Los resultados se expresaron en mg ácido cítrico/100 g muestra.

2.5.5. Fibra bruta

Se determinó por el método 962.09 de la A.O.A.C. (1990) modificado. Para ello 5 g de puré de mango se dispusieron en un erlenmeyer de 500 mL y agregaron 200 mL de H₂SO₄ 0,255 N. Se hirvió a reflujo 30 minutos exactos a partir de la ebullición. Se filtró en caliente al vacío y lavó con 50mL de agua destilada, adicionada sucesivamente en porciones y hasta obtener una reacción neutra al tornasol. Posteriormente se colocó el residuo en un erlenmeyer de 500 mL y añadieron 200 mL de NaOH 0,313 N e hirvió a reflujo 30 minutos exactos nuevamente. Se filtró en caliente y lavó con 50 mL de H₂SO₄ 0,255 N previamente calentado. Se continuaron los lavados con iguales cantidades de agua destilada y posteriormente con etanol.

El residuo obtenido luego de las hidrólisis acida y alcalina se llevó a 60 °C por 24 horas, enfrió en desecador y pesó.

Los resultados se expresaron como % fibra bruta sobre materia seca.

2.5.6. Determinación de fibra dietética total

Se pesaron 0,5 g de muestra, añadieron 25 mL de tampón fosfato (pH 6,0) y 0,05 mL de enzima α -amilasa, mezcló y colocó en un baño de agua hirviente. Se incubó durante 15 minutos después de que la temperatura de la mezcla alcanzara 95 °C, agitando suavemente a intervalos de 5 minutos. Se enfriaron las soluciones a temperatura ambiente, ajustó el pH de las soluciones a $7,5 \pm 0,2$ mediante la adición de 5 mL de NaOH 0,275 N. Se colocaron 0,05 mL de una solución recientemente preparada de enzima proteasa de 50 mg/mL en tampón fosfato y llevó a baño de agua a 60 °C e incubó durante 30 minutos después de que la temperatura de la mezcla alcanzara 60 °C. Se agitó continuamente y luego enfrió a temperatura ambiente. Se ajustó el pH de las soluciones entre 4,0 y 4,6 mediante la adición de 5 mL de HCl 0,325 M. Se repitió el procedimiento para la enzima amilogucosidasa. Posteriormente se añadieron 4 volúmenes de etanol de 95%. Se dejaron las soluciones toda la noche a temperatura ambiente para permitir la precipitación total, filtró y lavó el residuo con tres porciones de 10 mL de etanol de 78%, dos porciones de 5 mL de etanol de 95%, y dos porciones de 5 mL de acetona. Se secó el residuo a 70 °C al vacío. Se determinó proteínas en el residuo mediante el análisis de nitrógeno Kjeldahl, tal como se especifica en el procedimiento AOAC.

El resultado se expresó en porcentaje de fibra dietaria.

2.5.7. Azúcares totales y reductores

Los azúcares se determinaron por el método de Somogyi-Nelson (Southgate, 1974), basado en la reacción redox entre el reactivo cúpricoalcalino y los azúcares reductores glucosa y fructosa. El óxido cuproso generado en la reacción anterior, frente a una solución de arsenomolibdato de amonio, forma un complejo de color azul de óxido de molibdeno, cuya intensidad es cuantificada espectrofotométricamente.

Para la medición de azúcares totales se realiza previamente una hidrólisis ácida en caliente de los disacáridos presentes y luego se determina el contenido de azúcares en la mezcla.

Para cuantificar los azúcares reductores se preparó un extracto etanólico triturando 10 g de muestra con 30 mL de etanol 96°, dejando reposar 15 min. Posteriormente se centrifugó 15 min, se filtró el sobrenadante a través de tela filtrante doble y midió el volumen final. Se hizo reaccionar una alícuota de 20 μ L de una dilución 1:10 del extracto etanólico, con solución de cobre y de arsenomolibdato, dejando la mezcla 30 minutos en oscuridad antes de leer el producto de reacción a 520 nm.

Para azúcares totales se tomó una alícuota de 20 μ L de una dilución 1:20 del extracto etanólico y trató con HCl 0.1 N calentando en baño de agua. Se adicionaron las soluciones de cobre y de arsenomolibdato, dejando reaccionar 30 minutos en oscuridad antes de leer el producto de reacción a 520 nm.

Se realizó la curva de calibración con patrón de glucosa a partir de una solución madre de 0,1011 g/100 mL. Los resultados se expresaron en g glucosa/100 g de tejido.

2.5.8. Actividad antioxidante

Se determinó la actividad antioxidante utilizando el radical cromógeno 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH \cdot) por el método de Brand-Williams y col. (1995) modificado. 100 μ L de extracto etanólico preparado según 2.5.7. (diluido 1:5) se adicionaron a 6 mL de solución de DPPH \cdot (0,03 mg/mL) registrando las absorbancias a 517 nm en un espectrofotómetro Metrolab 1700 (Buenos Aires, Argentina) a los 15 minutos, tiempo en el cual la reacción alcanzó el estado estacionario. Se realizó una curva de calibración utilizando ácido clorogénico 0,041 g/100 mL como patrón, y expresó el resultado en mg ácido clorogénico equivalente/g tejido fresco.

2.5.9. Fenoles totales

Se determinó por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1965) sobre un extracto etanólico obtenido según 2.5.7. Se tomó una alícuota de 0,6 mL de extracto

etanólico y diluyó con 4,5 mL de agua, adicionó 0,3 mL de reactivo de Folin y dejó reaccionar 5 minutos. Se agregaron 0,6 mL de solución saturada de carbonato de sodio, agitó, dejó reaccionar 1 hora y leyó la absorbancia del producto de reacción a 670 nm, expresando el resultado en μg ácido clorogénico/g tejido fresco. Se construyó la curva de calibración utilizando patrón de ácido clorogénico 0,02%.

2.5.10. Flavonoides

Se determinó por el método utilizado por Kim y col. (2003), sobre una alícuota de 0,5 mL de extracto etanólico con 1,5 mL de agua destilada. Al tiempo cero se adicionaron 0,15 mL de NaNO_2 5%. Luego de 5 min se adicionaron 0,15 mL de AlCl_3 10%. 6 minutos después se adicionaron a la mezcla 0,5 mL de NaOH 1 M y se realizó la lectura de absorbancia a 510 nm contra un blanco de reacción. Se realizó una curva de calibración usando catequina como patrón a partir de una solución madre de 0,0058 g/100 mL. El resultado fue expresado en μg catequina/g tejido fresco.

2.5.11. Pectinas totales

Se determinaron por el método del carbazol (Southgate, 1974) sobre el residuo insoluble en alcohol (RIA). Para ello se tomaron 10 g de puré y 40 mL de etanol 96° y mantuvieron a 80 °C 30 minutos a reflujo con agitación suave. Se enfrió, filtró y lavó el residuo 3 veces con etanol alcanzando un volumen final de 50 mL. Una vez seco el RIA, se pesó 0,1 g e hidrolizó con 30 mL de NaOH 0,05 N y filtró.

1 mL del filtrado se hizo reaccionar con 5 mL de solución ácida de tetraborato de sodio 0,0125 M. Se calentó 10 minutos a baño maría y enfrió antes de agregar 200 μL de una solución alcalina de carbazol 0,15% dejando reaccionar 1 hora en baño de hielo. La lectura se realizó a 530 nm y expresó el resultado en mg ácido D-galacturónico/g tejido fresco. Para la curva de calibración se utilizó ácido D-galacturónico, a partir de una solución madre de 0,0114 g/10 mL en buffer ácido acético/acetato de sodio.

2.5.12. Carotenoides totales

Se determinaron por lectura espectrofotométrica a 450 nm del extracto etéreo (Davies, 1970). Para ello se realizó la extracción a 10 g de puré de mango con 20 mL acetona preenfriada dejando 20 minutos en contacto con agitación magnética y protegido de la luz. Los pigmentos se extrajeron utilizando partes iguales de extracto acetónico y éter de petróleo 40-60 bp. Se expresó el resultado en μg β -caroteno/g tejido fresco.

2.5.13. β -Caroteno

La separación del β -caroteno se realizó preparando un extracto hexánico siguiendo la metodología propuesta por Liu y col. (2013). 15g de puré de mango se pusieron en contacto con 30 mL de acetona pre-enfriada, sonicó 15 minutos en un lavador ultrasónico Testlab (Buenos Aires, Argentina) de 80 Watts de potencia y centrifugó a 4 °C durante 15 minutos a 10000 rpm. El procedimiento se repitió 2 veces para asegurar el máximo de extracción. Se reunieron los extractos obtenidos y llevaron a 100 mL de volumen final en matraz, luego se saponificaron adicionando 50 mL de KOH metanólico al 10% y colocando en baño de agua a 45 °C durante 1 hora. Una vez saponificados, se extrajo el β -caroteno con 100 mL de éter de petróleo 40-60 bp, secó la capa orgánica con sulfato de sodio y evaporó a sequedad. El residuo seco fue disuelto con hexano y conservado a -18 °C hasta el momento del análisis. La cuantificación se hizo por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), utilizando un cromatógrafo Shimadzu LC-10 A (Tokio, Japón) provisto de una columna Thermo Scientific Hypersil ODS C18, tamaño de poro 120 Å, 250 x 4,6 mm, (Waltham, MA, USA) y detector Shimadzu SPD-M20A UV-Vis DAD. Se fijó la λ a 454 nm y trabajó con solvente de corrida acetonitrilo: metanol: cloruro de metileno (6:2:2, v/v/v), con un flujo de 1,2 mL/minuto. Se utilizó como patrón una solución de β -caroteno (All-*trans*- β -caroteno tipo II, HPLC > 95%, Sigma, St. Louis, MO) y los resultados se expresaron en mg β -caroteno/g de tejido fresco.

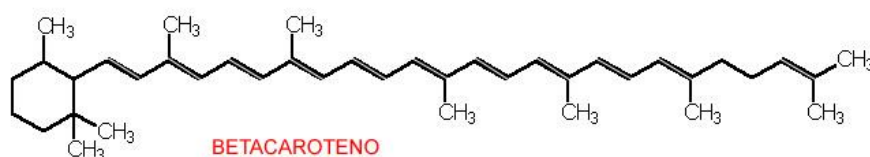


Figura 2.3. Fórmula química del β -caroteno.

2.5.14. Ácido ascórbico

El extracto se obtuvo mediante la técnica utilizada por Sgroppo y col. (2009), triturando 10 g de tejido vegetal con 30 mL de una solución de ácido fosfórico 0,05 M. Inmediatamente se centrifugó y filtró a través de membrana de celulosa a baja temperatura. El extracto obtenido se filtró utilizando filtros para jeringa con membrana de nylon no estéril de 0,45 μm de poro.

La determinación del contenido de ácido ascórbico se realizó por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Se inyectaron manualmente 20 μL del filtrado en un equipo de HPLC (Shimadzu LC-10 A, Tokio, Japón) provisto de una columna Thermo Scientific Hypersil ODS C18, tamaño de poro 120 Å, 250 x 4,6 mm (Waltham, MA, USA) y detector Shimadzu SPD-M20A UV-Vis DAD. Se fijó la λ a 254 nm y utilizó como solvente de corrida agua tridestilada acidificada con ácido sulfúrico (pH=2,5), con un flujo de 1 mL/minuto. El contenido de ácido ascórbico fue calculado en mg/100 g de tejido fresco, utilizando una solución patrón de 0,0296 g de ácido ascórbico en 100 mL de agua destilada.

2.5.15. Proteínas

2.5.15.a. Cuantificación de proteínas

Las proteínas fueron determinadas por el método de Lowry y col. (1951) a partir del extracto obtenido en la determinación de actividad enzimática o del polvo acetónico preparado para realizar la separación electroforética. Las muestras se diluyeron con agua o buffer hasta 0,8 mL de volumen final y trataron con 2 mL de reactivo de tartrato de sodio y potasio y sulfato cúprico en medio básico. Luego de 10 minutos en oscuridad se adicionaron 0,2 mL de reactivo de Folin (1+1 en agua), dejó reaccionar 30 minutos en oscuridad y realizó la lectura de absorbancia a 750 nm. Se expresó el resultado en mg albúmina/g tejido fresco. Se realizó una curva de calibración usando albúmina bovina como patrón a partir de una solución madre de 1 mg/mL de agua destilada.

2.5.15.b. Perfil proteico

Se hicieron electroforesis desnaturalizantes en placa, utilizando geles separadores de poliacrilamida al 14% conteniendo SDS de acuerdo al sistema de buffer discontinuo de Laemmli (1970). El gel de "stacking" fue del 4%. Se utilizó una minicuba Bio-Rad Mini Protean II Dual Slab Cell (California, USA) con placas de 10 x 10 cm y espesor de geles de 0,7 mm. Las electroforesis se hicieron con buffer Tris-base 0,025 M de pH = 8,3, conteniendo 0,192M de glicina y 0,1% de SDS, manteniendo condiciones de intensidad constante (15 mAmp/placa en gel de "stacking" y 30 mAmp/placa en los geles separadores).

Se utilizó un kit con marcadores de peso molecular Sigma (St. Louis, MO, EUA) entre 70.000 y 14.000 Da, y Coomassie Brilliant Blue R-250 como agente de tinción de los geles.

2.5.16. Actividad de enzimas oxidativas

Se realizó la extracción de las enzimas según Vásquez-Caicedo y col. (2007). Para el puré de mango se trabajó a partir de 6 g de tejido, utilizando 1,2 g de polivinilpolipirrolidona (PVPP) y 20 mL de buffer McIlvaine cítrico-fosfato (pH 6,5). Se homogeneizó la mezcla durante 1 hora a 4 °C, centrifugó y filtró por papel de filtro. En el caso del néctar de mango, se utilizaron 5 g del néctar, 0,4 g de PVPP y 5 mL de buffer McIlvaine.

Las actividades de Polifenoloxidasas (PPO) y Peroxidasas (POD) en puré y néctar se determinaron según Ndiaye y col. (2009) siguiendo el procedimiento que se describe a continuación.

Actividad de PPO: se preparó la mezcla de reacción con 0,75 mL del extracto y 1,5 mL de catecol 0,175 M como sustrato llevando a volumen con 3 mL de buffer McIlvaine (pH 6,5). Se incubó la mezcla de reacción 20 segundos a 30 °C antes de leer la absorbancia cada 10 segundos a 420 nm.

Actividad de POD: 0,4 mL del extracto se hicieron reaccionar con 0,12 mL de guayacol 0,1 M y 0,03 mL de peróxido de hidrógeno 0,05 M, llevando a volumen con 3,95 mL de buffer fosfato 0,2 M (pH 6). Se incubó la mezcla de reacción 20 segundos a 30 °C antes de leer la absorbancia cada 10 segundos a 420 nm.

2.6. Análisis microbiológico

2.6.a. Calidad microbiológica

Se efectuó el recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales y recuento de mohos y levaduras al inicio, a tiempos intermedios y al final de los ensayos de almacenamiento, según las normas de la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1982).

A partir de 5 g de puré se realizó una dilución 1:10 y diluciones sucesivas 1:100 y 1:1000 con agua de peptona preparada a partir de peptona de carne (Laboratorios Britania S.A., Argentina) y NaCl (Laboratorios Cicarelli, Argentina). Se realizó la siembra por inoculación y vertido utilizando 1 mL de dilución y medios agar recuento en placa y agar papa glucosado (Laboratorios Britania S.A., Argentina).

Las placas de aerobios mesófilos totales y de mohos y levaduras se incubaron a 35 °C y los recuentos se realizaron a las 48 horas y 7 días respectivamente. Los resultados se expresaron como log UFC/g de tejido.

2.6.b. Ensayos de inoculación

Se efectuó la inoculación y el recuento de *Escherichia coli* ATCC 25922 en puré y néctar de mango tratados con luz UV-C, utilizando las normas de la International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 1982).

Para ello, se preparó un inóculo al 0,5 de McFarland en solución fisiológica estéril a partir de colonias aisladas de *E. coli*. Se inocularon alícuotas de la mencionada preparación al puré/néctar, previamente esterilizado, resultando una carga microbiana inicial del orden de 7 log UFC/g de puré/néctar y se expuso a la dosis de UV-C en un rango de 18,80 a 146,67 kJ/m².

A partir de 5 g de puré/néctar se realizó una dilución 1:10 y diluciones sucesivas 1:100 y 1:1000 con agua de peptona preparada a partir de peptona de carne (Laboratorios Britania S.A., Argentina) y NaCl (Laboratorios Cicarelli, Argentina). Se realizó la siembra por inoculación y vertido utilizando 1 mL de dilución en medio agar recuento en placa (Laboratorios Britania S.A., Argentina). Las placas se incubaron a 35 °C, los recuentos se realizaron a las 48 horas y los resultados se expresaron como log UFC/g de tejido.

2.7. Análisis sensorial

El análisis sensorial descriptivo de los productos se realizó con un panel de 8 evaluadores entrenados, presentando a cada evaluador la muestra en pequeños potes codificados con tres dígitos y ordenados aleatoriamente en bandejas a cada tiempo de muestreo (Santa Cruz y col., 2005).

Cada evaluador se ubicó en forma separada de los demás y las sesiones se realizaron en ambientes con buena iluminación y aireación. Se les presentó una planilla donde debían consignar nombre, fecha, número de muestra a analizar y resultado de la evaluación.

Para el puré, se consideraron los descriptores color, brillo, consistencia, aspecto y aroma, en tanto que para el néctar los descriptores fueron color, brillo, consistencia y aroma. Se utilizaron escalas estructuradas del 1 al 5, siendo 1: nada característico y 5: muy característico. En todos los casos el límite de aceptabilidad establecido fue mayor o igual a 3 (≥ 3).

2.8. Análisis estadístico

Se utilizó diseño factorial para las experiencias. Los resultados obtenidos fueron analizados por medio de un ANOVA aplicando el test LSD para establecer las diferencias estadísticas significativas ($p \leq 005$) utilizando el software INFOSTAT versión estudiantil versión 2011 (Di Rienzo y col., 2011).

Los tratamientos y ensayos de almacenamiento se efectuaron al menos por duplicado (réplicas). Los extractos se prepararon por duplicado y las determinaciones a su vez se hicieron por duplicado.

Capítulo 3

Caracterización de frutos de
mango “criollo”
(*Mangifera indica* L.)

3. Caracterización de frutos de mango “criollo” (*Mangifera indica* L.)

3.1. Introducción

Los mangos (*Mangifera indica*, L.) son árboles de la familia de las *Anacardiaceae* y se los cree originarios de la región de Asia tropical (Indo-Burma). Su cultivo es uno de los más antiguos del mundo dado que producen frutos muy apreciados por su sabor y se los consume como frutos frescos o en bebidas, mermeladas, helados, productos deshidratados, etc.

El fruto es climatérico y en su punto óptimo para el consumo tiene una muy corta vida post-cosecha, pueden medir entre 2 y 30 cm de largo, tener forma ovalada o redonda y cuentan con una semilla de tamaño significativo. El color depende de la variedad y región de producción, y puede resultar de una mezcla de colores verde, amarillo, naranja y rojo.



Figura 3.1. Frutos de mango de las variedades “Kent”, “Haden”, “Tommy Atkins”, “Keitt”, “Ataulfo” y “criollo” (tomado de Tumi Fresh, mangos de Perú).

Las variedades comerciales son numerosas y entre las más comunes figuran “Haden”, “Tommy Atkins”, “Kent”, “Keitt”, “Ataulfo”, etc. las cuales se producen principalmente en la región salteña de la República Argentina (figura 1). En la región del Nordeste de Argentina,

provincias de Chaco, Corrientes, Misiones y Formosa, se encuentran árboles silvestres de mango y que se los conoce como mangos “criollos”.

Se efectuó la caracterización de los mangos (*Mangifera indica* L.) “criollos”, producidos por los árboles autóctonos de la región, y durante el año 2008 se analizaron los componentes de una segunda variedad introducida en la región hace pocos años, proveniente de Brasil, denominada a partir de ahora “mango brasileño”.

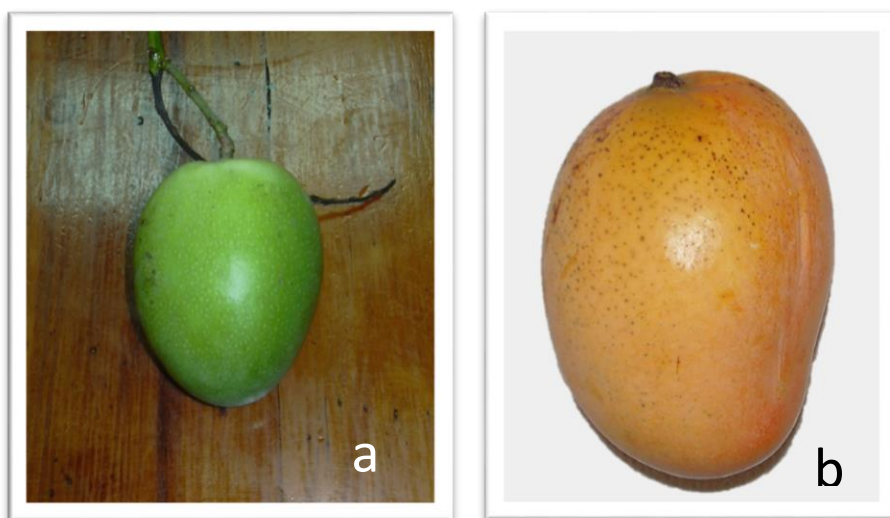


Figura 3.2. Mangos “criollos” (a) Fisiológicamente maduro, (b) Maduro

Los mangos “criollos” utilizados durante esta etapa, tuvieron pesos comprendidos en un rango de 140 a 260 g, y sus ejes mayores y menores valores promedio de $7,641 \pm 0,504$ y $6,259 \pm 0,334$ cm respectivamente (figura 3.2). Estos frutos se clasifican entre los frutos de mango de tamaño chico, dado que los frutos de mango pueden tener un peso entre 90 y 900 g.

Los frutos fueron acondicionados según se describió en el capítulo de Materiales y Métodos, ítems 2.1. y 2.2., y se llevaron a cabo las determinaciones del contenido de agua, acidez y pH, azúcares totales y reductores, fibra, actividad antioxidante, fenoles totales, flavonoides, pectinas y pigmentos carotenoides. Además se realizó el perfil electroforético del mango “criollo” dosando previamente el contenido en proteínas por el método de Lowry.

3.2. Resultados y discusión

3.2.1. Contenido de agua

El agua es el componente mayoritario de los mangos. En los frutos “criollos”, se determinaron valores promedio de $75,80 \pm 0,03\%$, los cuales son ligeramente inferiores a los cuantificados en los mangos “brasileños” producidos en el mismo período, cuyos contenidos fueron en promedio de $78,67 \pm 0,04$. En mangos producidos en la India se informaron contenidos de agua en un rango de 74,1% a 90,3% (Rumulo y Rao, 2003).

3.2.2. Acidez y pH

La acidez de los frutos se debe a la presencia de ácidos orgánicos, y en conjunto con los azúcares, influyen fuertemente en el sabor de los mangos. Asimismo, durante el desarrollo de los frutos la acidez disminuye hasta alcanzar valores constantes en el estadio maduro.

En mangos, los principales ácidos encontrados son el ácido cítrico y en menor medida los ácidos málico, tartárico, fórmico, succínico, oxálico, láctico, salicílico y algunos ácidos fenólicos (Gil y col., 2000). Sin embargo, para ciertos cultivares se determinó la preponderancia del ácido málico (Liu y col., 2013).

En los mangos “criollos”, los valores de acidez se encontraron en el rango de $256,72 \pm 2,06$ a $517,39 \pm 2,88$ mg ácido cítrico/100 g de tejido fresco con un pH entre $4,10 \pm 0,02$ a $5,28 \pm 0,28$. Estos valores de acidez son próximos a los informados por Liu y col. (2013) en 4 variedades de mangos cultivados en China, así como para los determinados en los mangos “brasileños”, cuyos niveles en el año 2008 fueron de $353,26 \pm 7,79$ mg ácido cítrico/100 g de tejido fresco.

3.2.3. Contenido de azúcares

El mango es un fruto muy apreciado por su sabor, especialmente debido al alto contenido en azúcares, lo cual le otorga características muy apreciadas por los consumidores.

Los principales azúcares son glucosa, fructosa y sacarosa, cuyos contenidos varían a medida que el fruto madura.

Entre los años 2008 y 2015, los contenidos de azúcares reductores (glucosa y fructosa) y azúcares totales cuantificados espectrofotométricamente estuvieron en un rango de $2,085 \pm 0,139$ a $3,352 \pm 0,170$ g glucosa/100 g de tejido fresco y $8,776 \pm 0,150$ a $15,126 \pm 2,489$ g glucosa/100 g de tejido fresco respectivamente. Estos resultados se encuentran en el orden de lo informado por Liu y col. (2013) para mangos “Keitt” cultivados en China, quienes determinaron un contenido de azúcares totales de 15,35 g/100 g, de los cuales los niveles de glucosa y fructosa fueron de 2,58 y 2,43 g/100 g en promedio respectivamente. En el resto de los cultivares chinos estudiados, los contenidos de sacarosa fueron inferiores a los anteriores, entre 2,57 y 5,23 g/100 g; y los azúcares reductores glucosa 1,02 a 1,66 g/100 g y fructosa 2,69 a 4,68 g/100 g. En pulpa de frutos de mango cv. “Tommy Atkins” se informaron porcentajes del 12,9; 34,1 y 53,0% para glucosa, fructosa y sacarosa respectivamente (Gil y col., 2000), habiéndose encontrado perfiles de azúcares similares en otras variedades cultivadas en China (Liu y col., 2013).

Por otra parte, el valor promedio de azúcares reductores de los frutos “criollos” de la cosecha 2008 fue de $3,352 \pm 0,170$ y de los azúcares totales de $15,126 \pm 2,489$ g glucosa/100 g de tejido fresco, mientras en los mangos “brasileños” analizados ese año, los contenidos fueron de $4,480 \pm 0,110$ y $15,750 \pm 0,530$ g glucosa/100 g de tejido fresco para ambos azúcares respectivamente. A partir del análisis estadístico realizado, se estableció que no hubo diferencias significativas para los contenidos de azúcares totales entre ambas variedades ($p > 0,05$), aunque, se encontraron diferencias significativas entre los niveles de azúcares reductores ($p < 0,05$).

3.2.4. Fibra bruta y pectinas

La fibra dietaria tiene un rol muy importante en la disminución del riesgo de padecer algunos desórdenes de salud, tales como las enfermedades cardiovasculares, diabetes, diverticulitis, constipación u obesidad. Las fracciones que constituyen la fibra dietaria son celulosa, lignina, hemicelulosa, pectinas, gomas y mucilagos, siendo los principales

componentes de la pared celular. La definición de fibra dietaria incluye a todos los polisacáridos y ligninas no digeridos por enzimas digestivas.

Uno de los aspectos diferenciales en los frutos de mango, es el contenido y las características de la fibra presente, lo cual en gran medida impacta en la decisión de destino de los frutos. Es así como algunos frutos son destinados a la comercialización para su consumo en fresco, en tanto otros frutos al no ser apetecibles para su consumo directo podrían ser industrializados. Los mangos “criollos” se encuentran dentro del último grupo, habiéndose encontrado tenores de fibra bruta determinados luego de una hidrólisis ácida y alcalina de $0,72 \pm 0,39\%$. Estos valores prácticamente duplican a los determinados en la variedad “brasileña” para el mismo año de cosecha, que en promedio fueron de $0,39 \pm 0,01\%$. En ensayos posteriores se utilizó el método enzimático, siendo los valores de fibra dietaria total en mangos criollos de $1,965 \pm 0,065\%$. Rumulu y Rao (2003) cuantificaron la fibra dietaria total e insoluble en 11 variedades de mango producidos en la India utilizando métodos enzimáticos y gravimétricos. Los niveles más bajos para fibra total e insoluble fueron de 1,3 y 0,5% y los más altos en de 3,0 y 1,5% respectivamente. La fibra soluble fue de 0,7 a 1,6% y en la mayoría de las variedades analizadas representó un 50% de la fibra dietaria total.

Por otra parte, los niveles de pectinas determinados por el método del carbazol en extractos fueron de $0,0170 \pm 0,0001$ y $0,0100 \pm 0,0004$ expresados en mg ácido D-galacturónico/g de tejido fresco para los mangos “criollos” y “brasileños” respectivamente, los cuales fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$).

3.2.5. Polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante

Los polifenoles encontrados en las diferentes variedades de mangos son el ácido gálico, *p*-hidroxibenzoico, *p*-cumárico, sinápico, elágico, quercetina y catequina (Liu y col., 2013). De todos ellos el ácido gálico y la quercetina son los ácidos fenólicos y flavonoides más representativos del total de los polifenoles (Robles-Sánchez y col., 2009).

Se prepararon extracto etanólicos y el contenido de fenoles totales se determinó con el reactivo de Folin-Ciocalteu. El rango de valores encontrados para los frutos “criollos” fue de $912,541 \pm 17,795$ a $1322,370 \pm 19,229$ μg ácido clorogénico/g de tejido fresco. Los mangos

“brasileños” presentaron un nivel de polifenoles totales significativamente inferior ($p < 0,05$), habiéndose detectado niveles de $633,156 \pm 9,958$ μg ácido clorogénico/g de tejido fresco en el año 2008, mientras para los mangos criollos el contenido de fenoles totales en ese año fue de $975,291 \pm 49,993$ μg ácido clorogénico/g de tejido fresco. En otros cultivares, se informó de una gran variación del contenido de fenoles totales, en un rango de 32,06 a 139,71 mg ácido gálico/100 g de tejido fresco (Liu y col., 2013; Kim y col., 2010).

De la misma forma, los contenidos de flavonoides fueron superiores en los mangos “criollos”, del orden de $197,050 \pm 7,190$ μg catequina/g de tejido fresco, a diferencia de lo encontrado en los “brasileños” que sólo tuvieron un promedio de $151,308 \pm 0,178$ μg catequina/g de tejido fresco. En estudios realizados en Corea, los valores de flavonoides en la pulpa de los mangos maduros fueron de 3,30 mg de rutina/g tejido seco (Kim y col., 2010).

La actividad antioxidante de estos frutos se debe a la presencia de los polifenoles, carotenoides y ácido ascórbico, y uno de los métodos *in vitro* más utilizados por su facilidad, rapidez y sensibilidad es el que utiliza el reactivo DPPH.

En los mangos “criollos”, la actividad antioxidante presentó un rango de $0,417 \pm 0,026$ a $1,550 \pm 0,039$ mg ácido clorogénico/g de tejido fresco. En el año 2008 los mangos criollos presentaron $1,550 \pm 0,039$ mg ácido clorogénico/g de tejido fresco, significativamente diferente ($p < 0,05$) a la determinada en los mangos brasileños que no superó el valor de $1,143 \pm 0,045$ mg ácido clorogénico/g tejido fresco. La actividad antioxidante de 4 cultivares chinos determinada por el mismo método fue significativamente diferente entre ellos (28,01 a 269,69 mg equivalentes de ácido ascórbico/100 g de tejido fresco) (Liu y col., 2013), al igual que en un estudio previo llevado a cabo por Ribeiro y col. (2007). Asimismo, estos autores informaron una correlación directa entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante, a diferencia de lo encontrado por Ribeiro y col. (2007) en otras variedades de mango, atribuido a un posible efecto de enmascaramiento, ya que el contenido de fenoles totales era mucho más alto que el de ácido L-ascórbico en ese estudio.

3.2.6. Carotenoides

Los pigmentos presentes en mangos son principalmente carotenoides, los cuales le otorgan el color amarillo anaranjado característico. Son compuestos liposolubles con efectos

protectores ante enfermedades como el cáncer, degeneración macular, y problemas cardiovasculares. Asimismo, algunos de estos carotenoides actúan como precursores de la vitamina A. En diferentes cultivares analizados, se identificaron numerosos carotenoides, aunque solo algunos están presentes en cantidades significativas (Ornelas-Paz y col., 2007).

Los contenidos de carotenoides totales determinados por lectura espectrofotométrica a 450 nm de los mangos “criollos” estuvieron en el rango de $38,720 \pm 4,070$ a $47,453 \pm 2,881$ μg β -caroteno/g tejido fresco. En el año 2008 los mangos criollos presentaron un contenido de pigmentos carotenoides promedio de $44,144 \pm 0,496$ μg β -caroteno/g tejido fresco, muy próximos a los valores encontrados ese mismo año para los frutos brasileños, cuyo promedio fue de $45,470 \pm 0,505$ μg β -caroteno/g tejido fresco.

En mangos cultivados en Brasil, se encontraron niveles de carotenoides totales entre 38 y 51,2 $\mu\text{g}/\text{g}$ para los cultivares “Keitt” y “Tommy Atkins” respectivamente (Mercadante y col., 1998) cuando fueron determinados por cromatografía líquida. En la variedad “Keitt” se detectó principalmente β -caroteno (all-trans) (27%) y violaxantina (all-trans y cis) (56%) y en menor grado β -criptoxantina (all-trans y cis), zeaxantina (all-trans), isómeros de luteoxantina, y neoxanthin (all-trans y cis) (Mercadante y col., 1997). Perfiles similares de carotenoides fueron informados para otras variedades (Cano y col., 1994; Rodríguez-Amaya, 2005). En 4 cultivares de mangos cultivados en China, “Keitt”, “Tainong”, “Irwin”, “JinHwang”, se encontraron niveles de β -caroteno entre 6,14 y 2,57 mg/100 g peso fresco (Liu y col., 2013).

3.2.7. Proteínas y Perfil proteico

A los fines de determinar el perfil proteico de los mangos “criollos”, se efectuó el dosaje de proteínas utilizando el método de Lowry, habiéndose encontrado contenidos de $0,777 \pm 0,047$ a $5,119 \pm 0,244$ mg albúmina/g tejido fresco. Para los mangos “brasileños” los contenidos de proteínas fueron de $1,020 \pm 0,010$ mg albúmina/g tejido fresco, significativamente inferiores a los determinados en “criollos” cosechados el mismo año.

Al efectuar las corridas electroforéticas en el sistema discontinuo de Laemmli, SDS-PAGE, junto a los extractos acetónicos de la pulpa del mango “criollo” se corrió un kit con marcadores de peso molecular Sigma (St. Louis, MO, USA) entre 70.000 y 14.000 Da, y se encontró que, las bandas más intensas correspondieron a pesos moleculares aparentes de

79,151; 63,807; 53,947; 29,372; 17,041 y una banda definida a 27,069 kDa (figura 3.3). Asimismo se observaron grupos de bandas más débiles a 57,094; entre 46,657 y 40,078 y en el rango de 23,095 y 19,974 kDa.

En estudios de caracterización de la polifenoloxidasas (PPO) de la piel y pulpa del fruto de mango "Ataulfo" realizados por Cheema y col. (2015) utilizando electroforesis en geles SDS-PAGE, se encontraron múltiples bandas siendo las más prominentes las de pesos moleculares aparentes de 53, 112 y 144 kDa.

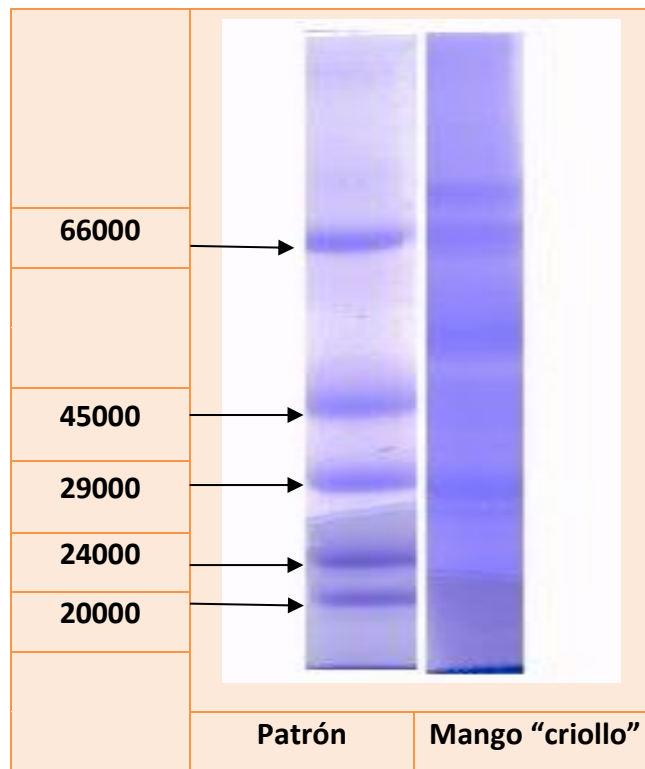


Figura 3.3. Electroforesis en gel de poliacrilamida de proteínas del mango "criollo".

3.3. Conclusiones parciales

- El fruto del árbol de mango silvestre que crece en la Provincia de Corrientes (27° 36' 67" S, 58° 16' 07" O), conocido como mango “criollo”, reúne las características resumidas en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Características del mango “criollo” de la Provincia de Corrientes

Mangos Criollos	
Contenido de agua (%)	$75,80 \pm 0,03$
Acidez (mg ácido cítrico/100 g muestra)	$256,72 \pm 2,06$ a $517,39 \pm 2,88$
pH	$4,10 \pm 0,02$ a $5,28 \pm 0,28$
Azúcares totales (g glucosa/100 g de tejido fresco)	$8,776 \pm 0,150$ a $15,126 \pm 2,489$
Azucres reductores (g glucosa/100 g de tejido fresco)	$2,085 \pm 0,139$ a $3,352 \pm 0,170$
Fibra (%)	$0,72 \pm 0,39$
Pectinas (mg ácido D-galacturónico/g tejido fresco)	$0,0170 \pm 0,0001$
Carotenoides (μg β -caroteno/g tejido fresco)	$38,720 \pm 4,070$ a $47,453 \pm 2,881$
Fenoles (μg ácido clorogénico/g tejido fresco)	$912,541 \pm 17,795$ a $1322,370 \pm 19,229$
Flavonoides (μg catequina/g tejido fresco)	$197,050 \pm 7,190$
Actividad antioxidante (mg de ácido clorogénico/g tejido fresco)	$0,417 \pm 0,026$ a $1,550 \pm 0,039$
Proteínas (mg albúmina/g tejido fresco)	$[0,777 - 5,119] \pm 0,146$

- El perfil electroforético de estos frutos indica que las principales bandas corresponden a polipéptidos de pesos moleculares aparentes de 79,151; 63,807; 53,947; 29,372; 17,041 y una banda definida a 27,069 kDa.
- Las características del fruto del mango “criollo” son diferentes a las del mango “brasileño” producido en la misma región y analizadas durante el mismo año de cosecha, dado que los valores de acidez y azúcares totales son superiores, al igual que el contenido en fibra, polifenoles, capacidad antioxidante y proteínas determinadas por el método de Lowry.

Capítulo 4

Aplicación de tratamientos térmicos a puré de mango

4. Aplicación de tratamientos térmicos a puré del mango

4.1. Introducción

Los tratamientos térmicos son aplicados con el objetivo de extender la vida útil de los alimentos, asegurando su inocuidad. Entre estos tratamientos se incluyen a la pasteurización y esterilización, los cuales tradicionalmente son utilizados en la industria por su eficiencia y sencillez (Diels y col., 2005; Bahceci y col., 1999; Bower y col., 1999; van Asselt y col., 2006). Sin embargo, estos tratamientos generan una serie de cambios indeseables en los alimentos, incluyendo pérdidas de color, flavour, textura y funcionalidad, por lo que es necesario seleccionar las condiciones más apropiadas que logren las respuestas buscadas con el mínimo deterioro.

Los procesos de esterilización tienen como objetivo la destrucción de los microorganismos presentes en los alimentos y la inactivación total de las enzimas. Aplicando temperaturas que superan los 100 °C se obtienen productos comercialmente estériles que deben ser mantenidos en condiciones de envasado aséptico.

La pasteurización se utiliza para destruir la mayoría de las formas vegetativas de los microorganismos capaces de provocar alteraciones, eliminar patógenos y reducir la actividad de enzimas deteriorantes. Las temperaturas que se emplean en estos tratamientos están en el rango de 55 a 90 °C, con diferentes tiempos de exposición según el objetivo perseguido, modificando mínimamente la composición y características organolépticas del producto. Los tratamientos de pasteurización requieren de un tratamiento de preservación adicional tales como el envasado y la refrigeración.

Otro tratamiento térmico utilizado como un tratamiento previo es el escaldado, que utiliza temperaturas inferiores a los 90 °C y cortos tiempos de exposición. Tiene como propósito la inactivación de enzimas, aunque de acuerdo a la rigurosidad de las condiciones va acompañado de una disminución de la calidad nutricional y sensorial del producto, principalmente debido a las reacciones de pardeamiento enzimático, no enzimático y de caramelización que tienen lugar (Baron y col., 2006; Deliza y col., 2005; Silva y col., 2005; Hoover, 1997; Nicoli y col., 1991).

Las actividades enzimáticas residuales en jugos o purés de frutas tratados

térmicamente pueden producir pardeamiento, clarificación, decoloración y aparición de sabores y aromas extraños. El pardeamiento enzimático provoca el oscurecimiento de algunos productos vegetales naturales ricos en compuestos fenólicos durante su elaboración o almacenamiento, y se debe a la actuación de las polifenoloxidasas. Una alta concentración de polifenoles en el tejido vegetal puede dar lugar a pardeamientos más intensos, pero los polifenoles por sus propiedades antioxidantes son muy beneficiosos para la salud, y el pardeamiento enzimático puede evitarse o reducirse aplicando tratamientos adecuados (Luh y col., 1967).

Los productos a base de mango como el puré, a ser utilizados en la elaboración de bebidas, productos lácteos o confituras, deben ser sometidos a métodos de preservación capaces de evitar el deterioro enzimático y microbiano.

Tanto la polifenoloxidasa (PPO) como la peroxidasa (POD) son enzimas termoestables y responsables del pardeamiento (Tomás-Barberán y col., 2001). En rodajas de mango, Ndiaye y col. (2009) determinaron que los tratamientos de escaldado con vapor con una duración mayor a los 5 minutos, fueron eficaces en la inhibición de ambas enzimas. A su vez, la actividad residual de las enzimas fue del 2,85% y 8,33% para PPO y POD alcanzada con tratamientos de 3 minutos; el cambio de color fue más reducido cuanto mayor fue el tiempo de exposición, a la vez que el índice de pardeamiento BI disminuyó.

Vásquez-Caicedo y col. (2007) estudiaron el efecto de los tratamientos térmicos sobre la estabilidad del β -caroteno y la inactivación de las enzimas PPO y POD en puré y néctar de mango "Tommy Atkins". El puré de mango fue pasteurizado a temperaturas de 85, 88, 90,5 y 93 °C durante 1, 4, y 16 minutos. Demostraron que la disrupción celular con la consiguiente liberación de las enzimas incrementó los procesos de degradación, con activación de enzimas oxidativas y descomposición química del β -caroteno. El tratamiento a 90,5 °C aplicado durante 1 y 16 minutos produjo una reducción del β -caroteno total del 5 y 7% respectivamente, y la actividad residual de POD fue de 6,3% en ambos casos. La preparación del néctar de mango conllevó a una pérdida de sólo un 7% de β -caroteno total y buena retención de vitamina A, detectándose disminuciones en el croma y ligeros incrementos en el tono (hue) a mayor tiempo y temperatura de proceso.

En jugo de mango "Chonakan" filtrado, tratado a 90 °C durante 60 segundos, Santhirasegaram y col. (2014) encontraron disminuciones del L^* , a^* y b^* , con un $\Delta E > 4$, con

lo que las diferencias serían perceptibles según Limbo y col., 2006. Asimismo, los tratamientos afectaron los contenidos de carotenoides totales y otros bioactivos presentes como el ácido ascórbico. Las bacterias aeróbicas, coliformes y mohos y levaduras presentes en los jugos fueron inactivadas luego de los tratamientos térmicos.

Por otro lado, el uso de temperaturas elevadas favorece las reacciones de pardeamiento no enzimático (Anese y col., 2002) dando lugar a compuestos altamente reactivos que pueden reaccionar con algunas vitaminas, oxidándolas, y producir complejos oscuros que modifican el color, aroma y sabor del producto.

Además, durante el almacenamiento pueden ocurrir cambios indeseables en el color del producto por efecto de la actividad polifenoloxidasa o peroxidasa residual (Chisari y col., 2007) que serán función de la temperatura de almacenamiento. De todos los factores estudiados, el control de la temperatura de almacenamiento es el que incrementa en forma significativa la estabilidad del color.

El objetivo de este capítulo fue analizar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos a puré de mango envasado en dos recipientes diferentes. Se estudió la influencia de las temperaturas de tratamiento y de almacenamiento refrigerado sobre los compuestos bioactivos, color, actividad de enzimas oxidativas y calidad microbiológica.

4.2. Tratamientos térmicos aplicados a puré de mango envasado en bolsas de polietileno

4.2.1 Ensayos preliminares

Para llevar a cabo los tratamientos térmicos se acondicionó el material vegetal según se describió en 2.2. y se efectuaron tratamientos preliminares cuyos resultados se describen a continuación.

4.2.1.a. Determinación del perfil de temperatura

Se registró el perfil de temperatura durante el tratamiento térmico del puré de mango, y a partir de dicho perfil se determinó el tiempo necesario para alcanzar la temperatura de tratamiento en el punto frío del puré según se explicó en 2.3.1.a.

En la figura 4.1. se muestra el perfil de temperatura del puré en la bolsa A en función del tiempo de tratamiento, a 90 °C, habiéndose obtenido una evolución similar para las bolsas tipo B. El punto frío del puré de mango en ambos tipos de bolsas (A y B) alcanzó la temperatura de tratamiento seleccionada al mismo tiempo, motivo por el cual se continuó trabajando con las bolsas confeccionadas en el laboratorio (A).

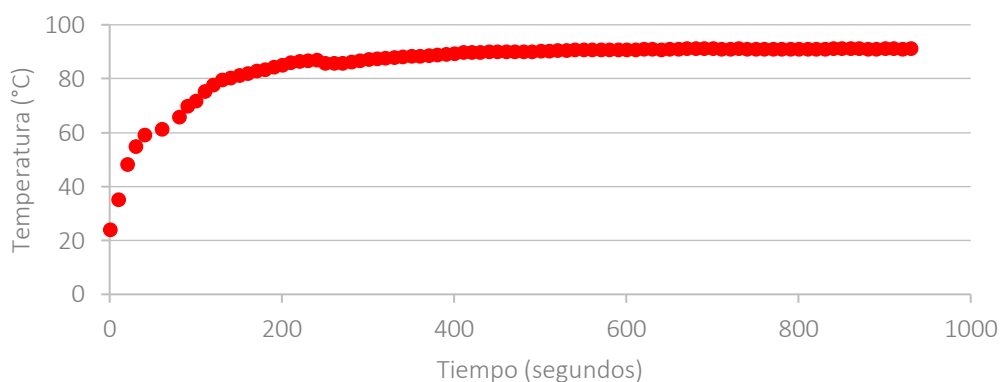


Figura 4.1. Curva de temperatura de tratamiento a 90 °C en función del tiempo para el puré de mango envasado en bolsas de polietileno.

4.2.1.b. Efecto sobre el color del puré de mango tratado térmicamente a diferentes temperaturas y tiempo de tratamiento.

El color del puré de mango es uno de sus principales atributos de calidad y algunos autores observaron que durante el procesamiento térmico y el almacenamiento se producían cambios en el mismo. Ahmed y col. (2002) encontraron variaciones en el parámetro b^* por cambios en el color amarillo y en a^* y L^* como resultado del pardeamiento.

El puré de mango recientemente preparado, se trató térmicamente a 75, 80, 85 y 90 °C durante 1, 5, 10 y 15 minutos de exposición, para lo cual se colocaron 100 g en bolsas de polietileno previo a su tratamiento y posterior almacenamiento a 25 °C (figura 4.2.).

Se determinó la evolución del color del puré durante 17 días, utilizando el análisis digital de imágenes y calculando el valor de ΔE^* tomando como referencia las mediciones realizadas en el producto al inicio del ensayo.



Figura 4.2. Puré de mango tratado térmicamente entre 75 y 90 °C, durante 1 a 15 minutos y almacenado a 25 °C.

En las figuras 4.4. a 4.7. se muestran los cambios observados en el ΔE^* luego de la aplicación de los tratamientos térmicos a las diferentes temperaturas y durante el almacenamiento. En las mismas se observa un aumento gradual y significativo ($p < 0,05$) en el cambio de color durante el almacenamiento a 25 °C. Asimismo, al transcurrir el tiempo de almacenamiento, para cada combinación temperatura/tiempo de tratamiento, se observa una disminución en los cambios de color al aumentar la rigurosidad de los mismos. El tratamiento térmico a 90 °C durante 15 minutos presentó los menores valores de ΔE^* al final del almacenamiento.

En la figura 4.3. se observan purés de mango control y tratados térmicamente entre 75 y 90 °C, durante 1 minuto, a los 4 días y luego de una semana de almacenamiento a 25 °C. En la figura b) se aprecia la descomposición del puré control, evidenciada por el hinchamiento de la bolsa de polietileno.



Figura 4.3. Purés de mango control y tratados térmicamente entre 75 y 90 °C durante 1 minuto, almacenados a 25 °C: a) luego de 4 días y b) luego de 7 días.

La cinética de degradación del color en alimentos es un fenómeno muy complejo y varios investigadores se dedicaron al estudio del efecto de los tratamientos térmicos sobre la degradación de pigmentos y el cambio de color (Polydera y col., 2005; Loong y col., 2004; Ahmed y col., 2000), dado que permite predecir los cambios en la calidad del producto que tendrán lugar durante el proceso. Desde el punto de vista ingenieril el cálculo de la constante de velocidad y la energía de activación son muy útiles.

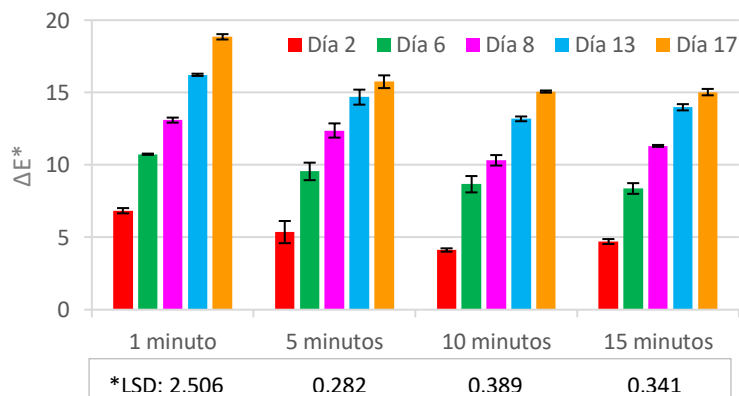


Figura 4.4. Evolución del parámetro ΔE^* en puré de mango tratado térmicamente a 75 °C a diversos tiempos (1, 5, 10 y 15 minutos) durante el almacenamiento a 25 °C.

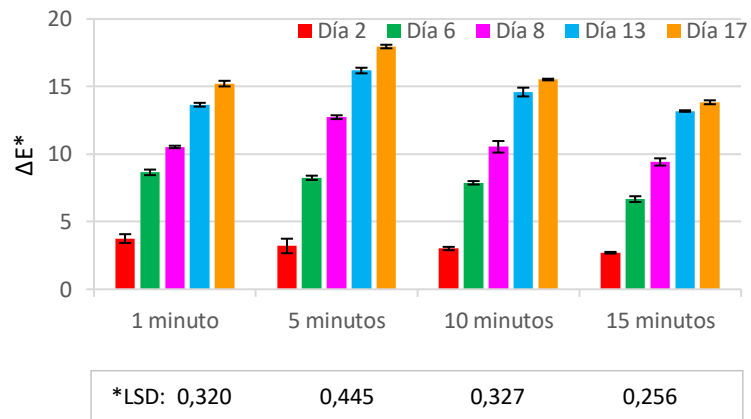


Figura 4.5. Evolución del parámetro ΔE^* en puré de mango tratado térmicamente a 80 °C a diversos tiempos (1, 5, 10 y 15 minutos) durante el almacenamiento a 25 °C.

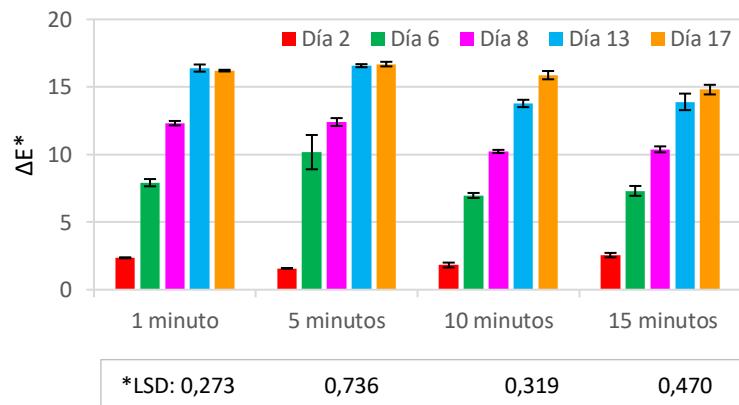


Figura 4.6. Evolución del parámetro ΔE^* en puré de mango tratado térmicamente a 85 °C a diversos tiempos (1, 5, 10 y 15 minutos) durante el almacenamiento a 25 °C.

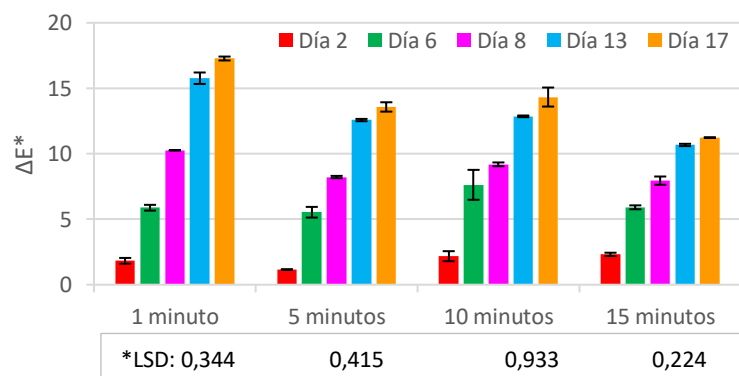


Figura 4.7. Evolución del parámetro ΔE^* en puré de mango tratado térmicamente a 90 °C a diversos tiempos (1, 5, 10 y 15 minutos) durante el almacenamiento a 25 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

Por este motivo, y en base a los resultados anteriores, se estudió la cinética del cambio de color (ΔE^*) en función del tiempo de almacenamiento para cada condición de temperatura-tiempo (T-t) de tratamiento.

Se propuso que la cinética de cambio de color en función del tiempo es de orden cero, por lo tanto:

$$d \Delta E^* = k * dt$$

La condición inicial es para $t = 0$ $\Delta E^* = \Delta E^*_0$

Luego: $\Delta E^* - \Delta E^*_0 = k * t$

Al efectuar la representación gráfica de $\Delta E^* f=(t)$ (fig. 4.8.) para los purés tratados en un rango de 75 a 90 °C y distintos tiempos de exposición, almacenados a 25 °C, se obtuvo un valor medio de $k = 0,8441$ (días⁻¹) con un $R^2 = 0,8555$, con un intervalo de confianza del 95%.

Dado que el tratamiento térmico a 90 °C aplicado durante 15 minutos presentó los menores valores de cambios de color al final del almacenamiento, se continuó con el estudio de la vida útil de los purés de mango tratados a 90 °C durante el almacenamiento refrigerado a 10 y 4 °C.

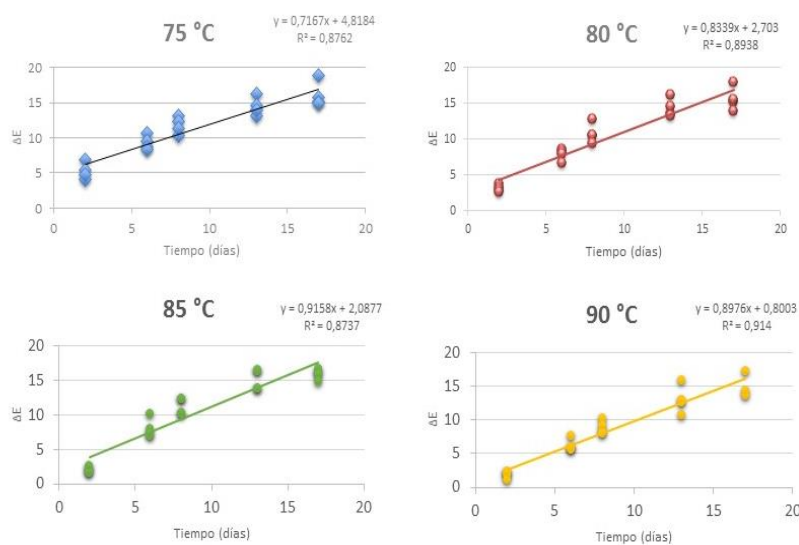


Figura 4.8. Cambio de color ΔE en función del tiempo de almacenamiento a 25 °C para los purés tratados térmicamente de 75 a 90 °C.

4.2.1.c. Determinación del tiempo de vida útil a 10 °C del puré tratado a 90 °C.

Para determinar el tiempo de vida útil a 10 °C del puré de mango envasado en bolsas de polietileno tratados a 90 °C, se realizaron los tratamientos durante 1, 5, 10 y 15 minutos según se describió anteriormente, se estudió el color y evaluó sensorialmente.

Los tratamientos no modificaron significativamente ($p < 0,05$) los tres parámetros de color analizados, los cuales fueron medidos inmediatamente luego de ser aplicados.

En cuanto al ΔE^* (figura 4.9.), los purés tratados a los 4 tiempos de exposición presentaron una evolución similar durante el almacenamiento, no encontrándose diferencias significativas ($p > 0,05$) entre ellos. Al final del almacenamiento a 10 °C todos los purés presentaron un ΔE^* mayor a 6.

El análisis sensorial evidenció que los 4 tratamientos tuvieron un comportamiento similar, siendo el aroma el atributo determinante de la aceptación al final del almacenamiento. Greenberg y col. (2008) determinaron que el flavor fue el determinante de la aceptabilidad del puré de mango esterilizado y envasado en bolsas asépticas, siendo la vida útil de 2 meses.

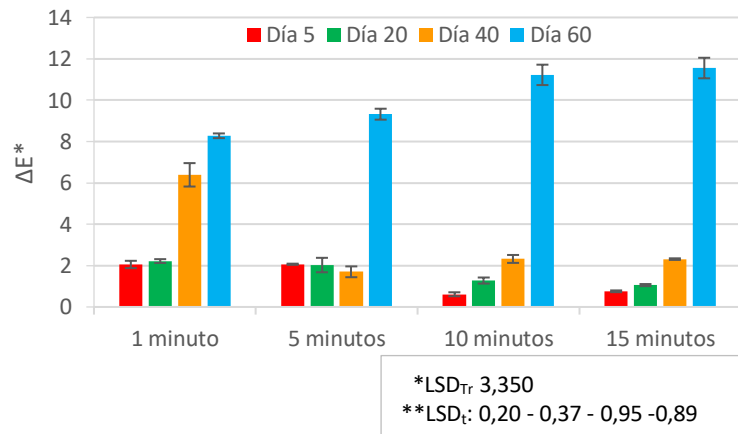


Figura 4.9. Evolución durante el almacenamiento a 10 °C del parámetro de color ΔE^* de purés de mango tratados térmicamente a 90 °C durante 1, 5, 10 y 15 minutos.

*LSD_T: comparación de medias de los diferentes tratamientos.

**LSD_t: comparación de medias entre tratamientos a cada tiempo de almacenamiento.

4.2.1.d. Determinación del tiempo de vida útil a 4 °C del puré tratado a 90 °C

Para determinar el tiempo de vida útil a 4 °C del puré de mango envasado en bolsas de polietileno tratados a 90 °C, se realizaron los tratamientos durante 1, 5, 10 y 15 minutos según se describió anteriormente, y se estudió el color y evaluó sensorialmente.

Los 3 parámetros de color evaluados tuvieron un comportamiento similar para los 4 tiempos de tratamiento disminuyendo durante los 60 días de almacenamiento.

Los purés tratados a los 4 tiempos presentaron un incremento del ΔE^* (figura 4.10.) durante el almacenamiento, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos durante los 60 días.

Sin embargo, mediante el análisis sensorial, los evaluadores no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. Para los 4 tiempos de tratamiento los 5 parámetros evaluados (color, brillo, aspecto, consistencia y aroma) obtuvieron puntajes por encima del límite de aceptabilidad establecido (≥ 3).

Una vez realizados los ensayos preliminares, y en base a los resultados obtenidos en estos, se decidió continuar con los tratamientos térmicos a 90 °C de modo de asegurar la máxima inactivación de las enzimas oxidativas PPO y POD.

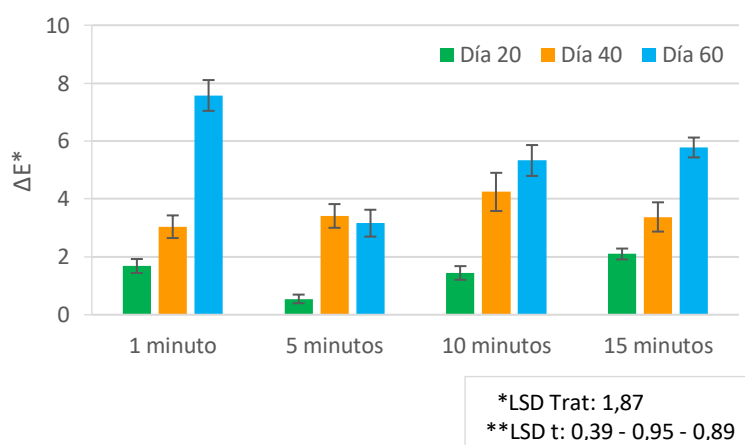


Figura 4.10. Evolución durante el almacenamiento a 4 °C del parámetro de color ΔE^* de purés de mango tratados térmicamente a 90 °C durante 1, 5, 10 y 15 minutos.

*LSD_t: comparación de medias de los diferentes tratamientos.

**LSD_t: comparación de medias entre tratamientos a cada tiempo de almacenamiento.

4.2.2. Ensayos de almacenamiento del puré envasado en bolsas de polietileno tratado térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos, almacenado a 10 y 4 °C

Se realizaron estudios de almacenamiento a 10 y 4 °C, efectuándose determinaciones de acidez y pH, color, azúcares totales y reductores, actividad antioxidante, fenoles totales, carotenoides totales, contenido de β -caroteno, ácido ascórbico, actividad de las enzimas POD y PPO, análisis microbiológico y análisis sensorial.

Se eligió una temperatura relativamente alta de refrigeración (10 °C) para simular condiciones de almacenamiento que se presentan en la mayoría de los puntos de distribución y venta de productos refrigerados. Se realizaron los tratamientos térmicos a 90 °C durante 1 y 15 minutos.

Los purés tratados térmicamente se almacenaron durante 60 días y los controles durante 10 días (figura 4.11.). A tiempos prefijados se retiraron las muestras y guardaron en freezer a -18 °C hasta el momento de su análisis.



Figura 4.11. Puré de mango tratado térmicamente durante 1 y 15 minutos, almacenado a 10 y 4°C.

Acidez y pH

El puré de mango tuvo inicialmente valores de acidez en un rango de $270,41 \pm 1,92$ a $437,58 \pm 29,98$ mg ácido cítrico/100 g y los tratamientos térmicos no tuvieron efecto significativo inmediato ($p > 0,05$). De la misma forma, Camargo Neves y col. (2007) no encontraron diferencias significativas en la acidez titulable de la pulpa de mango “Tommy Atkins” luego de aplicar un tratamiento de pasteurización (95 ± 5 °C) al igual que Santhirasegaram y col. (2015) para el jugo de mango “Chokanan” pasteurizado a 90 ± 1 °C durante 60 segundos y Ledeker (2014) en puré de mango tratado a 85 °C.

Durante el almacenamiento a 10 y 4 °C del puré control (Tablas 4.1. y 4.2.) y del puré tratado a 90 °C durante 1 y 15 minutos (Tablas 4.3. y 4.4.), la acidez no mostró cambios significativos ($p > 0,05$). Asimismo, el pH de los purés control y tratados se mantuvo sin cambios significativos durante los 10 y 60 días de almacenamiento refrigerado respectivamente, así como tampoco se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos aplicados.

Color

Los parámetros de color obtenidos mediante análisis digital de imágenes se presentan en las Tabla 4.5. y 4.6. El puré fresco presentó valores iniciales de L^* , a^* y b^* en un rango de $55,76 \pm 0,14$ a $61,13 \pm 0,01$; $10,71 \pm 0,02$ a $10,89 \pm 0,03$ y $51,96 \pm 0,10$ a $55,89 \pm 0,16$ respectivamente. En las mencionadas Tablas se distingue que los tres parámetros de color disminuyeron inmediatamente luego de la aplicación de los tratamientos térmicos y durante el almacenamiento refrigerado, aunque los descensos de los parámetros a 4 °C fueron menos notorios, especialmente en L^* y b^* . Las disminuciones más marcadas se presentaron en los purés control durante los 10 días de almacenamiento.

Tabla 4.1. Cambios en el pH y la acidez titulable (mg ácido cítrico/100 g tejido) en purés de mango control almacenados a 10 °C.

Día	pH	Acidez
0	$4,93 \pm 0,36$	$284,93 \pm 24,75$
2	$4,77 \pm 0,02$	$254,94 \pm 3,73$
4	$4,60 \pm 0,01$	$246,91 \pm 1,39$
6	$4,40 \pm 0,16$	$252,64 \pm 12,52$
8	$4,35 \pm 0,03$	$262,79 \pm 0,02$
10	$4,54 \pm 0,04$	$259,46 \pm 14,19$
*LSD	0,53	37,70

Tabla 4.2. Cambios en el pH y la acidez titulable (mg ácido cítrico/100 g tejido) en purés de mango control almacenados a 4 °C.

Días	pH	Acidez
0	4,35 ± 0,00	437,58 ± 29,98
4	4,63 ± 0,08	432,19 ± 8,09
10	4,3 ± 0,12	490,39 ± 1,03
*LSD	0,27	57,08

*LSD_{tr}: comparación de medias de durante el almacenamiento.

En la figura 4.12. se pueden observar purés de mango control y tratados térmicamente 90 °C durante 1 y 15 minutos, envasados en bolsas de polietileno, a diferentes tiempos de almacenamiento refrigerado. Como se mencionaba anteriormente, en la figura puede observarse el notorio cambio de color experimentado por el puré control almacenado a 10 °C. Y, si bien los parámetros de color L*, a* y b* disminuyeron inmediatamente luego de la aplicación de los tratamientos térmicos y durante el almacenamiento refrigerado, puede apreciarse que los cambios en el color fueron menos perceptibles.

El color del puré de mango control se modificó durante el almacenamiento a 10 °C, alcanzando al día 2 un valor de ΔE^* de $15,59 \pm 1,30$, el cual no presentó variación significativa ($p > 0,05$) a lo largo de los 10 días de almacenamiento (figuras 4.12. y 4.13.) Sin embargo, a 4 °C se encontró un incremento superior a 8 recién a los 4 días (figura 4.13.). Estas diferencias de color continuaron acentuándose a medida que el tiempo de almacenamiento a 4 °C transcurrió, alcanzando a los 10 días un valor de $14,95 \pm 0,22$.

En los purés tratados térmicamente y almacenados a 10 °C, el cambio de color ΔE^* tuvo un incremento inferior a las 2 unidades al inicio del almacenamiento, manteniéndose los valores prácticamente constantes durante los primeros 20 días. Posteriormente, se distinguió un incremento en ΔE^* superando el valor de 6 luego de aproximadamente 50 días de almacenamiento (figura 4.14.). Los mayores cambios de color al final del almacenamiento los tuvo el tratamiento térmico más prolongado. En los purés almacenados a 4 °C (figura 4.15.), el parámetro ΔE^* aumentó significativamente ($p < 0,05$) a lo largo del almacenamiento.

Las diferencias fueron moderadamente perceptibles ($2 < \Delta E^* < 3$) hasta el día 40 para los purés tratados 1 minuto y hasta el día 20 para los tratados 15 minutos. Sin embargo, al final del almacenamiento el ΔE^* fue significativamente menor para los purés tratados 15 minutos. Los cambios de color fueron menos notorios que en los purés almacenados a 10 °C.

Tabla 4.3. Cambios en el pH y la acidez titulable (mg ácido cítrico/100 g tejido) en purés de mango tratados durante 1 y 15 minutos almacenados a 10 °C.

Día	1 minuto		15 minutos	
	pH	Acidez	pH	Acidez
0	4,80 ± 0,04	285,87 ± 0,41	4,85 ± 0,05	270,41 ± 1,92
5	4,56 ± 0,04	303,60 ± 3,37	4,38 ± 0,01	302,87 ± 5,55
10	4,62 ± 0,01	287,29 ± 0,81	4,45 ± 0,01	300,91 ± 2,35
15	4,65 ± 0,00	285,30 ± 2,41	4,58 ± 0,04	299,84 ± 0,42
20	4,65 ± 0,01	288,72 ± 3,23	4,64 ± 0,03	305,14 ± 3,64
25	4,62 ± 0,01	299,27 ± 4,45	4,53 ± 0,04	308,16 ± 6,63
32	4,44 ± 0,06	277,09 ± 2,13	4,52 ± 0,06	311,37 ± 0,44
39	4,57 ± 0,01	272,59 ± 0,39	4,43 ± 0,04	293,34 ± 0,62
46	4,56 ± 0,06	286,50 ± 3,86	4,44 ± 0,04	293,71 ± 0,32
53	4,67 ± 0,01	287,006 ± 2,328	4,46 ± 0,04	303,812 ± 8,455
60	4,75 ± 0,05	281,044 ± 0,397	4,49 ± 0,03	293,411 ± 0,100

*LSD	0,08	5,68	0,08	8,64
**LSD Tr	ph 0,18 – acidez 5,98			

Tabla 4.4. Cambios en el pH y la acidez titulable (mg ácido cítrico/100 g tejido) en purés de mango tratados térmicamente almacenados a 4 °C.

Días	1 minuto		15 minutos	
	pH	Acidez	pH	Acidez
0	4,50 ± 0,36	435,31 ± 7,19	4,61 ± 0,17	447,51 ± 17,24
30	4,02 ± 0,06	418,88 ± 0,00	4,41 ± 0,00	427,11 ± 2,68
60	4,33 ± 0,02	414,21 ± 11,35	4,41 ± 0,01	409,76 ± 2,76
*LSD	0,67	27,70	0,31	32,46
**LSD Tr	pH 0,73 – acidez 64,91			

*LSD: comparación de medias durante el almacenamiento.

**LSD_{Tr}: comparación de medias entre tratamientos.



Figura 4.12. Puré de mango control al tiempo inicial y luego de 4 días de almacenamiento a 10 °C; purés tratados durante 1 y 15 minutos al tiempo inicial, luego de 4 días de almacenamiento a 10 °C y luego de 60 días de almacenamiento a 4 °C.

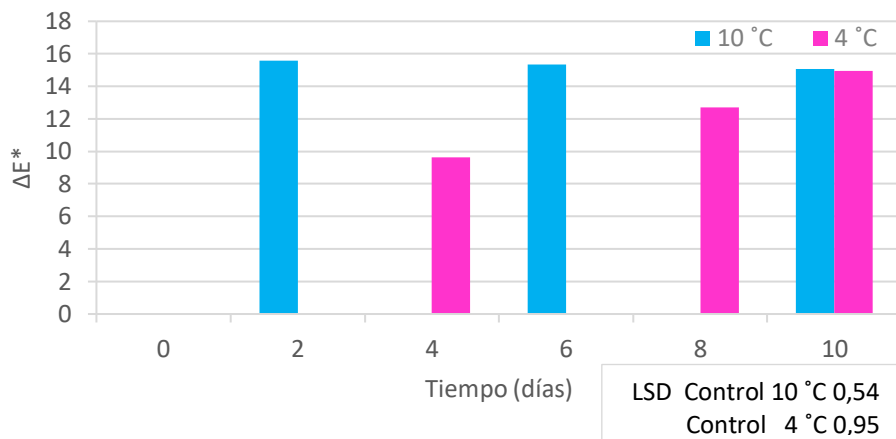


Figura 4.13. Evolución del parámetro ΔE^* en purés de mango control almacenados a 10 y 4 °C.

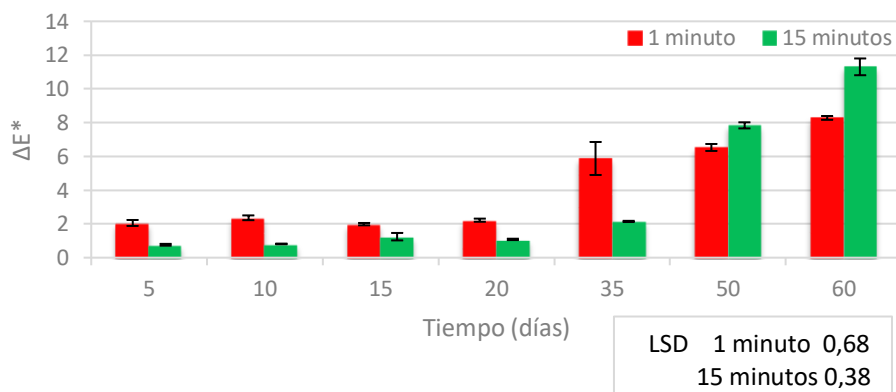


Figura 4.14. Evolución del parámetro ΔE^* en purés de mango tratados a 90 °C durante 1 y 15 minutos y almacenados a 10 °C.

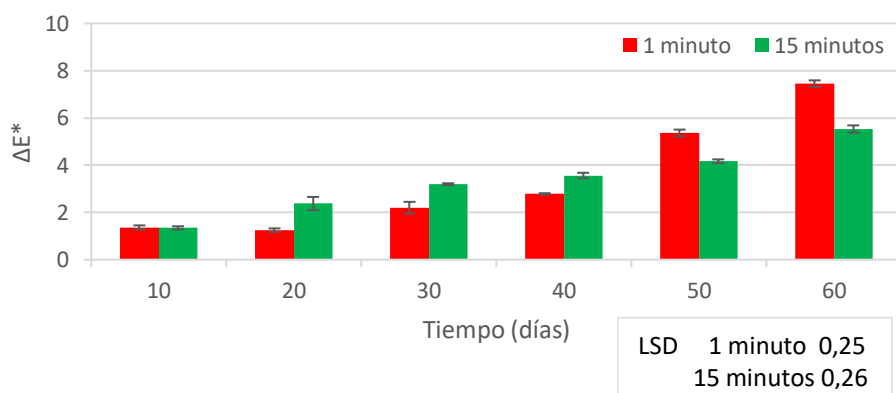


Figura 4.15. Evolución del parámetro ΔE^* en purés de tratados térmicamente y almacenados a 4 °C en bolsas de polietileno.

Tabla 4.5. Evolución de los parámetros de color de purés de mango control y tratados a 90 °C durante 1 y 15 minutos y almacenados a 10 °C.

Tratamiento	Día	L*	a*	b*
Control	0	61,13 ± 0,01	10,71 ± 0,02	55,89 ± 0,16
	2	52,57 ± 0,06	9,12 ± 0,38	42,99 ± 1,58
	6	49,89 ± 0,04	10,05 ± 0,09	45,49 ± 0,16
	10	50,06 ± 0,12	10,26 ± 0,08	45,67 ± 0,11
	1 minuto	0	54,89 ± 0,07	10,63 ± 0,10
	5	54,70 ± 0,10	10,20 ± 0,08	49,19 ± 0,17
	10	53,49 ± 0,08	10,45 ± 0,09	49,29 ± 0,11
	15	53,60 ± 0,04	10,79 ± 0,07	49,70 ± 0,11
	20	53,61 ± 0,04	10,22 ± 0,03	49,43 ± 0,11
	35	51,31 ± 0,32	9,86 ± 0,19	46,60 ± 0,98
	50	51,12 ± 0,17	9,36 ± 0,02	46,02 ± 0,14
	60	49,90 ± 0,13	9,43 ± 0,06	44,69 ± 0,16
15 minutos	0	53,60 ± 0,03	9,49 ± 0,02	49,73 ± 0,04
	5	54,10 ± 0,06	10,04 ± 0,01	49,89 ± 0,04
	10	53,54 ± 0,10	10,26 ± 0,03	49,51 ± 0,03
	15	53,94 ± 0,19	10,55 ± 0,09	50,23 ± 0,28
	20	53,77 ± 0,13	10,53 ± 0,03	49,96 ± 0,04
	35	52,14 ± 0,02	10,37 ± 0,04	48,43 ± 0,03
	50	49,34 ± 0,04	8,78 ± 0,05	43,19 ± 0,18
	60	48,49 ± 0,17	8,74 ± 0,05	39,68 ± 0,51

LSD control L 0,13 – a* 0,38 – b* 1,15

LSD 1 minuto L 0,26 – a* 0,16 – b* 0,64

LSD 15 minutos L 0,19 – a* 0,08 – b* 0,37

**LSD Tr L* 0,09 – a* 0,13 – b* 0,24

Tabla 4.6. Evolución de los parámetros de color de purés de mango control y tratados a 90 °C durante 1 y 15 minutos y almacenados a 4 °C.

Tratamiento	Día	L*	a*	b*
Control	0	55,76 ± 0,14	10,89 ± 0,03	51,96 ± 0,10
	4	49,57 ± 0,10	8,77 ± 0,02	44,90 ± 0,25
	8	48,71 ± 0,23	7,65 ± 0,04	41,93 ± 0,17
	10	48,58 ± 0,16	6,93 ± 0,03	39,47 ± 0,16
1 minuto	0	53,85 ± 0,17	9,25 ± 0,03	50,07 ± 0,18
	10	53,12 ± 0,07	8,57 ± 0,01	49,14 ± 0,07
	20	53,25 ± 0,03	8,67 ± 0,04	49,13 ± 0,06
	30	52,75 ± 0,04	8,52 ± 0,08	48,31 ± 0,25
	40	52,38 ± 0,02	8,35 ± 0,02	47,89 ± 0,02
	50	50,68 ± 0,06	7,93 ± 0,04	45,96 ± 0,13
	60	50,14 ± 0,01	8,40 ± 0,02	43,67 ± 0,16
15 minutos	0	53,06 ± 0,04	8,80 ± 0,05	48,86 ± 0,06
	10	52,33 ± 0,07	8,04 ± 0,03	48,02 ± 0,06
	20	51,45 ± 0,14	8,40 ± 0,13	47,17 ± 0,26
	30	51,09 ± 0,04	7,60 ± 0,01	46,65 ± 0,02
	40	50,84 ± 0,06	8,28 ± 0,02	46,12 ± 0,10
	50	50,84 ± 0,06	7,75 ± 0,02	45,50 ± 0,08
	60	50,55 ± 0,05	7,55 ± 0,02	44,10 ± 0,20

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

LSD control	L 0,31 – a* 0,06 – b* 0,33
LSD 1 minuto	L 0,13 – a* 0,07 – b* 0,25
LSD 15 minutos	L 0,13 – a* 0,10 – b* 0,24
**LSD Tr	L* 0,26 – a* 0,08 – b* 0,25

Azúcares totales y reductores

Los azúcares presentes en el fruto de mango, son principalmente glucosa, fructosa y sacarosa, siendo la sacarosa el principal entre ellos. Inicialmente, el contenido de azúcares

totales fue de $10,062 \pm 0,444$ a $10,146 \pm 0,844$ g glucosa/100 g de tejido en los purés control y no fueron afectados por la aplicación de los tratamientos térmicos.

El contenido de azúcares totales en el puré control almacenado a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ disminuyó gradualmente a partir del día 4 de almacenamiento, reduciéndose un 29% a los 10 días de almacenamiento (figura. 4.16.), mientras en el almacenado a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) a lo largo del almacenamiento (figura 4.16.). Sin embargo, los niveles de azúcares reductores, que inicialmente fueron de $2,098 \pm 0,079$ a $2,228 \pm 0,108$ g glc/100 g de tejido, se mantuvieron invariables a lo largo del almacenamiento refrigerado (figura 4.16.).

En el puré de mango sometido a tratamientos térmicos no se detectaron cambios en el contenido de azúcares totales durante los 60 días de almacenamiento a ambas temperaturas de refrigeración, tal como puede observarse en las figuras 4.17. y 4.18., al igual que en los azúcares reductores.

En concordancia con lo hallado, Zambrano y col. (2008) reportaron valores de azúcares totales y reductores de 10,650 y 2,1 g/100 g para el mango fresco y de 10,596 y 2,1 g/100 g luego de aplicado el tratamiento de escaldado de los frutos por medio de vapor de agua, no encontrando diferencias significativas en el contenido de azúcares totales y reductores luego de aplicado el tratamiento térmico. Benhura y col. (2012) determinaron una tendencia similar en pulpa de mango sudafricano adicionado con preservativos y pasteurizado en un rango de 80 a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ almacenado a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

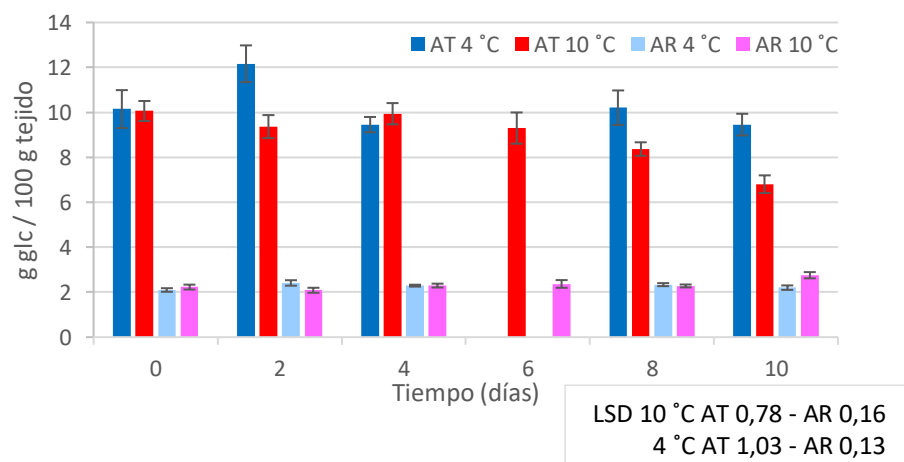


Figura 4.16. Evolución del contenido de azúcares totales y reductores en purés de mango control durante su almacenamiento a 10 y $4\text{ }^{\circ}\text{C}$.

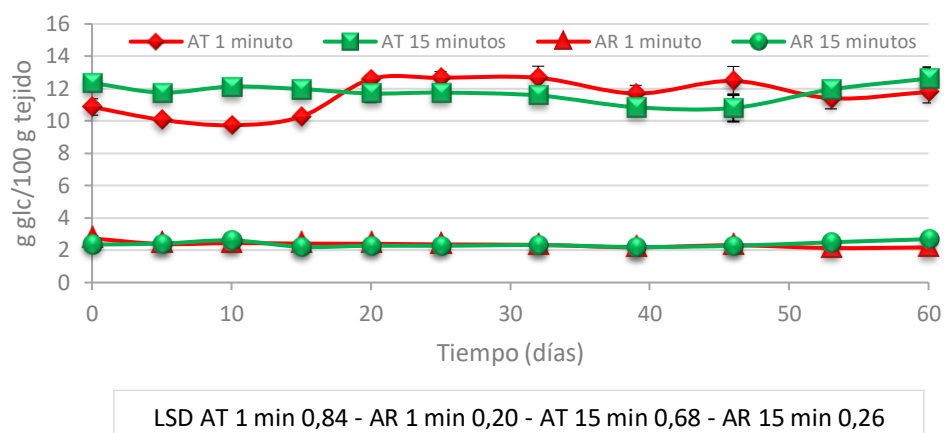


Figura 4.17. Evolución del contenido de azúcares totales y reductores en purés de mango tratados térmicamente durante su almacenamiento a 10 °C.

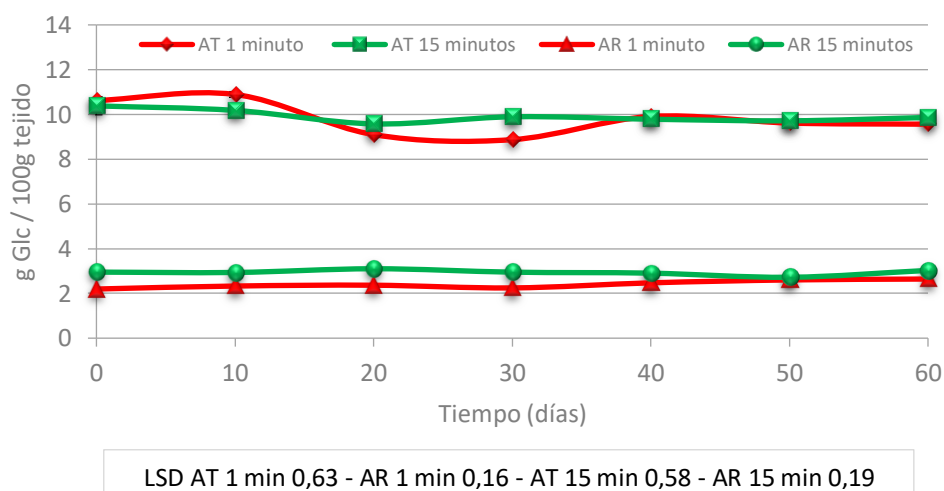


Figura 4.18. Evolución del contenido de azúcares totales (AT) y reductores (AR) en purés de mango tratados térmicamente, durante su almacenamiento a 4 °C.

Actividad Antioxidante

La capacidad o actividad antioxidante se utiliza para valorar el potencial antioxidante de un tejido, el cual es dependiente de los diferentes compuestos bioactivos presentes en el fruto (Robles-Sánchez y col., 2009).

En los purés de mango utilizados para los ensayos de almacenamiento a 10 y 4 °C, la capacidad antioxidante inicial determinada por el método del DPPH, fue de $0,417 \pm 0,050$ mg ácido clorogénico/g de tejido, y luego del tratamiento térmico a 90 °C durante 1 y 15 minutos no se modificó, en coincidencia con lo encontrado por Santhirasegaram y col. (2015) en jugo de mango "Chokanan".

En los purés control almacenados a 10 °C (figura 4.19.) la actividad antioxidante tuvo una disminución, principalmente durante los primeros días de almacenamiento, siendo del 25,5% a los 10 días. En los purés control almacenados a 4 °C, la actividad antioxidante tuvo un descenso del 19% a los 10 días de almacenamiento, siendo estas pérdidas significativamente inferiores a las observadas durante el almacenamiento a 10 °C (figura 4.19.).

Por su parte, en los purés tratados a 90 °C durante 1 y 15 minutos, se observó una disminución gradual durante los primeros 40 días de almacenamiento a 10 °C, alcanzando pérdidas superiores al 20 % para cada condición ensayada respectivamente al final del almacenamiento (figura 4.20.). Durante el almacenamiento a 4 °C, la actividad antioxidante tuvo los descensos más notorios durante los primeros 10 días (figura 4.21.), siendo las pérdidas al finalizar el almacenamiento superiores al 30% para 1 y 15 minutos de tratamiento. No se distinguieron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos aplicados ($p > 0,05$) para ambas temperaturas de almacenamiento.

Liu y col. (2014) determinaron para néctar de mango, tratado a 110°C por 8,6 segundos y almacenado a 4 y 25 °C, una reducción de la capacidad antioxidante (utilizando •DPPH) del 27,36% y 28,64% respectivamente. Sin embargo, en puré de frutilla tratado térmicamente (90 °C, de 20 seg. a 2 min.) no se detectaron cambios en la actividad antiradical a pesar de las disminuciones observadas en el contenido de ácido ascórbico y antocianinas (Osorio Mora, 2008).

Fenoles totales

Entre los fenoles presentes en el mango se incluyen a los ácidos gálicos, galotaninos, quercetina, isoquercetina, kaempferol, mangiferina, ácido elágico y peonidina 3-galactosido,

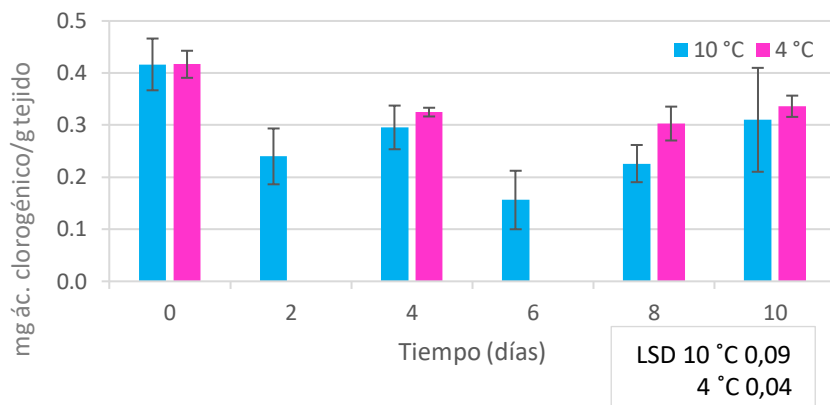


Figura 4.19. Variación de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento a 4 °C de puré de mango sin tratamiento.

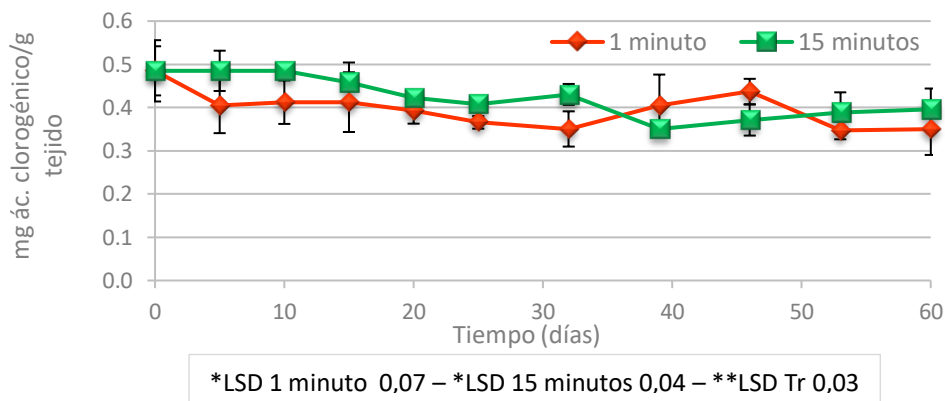


Figura 4.20. Variación de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento a 10 °C de puré de mango tratado durante 1 y 15 minutos a 90 °C.

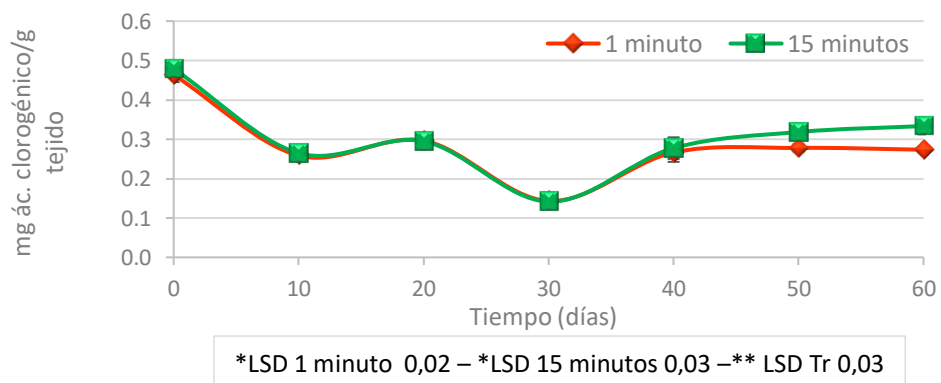


Figura 4.21. Variación de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento a 4 °C de puré de mango tratado durante 1 y 15 minutos a 90 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

eugenol, ácido ferúlico y timol (Schieber y col, 2000; Shaidi y col., 2004). Se determinó el contenido de fenoles totales utilizando el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.

El contenido inicial de fenoles totales en purés control fue de $1027,086 \pm 31,286$ a $1225,164 \pm 45,680$ μg ácido clorogénico/g tejido, el cual fue afectado por los tratamientos térmicos, en mayor medida cuanto mayor fue la duración del tratamiento, siendo del 1,4 a 6% y 15 a 34% luego de 1 y 15 minutos respectivamente.

El contenido de fenoles totales en los purés control disminuyó significativamente al día 2 de almacenamiento a 10°C en un 13% ($p < 0,05$) mientras que a 4°C la pérdida fue del 25%. En ambos casos el contenido luego permaneció invariable hasta el día 10 de almacenamiento (figura 4.22.).

Una evolución similar se observó en los fenoles totales de los puré tratados térmicamente, aunque las pérdidas luego de 60 días de almacenamiento alcanzaron niveles superiores al 32% para los purés almacenados a ambas temperaturas (figuras 4.23. y 4.24.).

Liu y col. (2014) informaron en néctar de mango un contenido inicial de fenoles totales de $92,00 \pm 2,35$ mg equivalentes de ácido gálico/100 mL y no se produjeron diferencias significativas luego de aplicado el tratamiento térmico ($110^\circ\text{C}/8,6$ segundos); y durante el almacenamiento a 4 y 25°C , luego de 16 semanas, el contenido disminuyó 17,03 y 25,23% respectivamente.

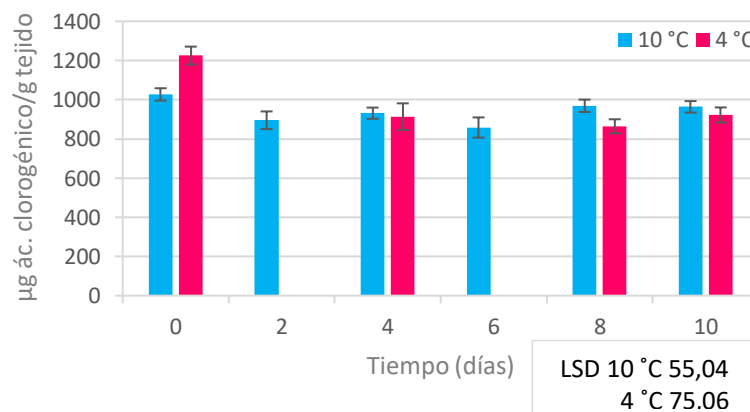


Figura 4.22. Evolución del contenido de fenoles totales durante el almacenamiento a 10 y 4°C de puré de mango control.

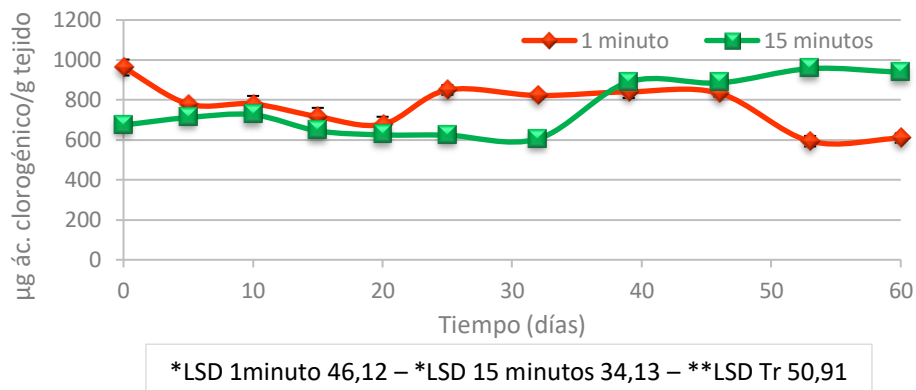


Figura 4.23. Evolución del contenido de fenoles totales durante el almacenamiento a 10 °C de purés de mango tratados a 90 °C durante 1 y 15 minutos.

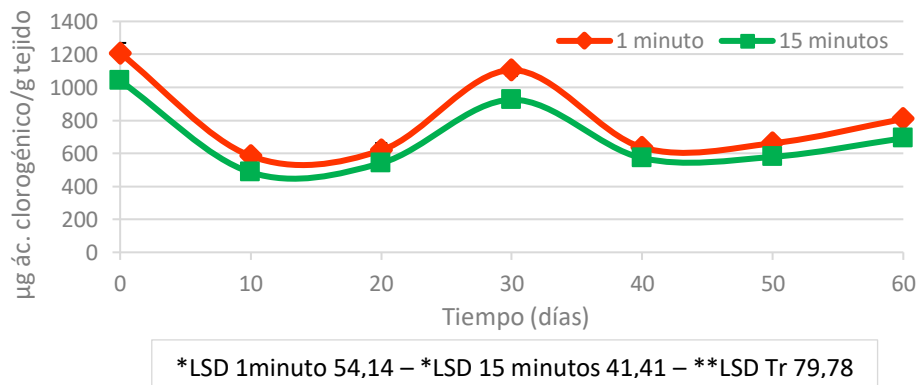


Figura 4.24. Evolución de fenoles totales durante el almacenamiento a 4 °C en bolsas de polietileno de puré de mango tratado térmicamente.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Carotenoides totales

Los pigmentos presentes en mango, compuestos que le otorgan el color anaranjado característico, son principalmente el β -caroteno y la α -criptoxantina y su estabilidad es de importancia en la calidad organoléptica y nutricional del puré.

En el puré de mango “criollo”, los contenidos de carotenoides totales determinados espectrofotométricamente fueron de $38,72 \pm 4,07$ a $47,45 \pm 2,88$ μg β -caroteno/g tejido. Estos niveles fueron afectados por la duración de los tratamientos térmicos a 90 °C, dado que, inmediatamente luego de su aplicación durante 15 minutos, el contenido de

carotenoides disminuyó un 13,6 a 17,2%, mientras que no tuvo cambios significativos ($p > 0,05$) en los purés tratados durante 1 minuto.

En la figura 4.25. se muestra el comportamiento de los carotenoides durante los 10 días de almacenamiento a 10 °C de los purés control, donde se puede observar que no hubo cambios significativos ($p > 0,05$); un comportamiento similar se determinó para los almacenados a 4 °C (datos no mostrados).

Sin embargo, en los purés tratados durante 1 y 15 minutos a 90 °C y almacenados a 10 y 4 °C (figuras 4.26. y 4.27.) se distingue una disminución gradual durante los 60 días de almacenamiento, llegando a pérdidas del 34% a 35,7% y 46,7% a 50,4% respectivamente al final del mismo.

Godoy y col. (1987) analizaron el contenido de carotenoides en puré de mango “Golden”, determinando para el puré fresco un contenido inicial de $23,90 \pm 0,12 \mu\text{g/g}$ mientras en el puré tratado a 80°C por 10 minutos, el contenido fue de $22,55 \pm 0,06 \mu\text{g/g}$. En néctar de mango “Tainong N° 1” analizado por Liu y col. (2014) el contenido inicial de carotenoides totales fue de $4,04 \pm 0,06 \text{ mg/100 mL}$, y no presentó cambios significativos luego de aplicado un tratamiento de alta temperatura y corto tiempo (110 °C/8,6 segundos). Luego de 16 semanas de almacenamiento a 4 °C, la retención de carotenoides totales fue del 69,20%.

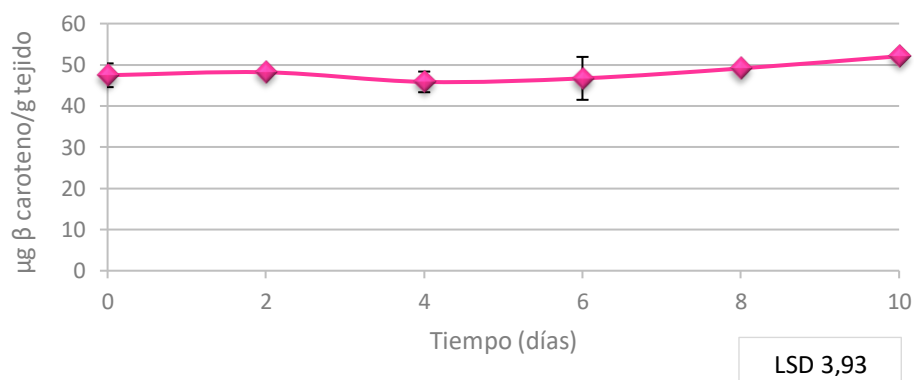


Figura 4.25. Evolución del contenido de pigmentos carotenoides en purés de mango control durante su almacenamiento a 10°C.

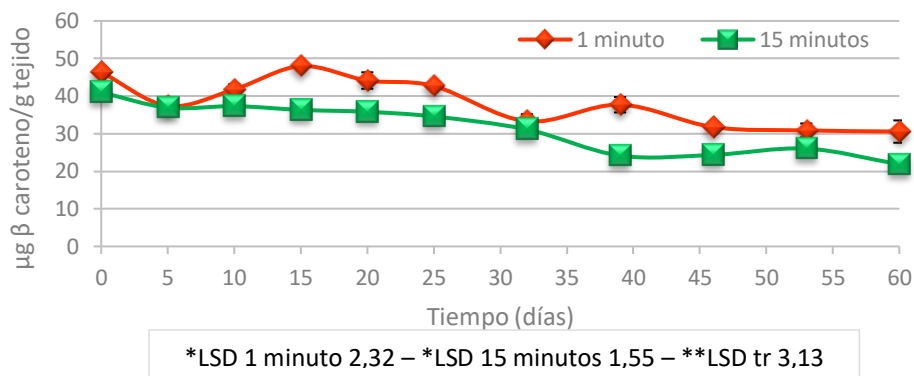


Figura 4.26. Evolución del contenido de pigmentos carotenoides en purés de mango tratados térmicamente durante su almacenamiento a 10 °C.

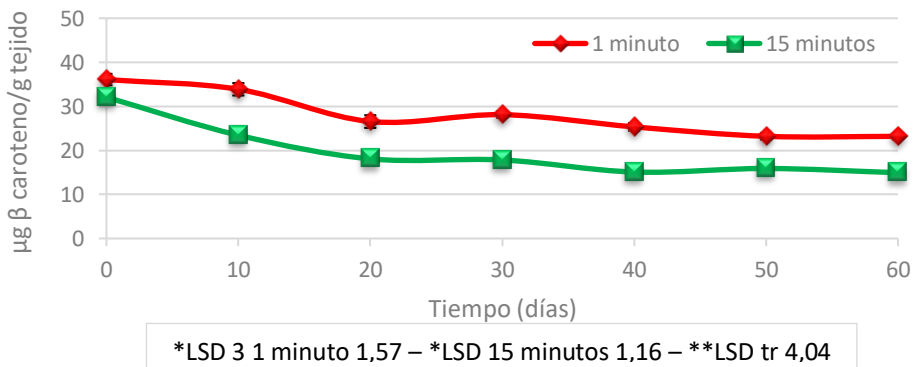


Figura 4.27. Evolución del contenido de carotenoides en purés tratados a 90 °C, almacenados a 4 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

β-caroteno

El β -caroteno comprende más del 50% del contenido total de carotenoides en la mayoría de los cultivares de mango. Es por ello que este fruto contribuye a proveer de provitamina A a los países tropicales y subtropicales (Vásquez-Caicedo y col., 2005). Para los ensayos de almacenamiento a 4 °C se efectuó su β por HPLC. El contenido de inicial de β -caroteno en el puré fresco fue de $7,566 \pm 0,097$ mg β -caroteno/g de tejido.

Durrani y col. (2012) informaron para mango “Chaunsa” un contenido de 24,19 ppm y da Silva Oliveira y col. (2011) reportaron valores medios de $1557,1 \pm 180,2$ mg/100 g de materia fresca. Los tratamientos térmicos a 90 °C afectaron su contenido en el puré de mango “criollo”. Las mayores pérdidas se encontraron cuanto más prolongado fue el tratamiento térmico.

Durante el almacenamiento refrigerado del puré control no se determinaron variaciones significativas en el contenido de β -caroteno. Del mismo modo, en los purés tratados a 90 °C, no se evidenciaron diferencias significativas en los 60 días de almacenamiento a 4 °C respecto del valor inicial (figura 4.28.). Vásquez-Caicedo y col. (2007) determinaron la máxima pérdida de β -caroteno al aplicar un tratamiento de pasteurización a 90,5 °C durante 16 minutos a puré de mango, la cual fue del 7,2%.

Estudios realizados en puré de mango reportaron pérdidas del 15,4% del contenido de vitamina A, retención del 93% del contenido de β -caroteno inicial e isomerización del caroteno luego de tratamientos a temperaturas de pasteurización (Vásquez-Caicedo y col., 2007). Anteriormente, Godoy y col. (1987) informaron una retención del 87 y 62% del β -caroteno y la α -criptoxantina en puré de mango enlatado o embotellado tratados térmicamente (80 °C/10minutos y 100 °C/20 minutos).

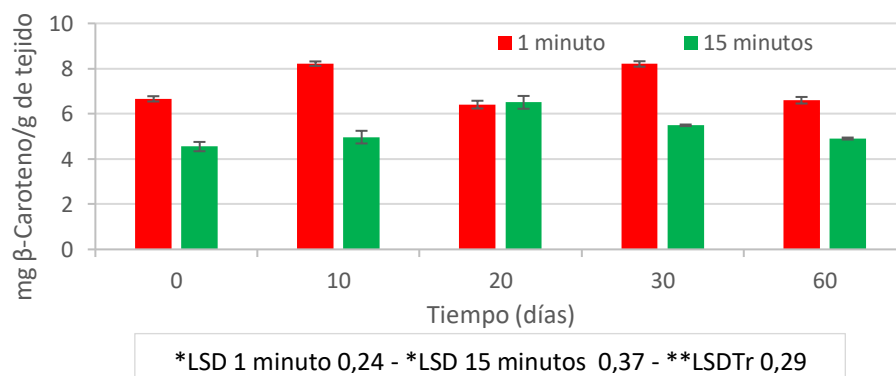


Figura 4.28. Contenido de β -caroteno en purés de mango tratados térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos, almacenados a 4 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Ácido ascórbico

Se realizó la determinación del contenido de ácido ascórbico en el puré de mango por cromatografía de alta eficiencia (HPLC) a los purés control y tratados térmicamente y almacenados a 4 °C. El tenor encontrado en mangos varía según diversos factores, como ser la variedad, las condiciones climáticas, condiciones de cultivo, estado de maduración y manejo poscosecha (Machado Rocha Ribeiro, 2007).

El puré de mango fresco, sin tratamiento, presentó un contenido de ácido ascórbico inicial comprendido entre $2,190 \pm 0,226$ y $18,172 \pm 0,801$ mg de ácido ascórbico/100 g de tejido. Liu y col. (2013) analizaron el contenido de ácido ascórbico de cuatro de los principales cultivares de mango del sur de China (Tainong N° 1, Irwin, JinHwang and Keitt), los cuales tuvieron contenidos en el rango de 3,20 a 23,80 mg/100 g de tejido.

Durante el almacenamiento a 4 °C, como puede apreciarse en la figura 4.29., los purés control evidenciaron una pérdida significativa de ácido ascórbico del orden del 21%, probablemente debido al oxígeno disuelto entre los tejidos. Asimismo, los purés tratados mostraron una pérdida gradual del contenido a lo largo de los 60 días (figura 4.30.), resultando la retención de ácido ascórbico del orden del 64 y 60% para los purés tratados durante 1 y 15 minutos respectivamente al final del almacenamiento.

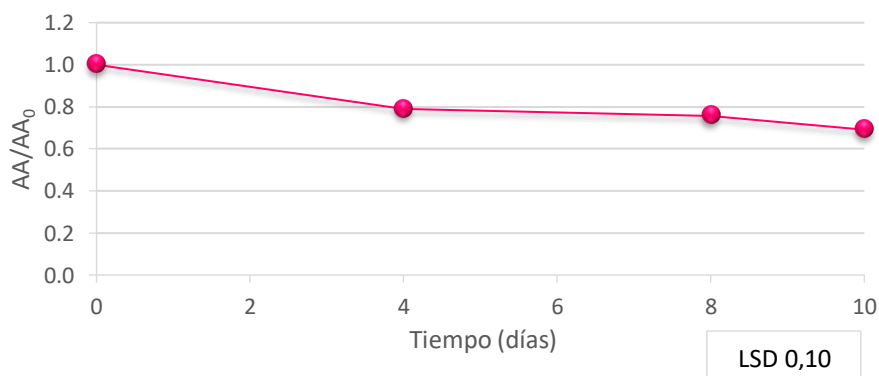


Figura 4.29. Evolución durante el almacenamiento a 4 °C del contenido relativo (A/A_0) de ácido ascórbico en purés de mango control.

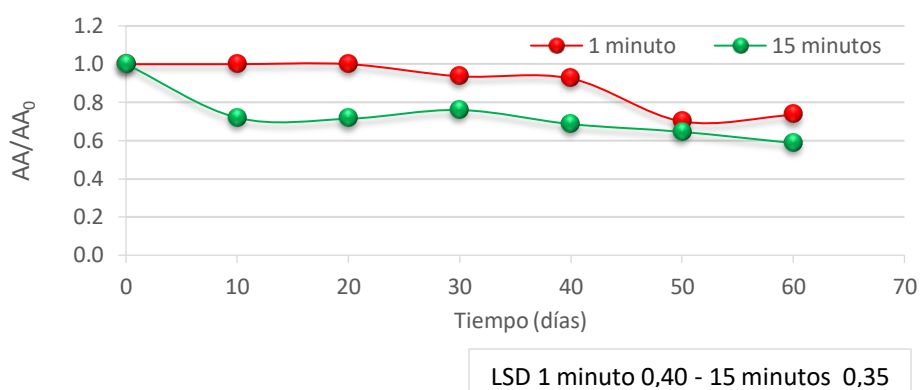


Figura 4.30. Evolución durante el almacenamiento a 4 °C del contenido relativo (A/A_0) de ácido ascórbico en purés de mango tratados térmicamente.

Actividad de enzimas POD y PPO

Los cambios de color en el puré de mango podrían tener lugar debido a la actividad de las enzimas oxidativas PPO y POD, las cuales dan origen a la formación de compuestos pardos. Los tratamientos térmicos son uno de los métodos aplicados para controlar la actividad de las enzimas y su efectividad es dependiente de las condiciones del mismo (temperatura, tiempo, pH), la composición del alimento y el tipo de enzima.

Los purés de mango control presentaron una actividad inicial de PPO en un rango de $0,160 \pm 0,003$ a $0,164 \pm 0,009$ $\Delta\text{Abs}/\text{seg.g}$ de proteína; y de $0,210 \pm 0,002$ a $0,250 \pm 0,003$ $\Delta\text{Abs}/\text{seg.g}$ de proteína para POD. En la tabla 4.7. se presenta la evolución de la actividad de PPO y POD en los purés control durante el almacenamiento a 10 y 4 °C observándose que a 10 °C la PPO mantuvo un 94% de su actividad al día 10 mientras que POD lo hizo en un 78%. Sin embargo, a 4 °C, la POD fue capaz de retener un 86% de su actividad, y la PPO cerca de un 64 %, luego de 10 días.

En el puré de mango “criollo” tratado térmicamente a 90 °C se inhibió la actividad de ambas enzimas inmediatamente luego de aplicarlo. Asimismo, durante los 60 días de almacenamiento a 10 y 4 °C no se detectó actividad de dichas enzimas.

Askar y col. (2001) informaron que la PPO es la enzima más termoestable en mangos, aunque estos resultados no son concordantes con lo encontrado por Vásquez-Caicedo y col. (2007), quienes determinaron una mayor termorresistencia de la POD. Estudios demostraron

que los tratamientos a temperaturas superiores a los 80 °C durante algunos minutos son efectivos en reducir cerca del 50% de actividad enzimática PPO en el mango (Park y col., 1980) y que a 90 °C durante 3 y 5 minutos son capaces de reducir el 50 y 90% de la actividad enzimática de la piel de mango (Arogba, 2000). Asimismo, los tratamientos en extractos de mango en un rango de temperatura entre 85 y 93 °C durante 1 minuto inactivaron la PPO (Arogba y col., 1998; Vásquez-Caicedo y col., 2007). Sin embargo, la POD del puré de mango cv. “Tommy Atkins” retiene entre un 4 y 6,3% de su actividad aun a 93 °C y 16 minutos de tratamiento. Huang y col. (2013) informaron que el tratamiento de 110 °C aplicado a néctar de damasco por 8,6 segundos produjo la inactivación de PPO y POD.

Tabla 4.7. Actividad residual de las enzimas PPO y POD (Δ abs/seg.g de proteína) en puré de mango control almacenado a 10 y 4 °C.

Día	10 °C		4 °C	
	PPO	POD	PPO	POD
0	0,287 ± 0,022	0,228 ± 0,005	0,160 ± 0,003	0,247 ± 0,003
2	0,279 ± 0,019	0,195 ± 0,015	0,112 ± 0,003	0,228 ± 0,004
4	0,284 ± 0,021	0,170 ± 0,004	0,090 ± 0,004	0,211 ± 0,003
8	0,246 ± 0,018	0,172 ± 0,004	0,112 ± 0,002	0,221 ± 0,009
10	0,269 ± 0,023	0,178 ± 0,007	0,103 ± 0,005	0,212 ± 0,006
*LSD	0,009	0,011	0,014	0,008

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento

Análisis microbiológico

La pérdida de calidad en frutas frescas cortadas y jugos sin tratamiento de pasteurización se deben principalmente a la acción de microorganismos, actividad de enzimas presentes o cambios químicos o físicos. Esta pérdida de calidad y la presencia de los microorganismos son muy importantes debido, en primer lugar, al peligro que constituye la posible presencia de microorganismos patógenos o toxinas microbianas para los

consumidores; y por otra parte, las pérdidas económicas debido al deterioro que ocasionan (Raybaudi-Massilia y col., 2009). El tipo de microorganismo presente en un alimento depende principalmente del pH y de la actividad del agua.

En los alimentos ácidos, ($\text{pH} \leq 4,5$) los microorganismos capaces de crecer son controlables por una pasteurización, aunque se deben tener en cuenta algunos microorganismos alterantes que pueden desarrollar.

Se realizó el análisis microbiológico de las muestras de puré de mango control y tratados térmicamente durante el almacenamiento refrigerado según se describió en 2.6.1.a.

En los purés control, los recuentos iniciales de microorganismos aeróbios mesófilos totales fueron de 2,27 a 4,96 UFC/g de tejido y de 2,41 a 4,99 log UFC/g de tejido para los recuentos de mohos y levaduras. Por su parte, los tratamientos a 90 °C durante 1 y 15 minutos fueron eficaces en el control microbiano, no detectándose UFC de microorganismos aerobios mesófilos en agar recuento en placa, o de mohos y levaduras en agar papa glucosado, luego de su aplicación al puré de mango. Los purés controles almacenados tuvieron una carga superior a 5 log UFC/g de tejido al día 10 de almacenamiento refrigerado, mientras que los purés tratados 1 y 15 minutos no tuvieron desarrollo microbiano hasta el final del almacenamiento.

Huang y col. (2013) no detectaron desarrollo de aerobios totales y mohos y levaduras en néctar de damasco luego de aplicar un tratamiento de 100 °C por 8,6 segundos, con una carga inicial de 5,31 y 4,68 log UFC/mL respectivamente.

Análisis sensorial

El análisis sensorial es una herramienta que mide, analiza e interpreta la percepción de las características organolépticas de un alimento (color, sabor, aroma y textura).

El color es apreciado por la vista y resulta de la interacción de la luz con la materia, el sabor por el sentido del gusto, el aroma es captado por el olfato que detecta las sustancias volátiles liberadas y la textura es un atributo más complejo que resulta de la acción simultánea de estímulos de diferente naturaleza. La cuantificación de estos atributos permite establecer la calidad organoléptica del producto.

Durante los tratamientos térmicos se producen cambios organolépticos los cuales, en general, no son buenos aliados de las características sensoriales de los alimentos. Es por ello que la selección de las condiciones de tratamiento térmico resulta de un compromiso entre la inactivación enzimática y microbiológica, y la calidad sensorial y nutritiva del mismo. De la misma forma, durante el almacenamiento se producen una serie de cambios los cuales pueden llevar a un deterioro del producto.

Para efectuar el análisis sensorial del puré de mango, los evaluadores entrenados seleccionaron los atributos color, aroma, brillo, consistencia y aspecto general durante las sesiones de entrenamiento previas. Se utilizó una escala estructurada del 1 al 5, donde el mayor puntaje (5) fue asignado al puré considerado con los mejores atributos.

El puré de mango sin tratamiento inicialmente obtuvo puntajes cercanos al máximo (5) para la mayoría de los atributos evaluados (figuras 4.31. y 4.32.). Una vez aplicado el tratamiento, los evaluadores asignaron puntajes que en todos los casos superaron el límite de aceptabilidad establecido (≥ 3) (figuras 4.33. a 4.36.). Los atributos evaluados de los purés recientemente tratados térmicamente y del puré fresco no presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los purés control fueron rechazados luego de 4 y 5 días de almacenamiento a 10 y 4 °C respectivamente, siendo el color y el aspecto los principales determinantes de la vida útil sensorial. Sin embargo, para las muestras almacenadas a 10 °C, tratadas durante 1 minuto (figura 4.33.), la vida útil sensorial fue de 20 días, siendo el aroma el atributo determinante del rechazo. Por otra parte, las muestras tratadas durante 15 minutos fueron valoradas por encima del límite de aceptabilidad durante los primeros 40 días de almacenamiento, tal como puede observarse en la figura 4.35. En este caso la evaluación del color fue el atributo limitante.

Por su parte, los purés almacenados a 4 °C obtuvieron puntajes mayores a 3 durante los 60 días de almacenamiento (figura 4.34. y 4.36.), sin distinguirse diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los purés tratados durante 1 y 15 minutos.

Los purés de mango envasados en bolsas de polietileno y tratados térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos no presentaron cambios en la acidez y el pH y en el contenido de azúcares totales y reductores inmediatamente luego de aplicados los tratamientos y durante el almacenamiento refrigerado. La actividad antioxidante no experimentó variaciones por el

tratamiento, pero sí se redujo durante el almacenamiento. El contenido de fenoles totales, pigmentos carotenoides y ácido ascórbico, así como los parámetros de color L*, a* y b* disminuyeron con el tratamiento térmico y durante el almacenamiento. En todos los casos, los purés control tuvieron mayores pérdidas que los purés tratados.

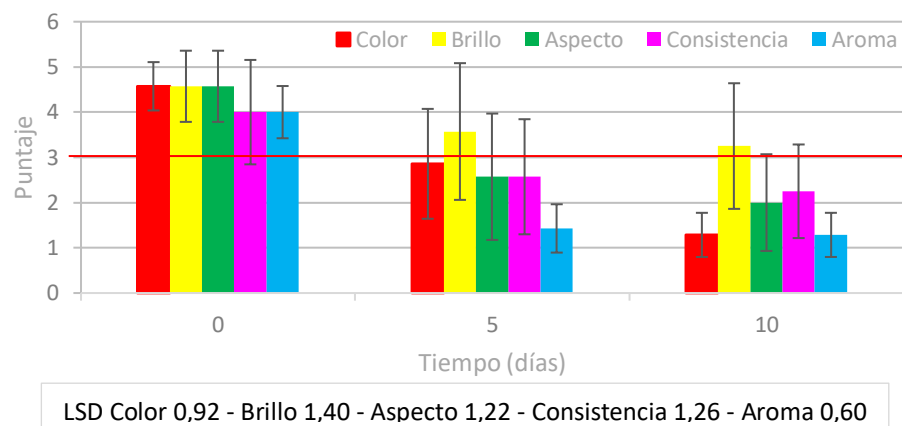


Figura 4.31. Análisis sensorial de purés de mango control almacenados a 10 °C.

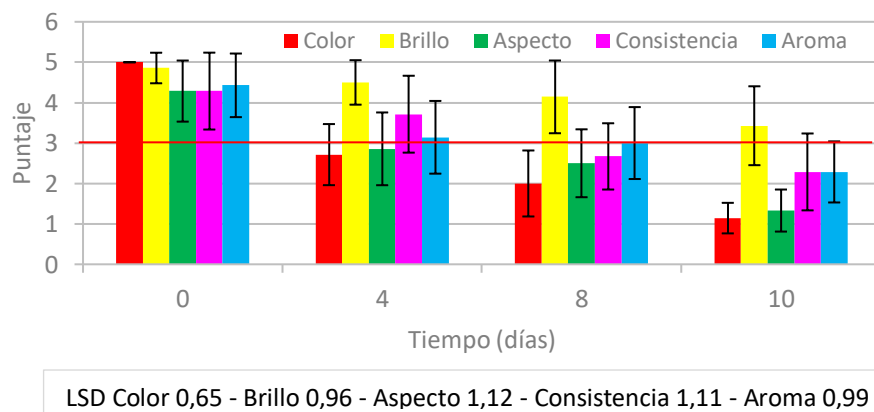
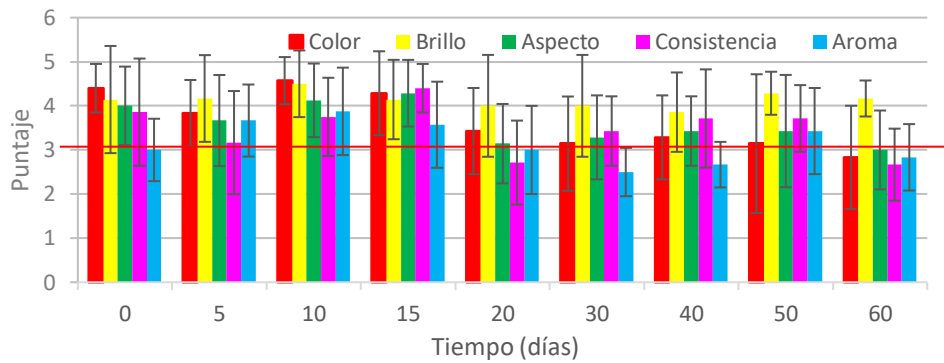
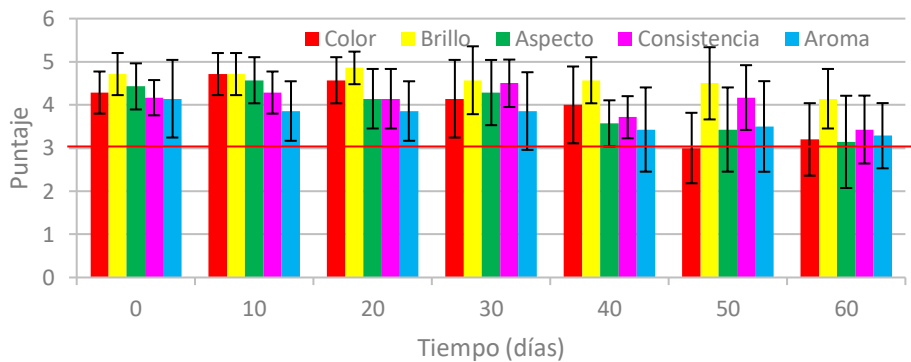


Figura 4.32. Análisis sensorial de purés de mango control almacenados a 4 °C.



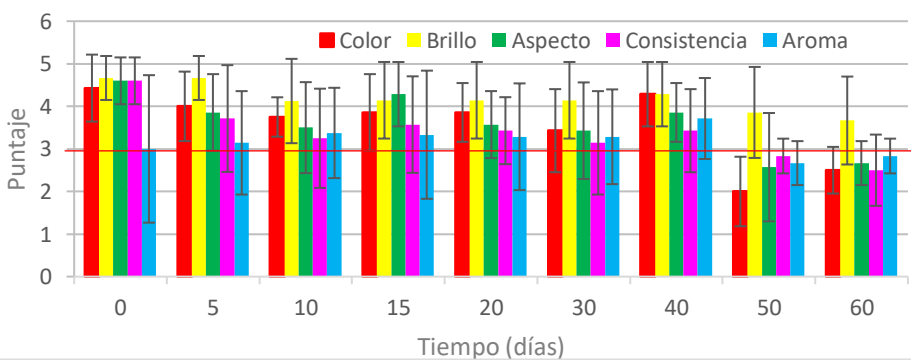
*LSD 1 minuto: Color 1,12 - Brillo 1,00 - Aspecto 1,02 - Consistencia 1,04 - Aroma 0,95
 **LSD Tr: Color 0,77 - Brillo 1,05 - Aspecto 0,95 - Consistencia 1,27 - Aroma 1,40

Figura 4.33. Análisis sensorial de purés de mango tratados 1 minuto a 90 °C y almacenados a 10 °C.



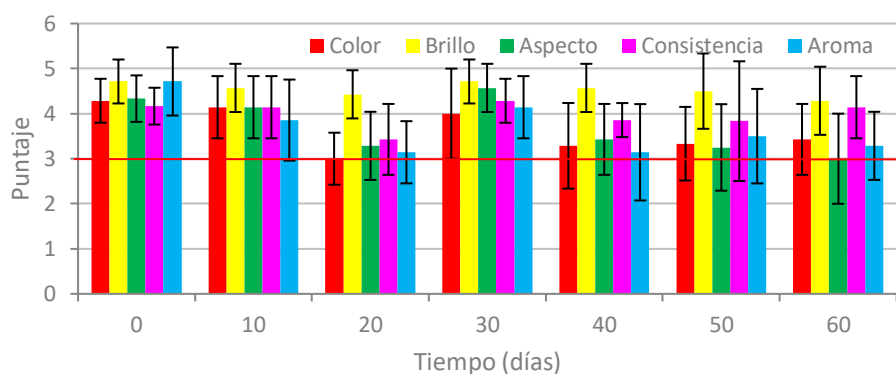
*LSD 1 minuto: Color 0,94 - Brillo 0,67 - Aspecto 0,82 - Consistencia 0,83 - Aroma 0,99
 **LSD Tr: Color 0,45 - Brillo 0,51 - Aspecto 0,72 - Consistencia 0,79 - Aroma 0,92

Figura 4.34. Análisis sensorial de purés de mango tratados 1 minuto a 90 °C y almacenados a 4 °C.



*LSD 15 minutos: Color 0,82 - Brillo 0,95 - Aspecto 0,99 - Consistencia 1,10 - Aroma 1,27
 **LSD Tr: Color 0,77 - Brillo 1,05 - Aspecto 0,95 - Consistencia 1,27 - Aroma 1,40

Figura 4.35. Análisis sensorial de purés de mango tratados 15 minutos a 90 °C y almacenados a 10 °C.



*LSD 15 minutos: Color 0,85 - Brillo 0,66 - Aspecto 0,95 - Consistencia 0,81 - Aroma 0,93

**LSD Tr: Color 0,45 - Brillo 0,51 - Aspecto 0,72 - Consistencia 0,79 - Aroma 0,92

Figura 4.36. Análisis sensorial de purés de mango tratados 15 minutos a 90 °C y almacenados a 4 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD comparación de medias entre tratamientos.

Los tratamientos fueron eficaces en inhibir las enzimas oxidativas PPO y POD y el desarrollo microbiano hasta el final del almacenamiento refrigerado.

Teniendo en cuenta lo estudiado hasta aquí, se determinó que la temperatura de almacenamiento tuvo influencia en prolongar la vida útil del puré. El almacenamiento a 4°C fue el de mayor eficacia en conservar los atributos sensoriales, obteniendo los purés tratados térmicamente puntajes por encima del límite de aceptabilidad (≥ 3) hasta el final del almacenamiento; además, y en concordancia con lo antes dicho, se observaron los menores cambios de color.

4.3. Tratamientos térmicos aplicados a puré de mango envasado en frascos de vidrio

4.3.1 Ensayos preliminares

4.3.1.a. Determinación del perfil de temperatura durante el tratamiento

Se registró el perfil de temperatura durante el tratamiento térmico del puré de mango envasado en bolsas de polietileno, y a partir de dicho perfil se determinó el tiempo necesario para alcanzar la temperatura de tratamiento en el punto frío del puré según se describió en 2.3.1.b.

En la figura 4.37. se presenta a el perfil de temperatura del puré de mango envasado en frascos de vidrio durante el tratamiento a 90 °C.

4.3.1.b. Determinación del tiempo de vida útil a 4 °C del puré de mango tratado térmicamente a 90 °C

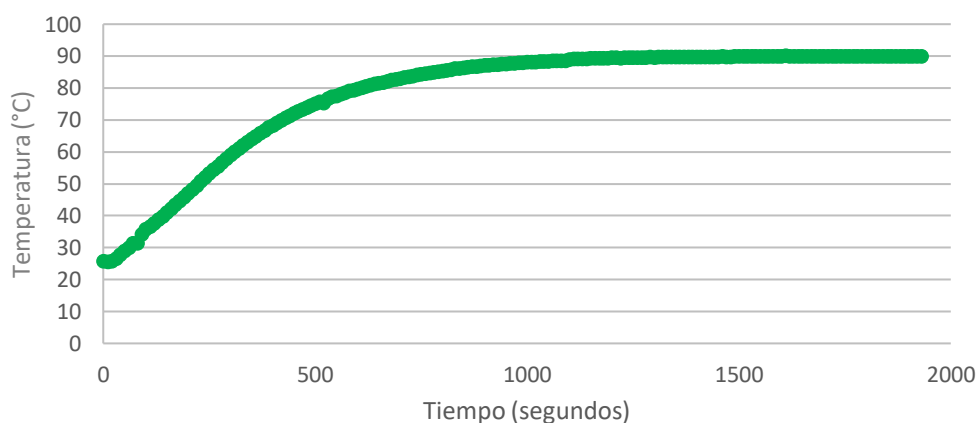


Figura 4.37. Perfil de temperatura del puré de mango envasado en frascos de vidriotapa a rosca de hojalata tratado a 90 °C.

Para determinar el tiempo a ser aplicado el tratamiento térmico a 90 °C a los purés de mango envasados en frascos de vidrio se llevó a cabo un ensayo con 4 tiempos de exposición: 1, 5, 10 y 15 minutos.

Los tratamientos a 90 °C en un rango de 1 a 15 minutos aplicados al puré envasado en frascos de vidrio, no afectaron significativamente los parámetros de color, L*, a* y b*, luego de los tratamientos ($p < 0,05$).

Los purés expuestos a los 4 tiempos de exposición presentaron un aumento del parámetro ΔE^* durante el almacenamiento (figura 4.38.), siendo significativamente

diferentes al final del mismo. Los purés envasados en bolsa de polietileno presentaron valores más reducidos de ΔE^* que los calculados para los envasados en frascos de vidrio.

Al igual que lo mencionado anteriormente para los purés envasados en bolsas de polietileno, los evaluadores no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, obteniendo todos los atributos evaluados (color, brillo, aspecto, consistencia y aroma) puntajes por encima del límite de aceptabilidad (≥ 3).

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y en base a los estudios realizados en el puré envasado en bolsas de polietileno, se decidió realizar un ensayo de almacenamiento de los purés tratados térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos envasados en frascos de vidrio y posterior almacenamiento a 4 °C.

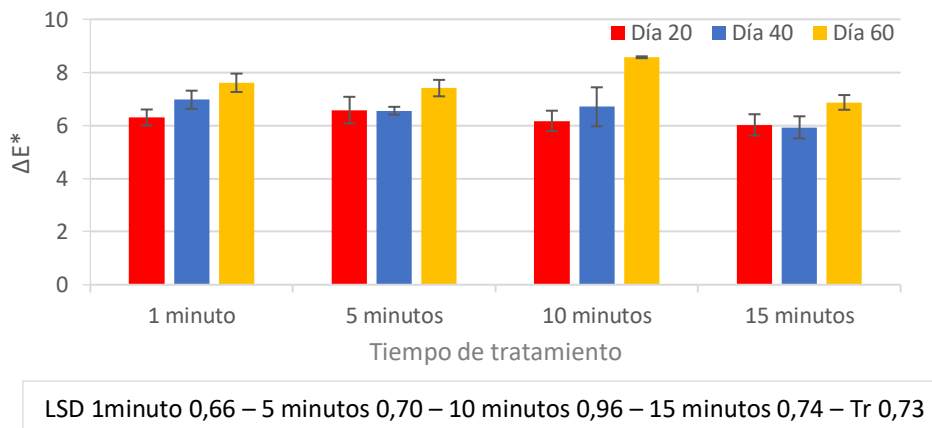


Figura 4.38. Evolución durante el almacenamiento a 4 °C del parámetro de color ΔE^* de purés de mango envasados en frascos de vidrio y tratados térmicamente a 90 °C durante 1, 5, 10 y 15 minutos.

4.3.2. Ensayos de almacenamiento del puré envasado en frascos de vidrio con tapa a rosca de hojalata tratado a 90 °C durante 1 y 15 minutos y almacenado a 4 °C

Se realizó el almacenamiento refrigerado a 4 °C de puré de mango envasado en frascos de vidrio con tapa a rosca de hojalata y tratado térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos (figura 4.39.). Los purés tratados se almacenaron durante 60 días y los controles durante 10

días, y se procedió a realizar los análisis según se explicó anteriormente para los ensayos del puré envasado en bolsas de polietileno.



Figura 4.39. Puré de mango tratado térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos y almacenado a 4 °C.

Acidez y pH

Se determinó la acidez y el pH de los purés de mango control y tratados al inicio, a tiempo intermedio y al final del ensayo de almacenamiento.

El puré de mango sin tratamiento tuvo inicialmente valores de acidez de $437,58 \pm 29,98$ mg ácido cítrico/100 g de tejido y los tratamientos térmicos no tuvieron efecto significativo inmediato ($p > 0,05$).

Durante el almacenamiento, en el puré control (Tabla 4.8.), así como también en los purés tratados a 90 °C (Tabla 4.9.), la acidez no tuvo cambios significativos. El pH de los purés control presentó un aumento significativo ($p < 0,05$), mientras que los purés tratados durante 1 y 15 minutos no mostraron cambios significativos ($p > 0,05$) durante el almacenamiento, como tampoco se evidenciaron diferencias entre los tratamientos aplicados.

Tabla 4.8. Cambios en el pH y la acidez titulable (mg ácido cítrico/100 g tejido) en purés de mango control.

Control		
Día	pH	Acidez
0	4,35 ± 0,00	437,58 ± 29,98
4	4,55 ± 0,03	440,11 ± 0,62
10	4,52 ± 0,07	441,48 ± 20,60
*LSD	0,14	66,84

Gil y col. (2006) encontraron en cubos de mango “Ataulfo” que no hubo cambios significativos en la acidez titulable y el pH hasta por 9 días a 5 °C. Sin embargo, Hernández y col. (2005) observaron que el pH y la acidez titulable de trozos de mango del cultivar “Lippens” se mantuvieron constantes durante los 12 días de almacenamiento a 5 °C mientras que las variedades “Tommy Atkins”, “Keitt” y “Osteen” experimentaron aumento del pH a los 8, 6 y 2 días de almacenamiento y disminución de la acidez a los 8, 10 y 6 días respectivamente.

Tabla 4.9. Cambios en el pH y la acidez titulable (mg ácido cítrico/100 g tejido) en purés de mango tratados a 90 °C.

Día	1 minuto		15 minutos	
	pH	Acidez	pH	Acidez
0	4,51 ± 0,36	463,82 ± 7,20	4,61 ± 0,17	447,51 ± 17,24
30	4,47 ± 0,05	439,70 ± 11,50	4,29 ± 0,04	421,37 ± 5,44
60	4,28 ± 0,01	432,88 ± 27,62	4,33 ± 0,00	423,28 ± 10,51
*LSD	0,67	56,54	0,32	38,44
**LSD Tr	pH 0,73 – Acidez 64,91			

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Color

Las mediciones de los parámetros de color de los purés control y tratados, se presentan en la Tabla 4.10. Estos resultados se obtuvieron a través del análisis digital de imágenes efectuado luego del escaneo del puré de mango.

El puré recientemente preparado tuvo valores iniciales de L^* , a^* y b^* de $56,98 \pm 0,14$; $12,62 \pm 0,04$ y $54,20 \pm 0,15$ respectivamente. En la mencionada Tabla puede observarse que a^* es el parámetro más afectado luego de aplicados los tratamientos térmicos, produciéndose un descenso del mismo, mientras los valores de L^* y b^* no se modificaron. Esto difiere de lo observado en los 3 parámetros de color de los purés almacenados en bolsas de polietileno a la misma temperatura. Liu y col. (2014) determinaron en néctar de mango tratado térmicamente una disminución significativa de L^* luego de aplicado el tratamiento.

Durante el almacenamiento refrigerado a $4\text{ }^\circ\text{C}$ del puré control los parámetros de color L^* , a^* y b^* disminuyeron, mientras en los purés tratados térmicamente sólo lo hicieron L^* y b^* durante los 60 días, siguiendo la misma tendencia que los purés envasados en bolsas y almacenados a $4\text{ }^\circ\text{C}$.

A partir de estos datos se calcularon los cambios de color con la fórmula correspondiente a ΔE^* . En la figura 4.40. se muestran los cambios en el color en función del tiempo para el puré control, distinguiéndose a los 8 días fuertes diferencias de color respecto del puré fresco, según la escala de Limbo y col., (2006).

Para los purés tratados a $90\text{ }^\circ\text{C}$, el ΔE^* aumentó significativamente ($p < 0,05$) a lo largo del almacenamiento (figura 4.41). A los 10 días el ΔE^* fue superior a 5 y continuó incrementándose a lo largo del período de almacenamiento, siendo estas diferencias entre perceptibles y fuertemente perceptibles según Limbo y col. (2006). Asimismo, los purés tratados durante 15 minutos tuvieron un ΔE^* significativamente inferior ($p < 0,05$) a los tratados durante 1 minuto.

Tabla 4.10. Evolución de los parámetros de color de purés de mango control y tratados a 90 °C.

Tratamiento	Días	L*	a*	b*
Control	0	56,98 ± 0,14	12,62 ± 0,04	54,20 ± 0,15
	2	57,17 ± 0,14	12,14 ± 0,08	54,32 ± 0,15
	4	56,18 ± 0,03	11,61 ± 0,03	53,13 ± 0,02
	6	56,23 ± 0,10	11,48 ± 0,06	53,09 ± 0,06
	8	50,63 ± 0,06	9,96 ± 0,02	46,48 ± 0,05
	10	48,69 ± 0,11	9,76 ± 0,62	44,05 ± 0,10
1 minuto	0	58,22 ± 0,08	10,42 ± 0,05	54,90 ± 0,11
	10	54,70 ± 0,16	9,70 ± 0,03	51,15 ± 0,17
	20	53,94 ± 0,06	9,61 ± 0,07	50,17 ± 0,08
	30	53,92 ± 0,04	9,51 ± 0,08	50,34 ± 0,05
	40	53,44 ± 0,03	9,57 ± 0,04	49,82 ± 0,05
	50	53,45 ± 0,05	9,61 ± 0,05	49,69 ± 0,08
15 minutos	0	57,76 ± 0,04	10,27 ± 0,04	54,24 ± 0,07
	10	54,06 ± 0,09	9,45 ± 0,03	50,30 ± 0,10
	20	53,83 ± 0,06	9,49 ± 0,08	49,96 ± 0,09
	30	53,63 ± 0,07	9,50 ± 0,03	49,91 ± 0,05
	40	53,68 ± 0,02	9,66 ± 0,01	49,98 ± 0,02
	50	53,91 ± 0,14	9,34 ± 0,07	49,18 ± 0,18
	60	53,42 ± 0,07	9,32 ± 0,02	49,26 ± 0,08

LSD Control L* 0,14 – a* 0,10 – b* 0,18
 1 minuto L* 0,18 – a* 0,46 – b* 0,18
 15 minutos L* 0,14 – a* 0,08 – b* 0,17

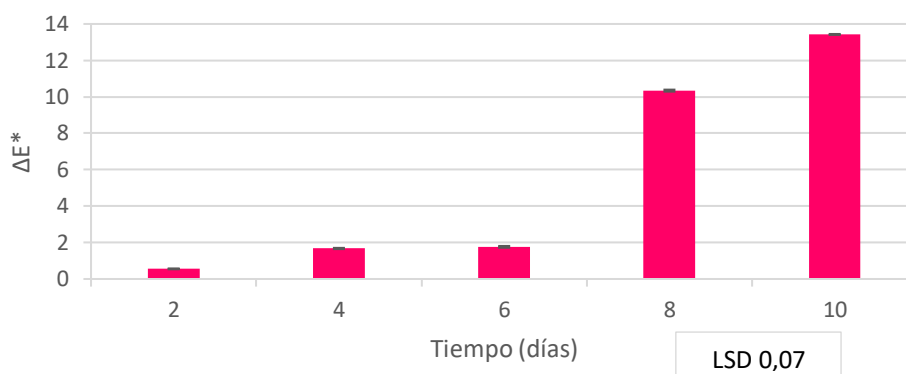


Figura 4.40. Evolución del parámetro ΔE^* en purés de control.

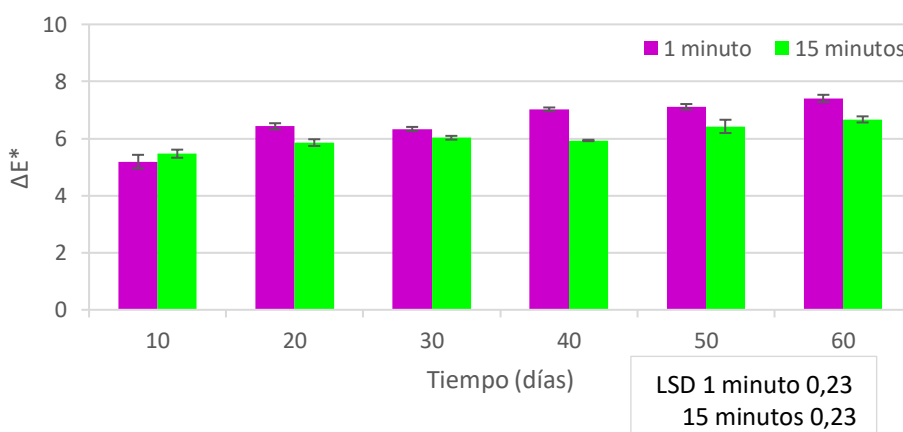


Figura 4.41. Evolución del parámetro ΔE^* en purés de tratados térmicamente.

Azúcares totales y reductores

El puré de mango presentó valores iniciales de azúcares totales y reductores de $8,776 \pm 0,150$ y $2,982 \pm 0,151$ g glc/100 g tejido respectivamente (figura 4.42.) y no fueron afectados por los tratamientos térmicos.

Los purés control y tratados 1 y 15 minutos (figura 4.43.) no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) a lo largo del almacenamiento tanto para los azúcares totales como los reductores, del mismo modo que fuera informado para los purés envasados en bolsas de polietileno y almacenados a 4°C .

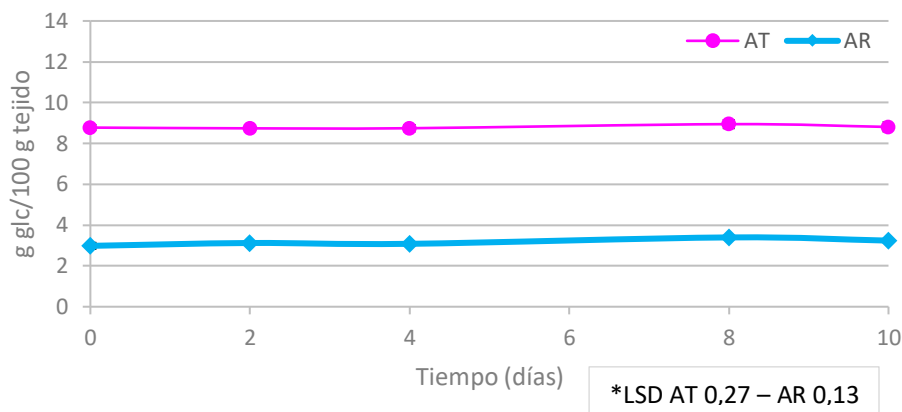


Figura 4.42. Contenido de azúcares totales y reductores en purés de mango control.

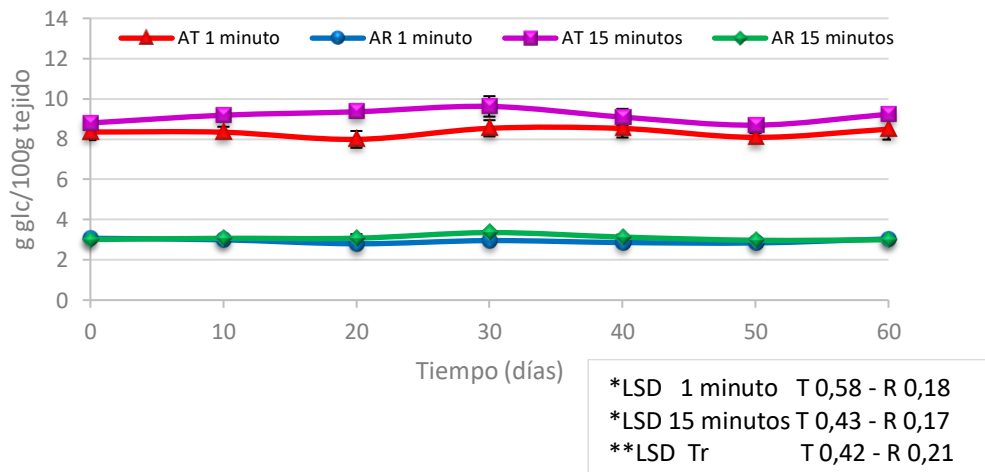


Figura 4.43. Contenido de azúcares totales y reductores en purés de mango tratados a 90 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Actividad antioxidante

Inicialmente la actividad antioxidante del puré de mango fue de $0,435 \pm 0,022$ mg ácido clorogénico/g de tejido fresco y para los tratados 1 y 15 minutos fue de $0,582 \pm 0,042$ y $0,606 \pm 0,043$ mg ácido clorogénico/g de tejido fresco respectivamente.

La capacidad antioxidante del puré de mango control disminuyó un 25% durante los 10 días de almacenamiento, evidenciándose los principales cambios durante los primeros 2 días (figura 4.44.). En los purés tratados, también se produjeron descensos significativos, siendo

las pérdidas mayores para el tratamiento más riguroso (65%, $p < 0,05$) y menores para el tratado 1 minuto (58%), (figura 4.45.). En purés envasados en bolsas de polietileno sometidos al mismo tratamiento y almacenados a igual temperatura de refrigeración se observó la misma tendencia, aunque las pérdidas fueron de menor magnitud.

Santhirasegaram y col. (2015) determinaron la capacidad antioxidante de jugo de mango "Chokanan", la cual inicialmente fue de $8,29 \pm 0,18$ equivalentes de ácido ascórbico/mL de jugo. Luego de aplicado un tratamiento de pasteurización al jugo recientemente preparado y envasado en tubos de vidrio, en baño de agua a 90 ± 1 °C por 60 segundos, la actividad antioxidante fue de $8,09 \pm 0,15$ EAA/mL.

Fenoles totales

El contenido inicial de fenoles totales en purés control fue de $1322,370 \pm 19,229$ μg ácido clorogénico/g tejido fresco, el cual no fue afectado por la aplicación de los tratamientos térmicos.

En los purés control, los fenoles totales disminuyeron significativamente un 48% al cuarto día de almacenamiento permaneciendo luego prácticamente constantes hasta el día 10 del almacenamiento (figura 4.46.). Con respecto a los fenoles presentes en los purés tratados, se observó una evolución similar a los purés almacenados en bolsas, los principales cambios ocurrieron en los primeros 10 días, llegando al finalizar el ensayo a tener una pérdida superior al 30% (figura 4.47.) para ambos tratamientos.

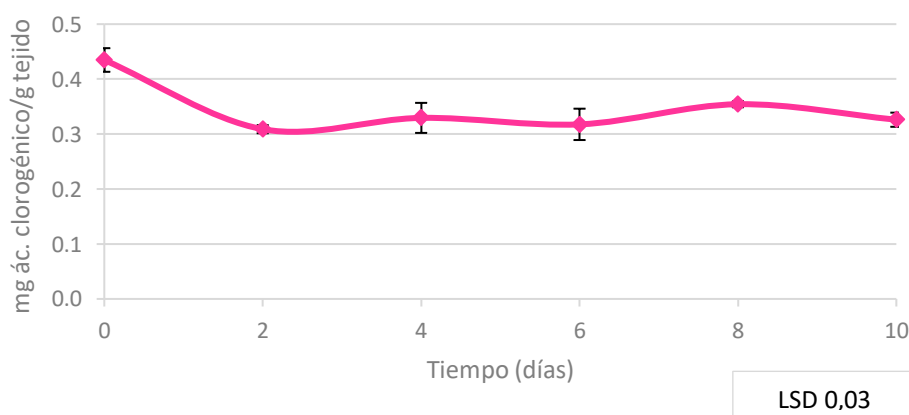


Figura 4.44. Variación de la capacidad antioxidante de puré de mango sin tratamiento.

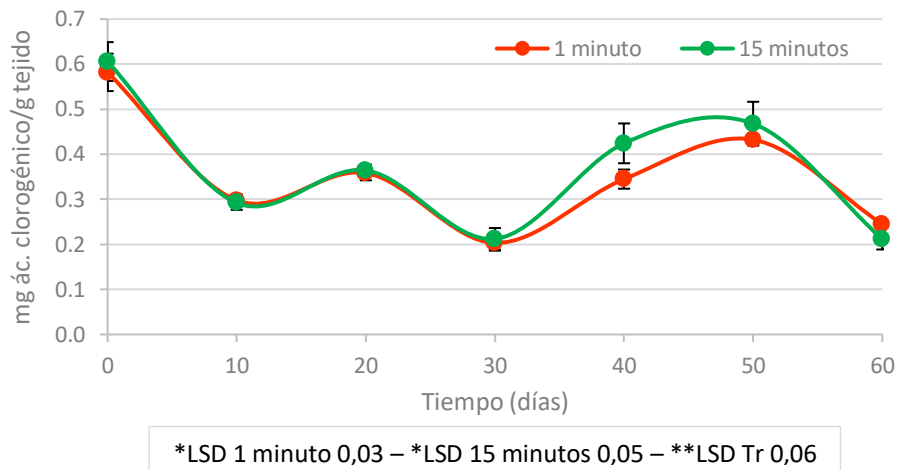


Figura 4.45. Variación de la capacidad antioxidante de puré de mango tratado a 90 °C.

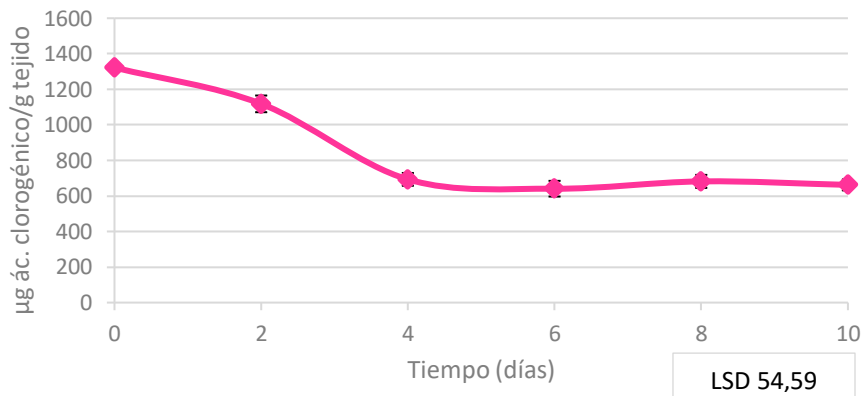


Figura 4.46. Evolución del contenido de fenoles totales en puré de mango control.

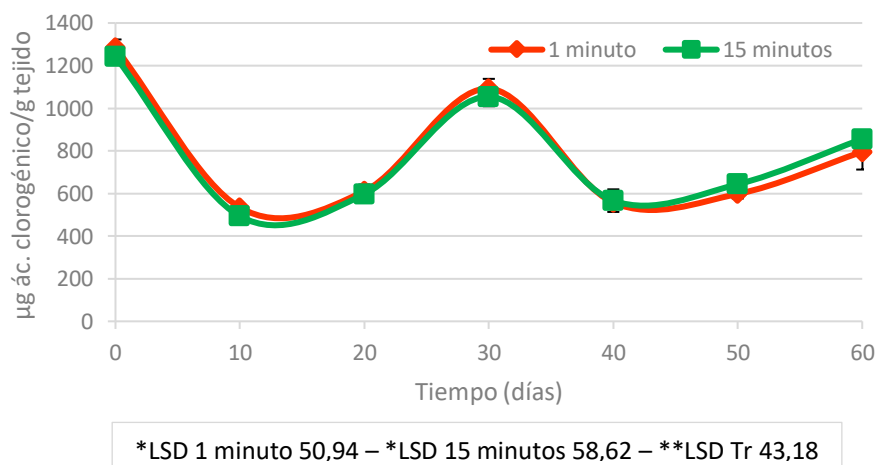


Figura 4.47. Evolución del contenido de fenoles totales en purés de mango tratados térmicamente.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento. **LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Contenido de pigmentos carotenoides

El contenido en pigmentos carotenoides en el puré de mango fresco fue de $38,72 \pm 4,07 \mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g}$ tejido fresco. El tratamiento térmico a 90°C durante 1 minuto no afectó dicho contenido, mientras que el tratamiento de 15 minutos produjo una disminución significativa ($p < 0,05$), siendo la pérdida menor al 20%.

Durante el almacenamiento a 4°C el puré control (figura 4.48.) tuvo una reducción significativa del contenido de los pigmentos, siendo del 28,2% al día 10. Los purés tratados experimentaron una evolución similar, siendo el puré tratado 15 minutos el de mayor disminución del contenido, encontrándose pérdidas del 27,5% y 41,8% al día 60 (figura 4.49.) para 1 y 15 minutos respectivamente. Estas pérdidas fueron menores a las observadas en los purés envasados en bolsas de polietileno en iguales condiciones de almacenamiento.

Santhirasegaram y col. (2015) determinaron para jugo de mango Chokanan un contenido inicial de $82,03 \pm 1,29 \mu\text{g}$ de $\beta\text{-caroteno}/100\text{mL}$. Luego de aplicar un tratamiento de pasteurización a $90 \pm 1^\circ\text{C}$ al jugo contenido en tubos de vidrio, el contenido disminuyó a $48,92 \pm 1,32 \mu\text{g}/100\text{mL}$. Liu y col. (2014) luego de 16 semanas de almacenamiento en botellas de vidrio determinaron una retención del 69,20% de $\beta\text{-caroteno}$ en néctar de mango tratado a 110°C durante 8,6 segundos.

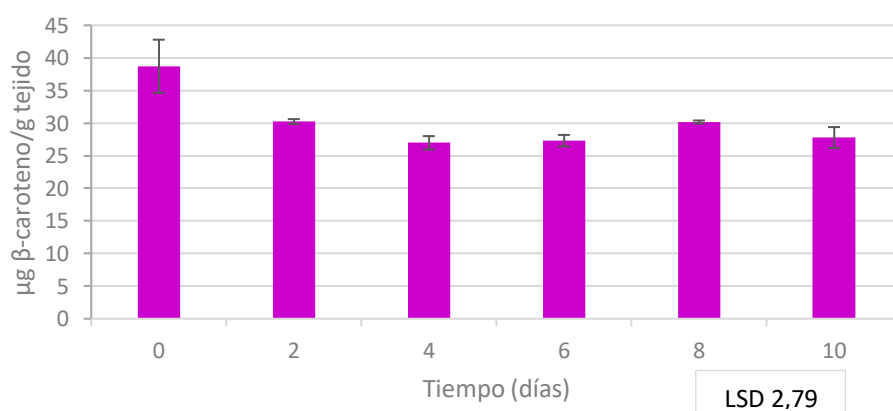


Figura 4.48. Evolución del contenido de pigmentos carotenoides en purés de mango control.

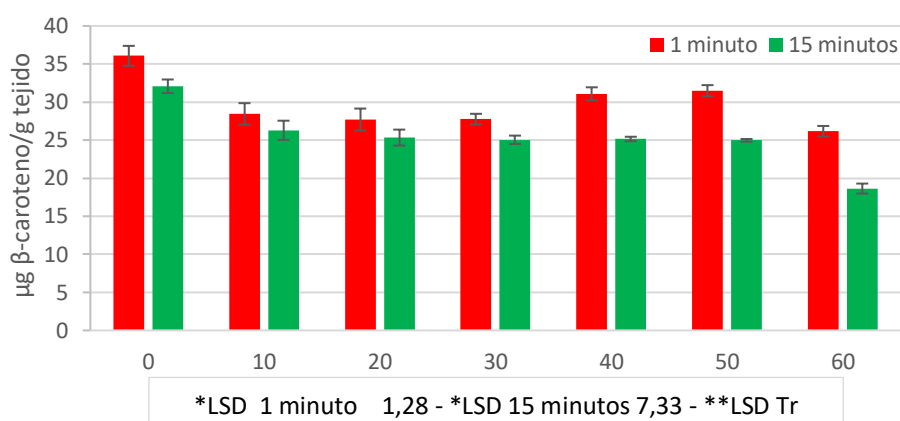


Figura 4.49. Evolución del contenido de pigmentos carotenoides en purés tratados a 90 °C.

β-caroteno

El contenido de inicial de β-caroteno en el puré fresco fue de $7,566 \pm 0,097$ mg β-caroteno/g tejido y los tratamientos térmicos no lo afectaron significativamente una vez aplicados.

Durante el almacenamiento se observó en el puré control una disminución en el contenido, siendo al día 10 cercana al 46%. En los purés tratados se evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos ($p < 0,05$) a lo largo del almacenamiento refrigerado (figura 4.50.).

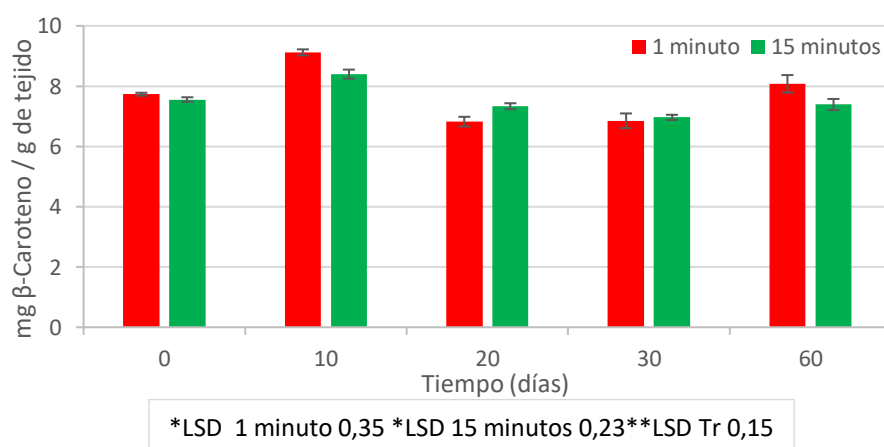


Figura 4.50. Contenido de β-caroteno en purés de mango tratados térmicamente a 90 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento. **LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Ácido ascórbico

En el puré fresco se cuantificó un contenido inicial de $2,252 \pm 0,056$ mg de ácido ascórbico en 100 g de tejido. Una vez aplicado el tratamiento térmico durante 1 y 15 minutos, se cuantificó una pérdida del 49 y 51% respectivamente.

El control presentó una disminución significativa ($p < 0,05$) del 40% del contenido de ácido ascórbico al día 2 de almacenamiento y luego se mantuvo prácticamente constante hasta el día 10 (figura 4.51.).

En los purés tratados 1 minuto, el descenso fue significativo hasta el día 20 perdiendo un 63%, para luego permanecer constante, mientras que el tratado 15 minutos hizo lo propio a partir del día 10 de almacenamiento reteniendo un 29% del contenido original al final del almacenamiento (figura 4.52.).

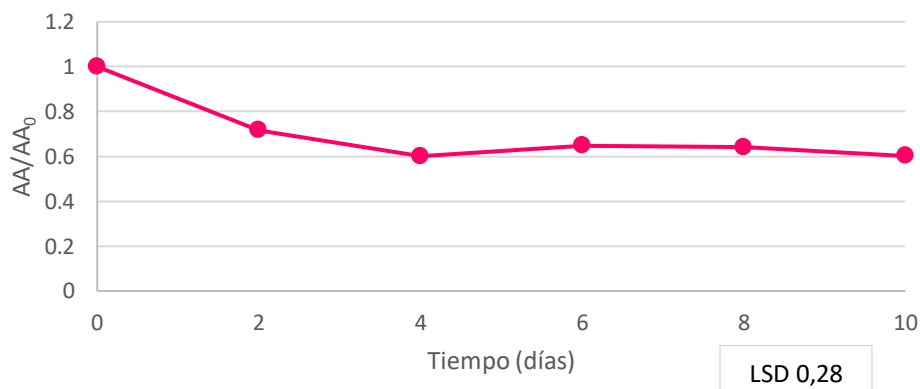


Figura 4.51. Evolución del contenido de ácido ascórbico en purés de mango control.

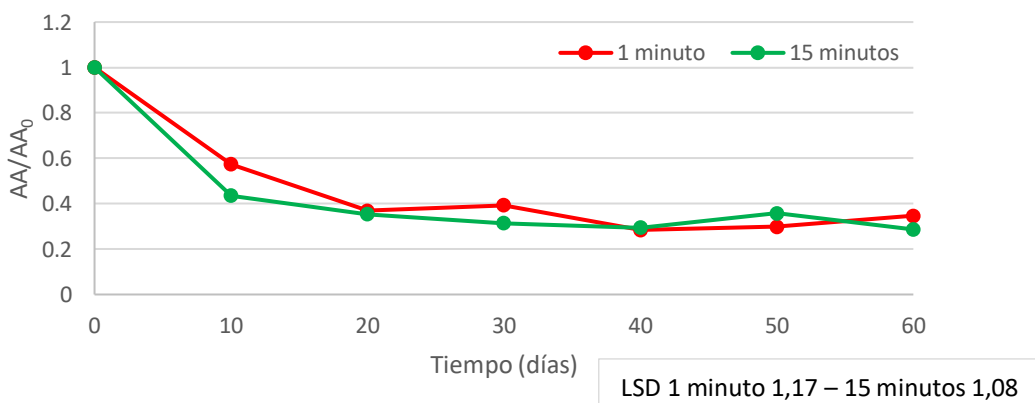


Figura 4.52. Evolución del contenido de ácido ascórbico en purés de mango tratados a 90 °C.

Actividad enzimática

El puré fresco utilizado en los ensayos de almacenamiento en frascos de vidrio, presentó una actividad de las enzimas PPO y POD de $0,139 \pm 0,007$ y $0,280 \pm 0,010$ $\Delta\text{abs}/\text{seg.g}$ respectivamente. Los purés control presentaron disminución de la actividad de ambas enzimas durante el almacenamiento, siendo la actividad residual a los 10 días del 71 y 66,9% para PPO y POD respectivamente, tal como se puede observar en la Tabla 4.11.

Por su parte, y coincidentemente con lo observado anteriormente, los tratamientos térmicos inhibieron la actividad de las enzimas oxidativas, las cuales se mantuvieron inactivas durante los 60 días de almacenamiento.

Vásquez-Caicedo y col. (2007) determinaron la actividad de POD en puré de mango pasteurizado, siendo la actividad residual de 0,4% luego de 98 días de almacenamiento en botellas de vidrio a 25 °C. Y previamente, determinaron la inactivación de PPO luego de 1 minuto de tratamiento a temperaturas entre 85 y 93 °C.

Análisis microbiológico

Inicialmente el puré de mango tuvo un recuento de microorganismos aeróbios mesófilos totales y de mohos y levaduras de 4,28 y 4,07 log UFC/g de tejido respectivamente. Los purés sin tratamiento almacenados en envases de vidrio tuvieron al día 10 de almacenamiento una carga superior a 4,5 log UFC/g de tejido fresco para ambos tipos de microorganismos.

Tabla 4.11. Actividad residual de las enzimas PPO y POD ($\Delta\text{abs}/\text{seg.g}$ de proteína) en puré de mango control almacenado a 4 °C.

Día	PPO	POD
0	$0,138 \pm 0,007$	$0,280 \pm 0,010$
2	$0,118 \pm 0,008$	$0,216 \pm 0,018$
4	$0,109 \pm 0,011$	$0,235 \pm 0,013$
8	$0,112 \pm 0,007$	$0,195 \pm 0,013$
10	$0,098 \pm 0,006$	$0,187 \pm 0,009$
LSD	0,013	0,019

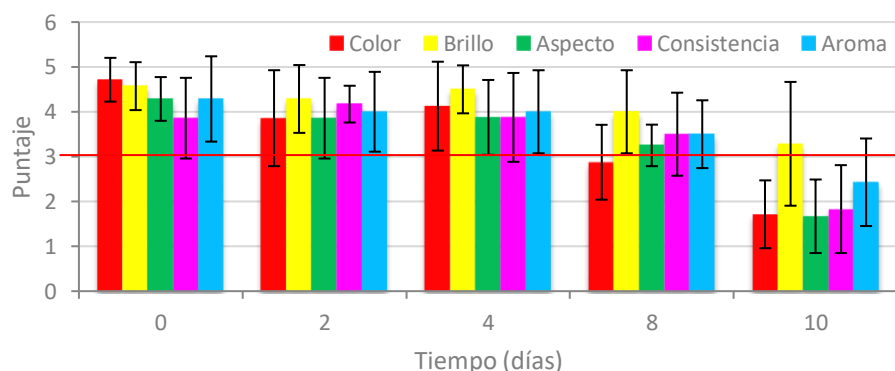
Luego de los tratamientos térmicos, no se detectaron microorganismos en el puré así como tampoco no hubo desarrollo durante los 60 días de almacenamiento a 4 °C.

Análisis sensorial

En la figura 4.53. se muestran los resultados del análisis sensorial efectuado al puré sin tratamiento térmico, donde se distingue que hasta el día 8 de almacenamiento los atributos color, brillo, aspecto general, consistencia y aroma tuvieron puntajes asignados superiores al límite de aceptabilidad establecido (≥ 3). El envase de vidrio retuvo las características organolépticas del producto aceptables por un período mayor al del envase de polietileno.

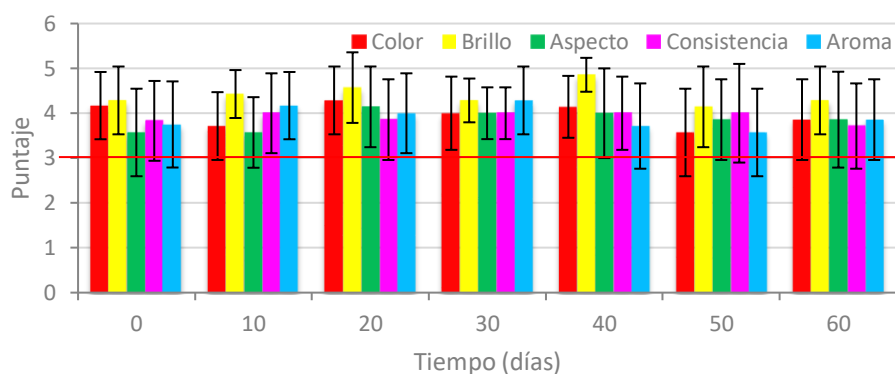
Sin embargo, los purés tratados térmicamente y envasados en recipientes de vidrio mantuvieron los puntajes de sus atributos sensoriales en valores mayores a 3 durante los 60 días de almacenamiento (figuras 4.54. y 4.55.), al igual que lo observado con el envase de polietileno a la misma temperatura de almacenamiento.

Los purés de mango envasados en frascos de vidrio y tratados térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos, al igual que los envasados en bolsas de polietileno, no presentaron cambios en la acidez y el pH y en el contenido de azúcares totales y reductores inmediatamente luego de aplicados los tratamientos y durante el almacenamiento refrigerado. Sin embargo, en estos envases, la actividad antioxidante disminuyó al ser aplicado el tratamiento. El contenido de fenoles totales, pigmentos carotenoides y ácido ascórbico, la actividad antioxidante y los parámetros de color L*, a* y b* disminuyeron durante el almacenamiento.



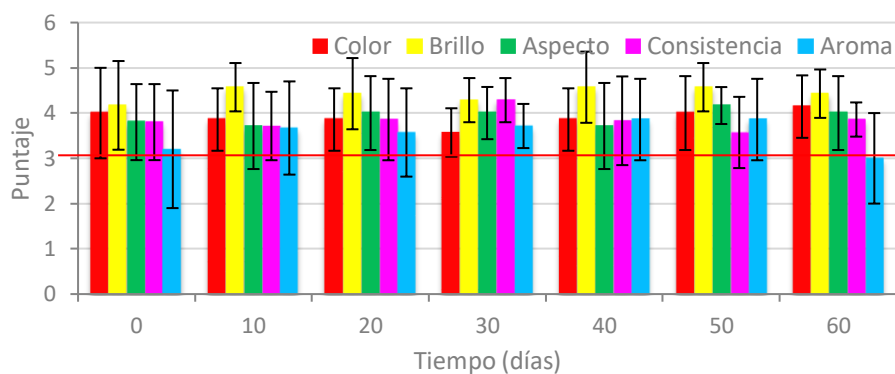
*LSD Color 0,91 - Brillo 1,01 - Aspecto 0,79 -Consistencia 1,09 - Aroma 1,07

Figura 4.53. Análisis sensorial de puré de mango control.



*LSD: Color 0,93 - Brillo 0,73 - Aspecto 0,97 - Consistencia 1,06 - Aroma 1,20
 **LSD Tr: Color 1,12 - Brillo 1,14 - Aspecto 1,01 - Consistencia 1,18 - Aroma 1,51

Figura 4.54. Análisis sensorial de puré de mango tratado 1 minuto a 90 °C.



*LSD: Color 0,86 - Brillo 0,87 - Aspecto 0,92 - Consistencia 0,90 - Aroma 1,20
 **LSD Tr: Color 1,12 - Brillo 1,14 - Aspecto 1,01 - Consistencia 1,18 - Aroma 1,51

Figura 4.55. Análisis sensorial de puré de mango tratado 15 minutos a 90 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Del mismo modo que los purés envasados en bolsas de polietileno, las enzimas oxidativas PPO y POD y el desarrollo microbiano fueron inhibidos hasta el final del almacenamiento refrigerado y los atributos sensoriales obtuvieron puntajes por encima del límite de aceptabilidad (≥ 3) hasta el final del almacenamiento; como así también los purés control tuvieron mayores pérdidas de todos compuestos bioactivos y parámetros de color analizados.

4.4. Conclusiones parciales

- Los tratamientos térmicos aplicados al puré de mango, sumados al almacenamiento refrigerado, fueron eficaces para prolongar su vida útil.
- Los purés envasados en bolsas de polietileno y almacenados a 10 y 4 °C presentaron una evolución similar de L^* , a^* y b^* , disminuyendo los 3 parámetros luego de aplicado el tratamiento y durante el almacenamiento. En los purés envasados en frascos de vidrio el parámetro que mayor disminución presentó luego de aplicado el tratamiento fue el a^* , mientras que durante el almacenamiento la disminución más marcada fue de L^* y b^* .
- Los purés tratados y almacenados a 4 °C fueron aceptados por los evaluadores durante 60 días, independientemente del envase utilizado. Si bien se determinaron cambios de color, los mismos fueron aceptables. La temperatura de almacenamiento influyó sobre los atributos sensoriales evaluados, siendo la menor temperatura de refrigeración la de mayor eficacia en conservar dichos atributos, teniendo puntajes por encima del límite aceptado (≥ 3) hasta el final del almacenamiento.
- La acidez, el pH y el contenido de azúcares totales y reductores no fueron afectados por el tratamiento térmico, pero éste sí provocó una disminución en el contenido de pigmentos carotenoides, β -caroteno, fenoles totales, ácido ascórbico y en la actividad antioxidante.
- Los tratamientos térmicos aplicados inhibieron la actividad de las enzimas oxidativas PPO y POD durante los 60 días de almacenamiento a 10 y 4 °C y en ambos tipos de envases.
- Los tratamientos a 90 °C aplicados durante 1 y 15 minutos fueron capaces de inhibir el desarrollo microbiano por 60 días en el puré de mango en ambos tipos de envase.

Capítulo 5

Aplicación de luz UV-C a
productos derivados del
mango

5. Aplicación de luz UV-C a productos derivados del mango

5.1. Introducción

La luz UV-C puede ser utilizada como método de preservación de jugos de frutas en razón de su efecto germicida y que no produce cambios organolépticos intensos a diferencia de lo que ocurre con los tratamientos térmicos. Es una alternativa ante los métodos tradicionales, tales como los tratamientos térmicos ya mencionados o la adición de sustancias antimicrobianas, y puede ser utilizado en la industria para el control de microorganismos alterantes o bacterias patógenas. Tiene la ventaja de ser una tecnología física fácil de utilizar, no generar sustancias tóxicas, remover contaminantes y requerir menor energía que otros tratamientos de preservación. Se trata de una radiación no ionizante y con bajo poder de penetración (Oteiza y col., 2010; Gayán y col., 2016).

La efectividad de los tratamientos con luz UV-C es dependiente de la capacidad de penetración de la radiación a través del medio físico, siendo reducida en los líquidos. La luz UV-C penetra en los jugos casi 1 mm absorbiéndose el 90% de la radiación. Cuanto mayor es la cantidad de sólidos solubles, es menor la intensidad de la radiación que penetra en el líquido (Guerrero-Beltrán y col., 2005; Koutchma y col., 2009).

La luz es parte del espectro de ondas electromagnéticas y las longitudes de onda del rango de luz UV se subdividen en UV-A (315-400 nm) responsable del bronceado de la piel, UV-B (280 a 315 nm) dañina para el ser humano, UV-C (200-280 nm) germicida y UV-vacío (100-200 nm) que es absorbida por casi todas las sustancias (Koutchma y col., 2009).

La luz UV-C es totalmente absorbida en cortas distancias por el aire, formando ozono al colisionar con átomos de O₂ por lo que no se la observa en la naturaleza (Ribeiro y col., 2012). Su acción como agente antimicrobiano se debe a que el rango de longitud de onda entre 250 y 280 nm altera el material genético de células de diferentes microorganismos, evitando su reproducción siendo considerados por ello como microorganismos inactivos. Las lámparas comerciales de luz UV-C generalmente tienen su pico de emisión a 253,7 nm, conteniendo un gas inerte en su interior que emite los átomos e iones que interactúan con el material que encuentra a su paso por absorción, reflexión, refracción y dispersión (Koutchma y col., 2009; Gayán y col., 2016).

Las longitudes de onda inferiores a 320 nm producen suficiente energía como para provocar reacciones fotoquímicas (Koutchma y col., 2009), las cuales ocurren por una interacción directa entre fotones y moléculas.

Las reacciones fotoquímicas pueden tener lugar por absorción del fotón de luz y afectarían los enlaces O-H, C-C, C-H, C-N, H-N y S-S. También pueden ocurrir por fotosensibilidad, donde un componente del sistema reacciona en respuesta a la incidencia de la luz con algún otro componente y estas reacciones son principalmente de fotooxidación (Koutchma y col., 2009), generándose peróxido de hidrógeno o aniones superóxido.

Los ácidos nucleicos son compuestos fuertemente absorbedores de luz a 253,7 nm, siendo las bases purínicas y pirimidínicas las que absorben, así como los compuestos con enlaces conjugados, anillos aromáticos y moléculas de doble anillo y enlaces disulfuro. En general se considera que varios nutrientes son sensibles, entre ellos las vitaminas A, B₂, B₁₂, D, K, ácido fólico, carotenos, tocoferoles, triptófano, ácidos grasos insaturados y fosfolípidos, aunque tienen una sensibilidad diferenciada según la longitud de onda y el medio en que se encuentran. A 254 nm el ácido ascórbico es un fuerte absorbedor de la luz UV.

El uso de la radiación UV-C está aprobado como un tratamiento alternativo a la pasteurización térmica por la Food and Drug Administration (USDA-FDA, 2002) y se requiere una reducción de 5 ciclos log del microorganismo más resistente, de significancia para la salud pública. Una fuente de radiación usada para tratar un alimento se define como un aditivo alimentario, aunque literalmente no sea adicionada al alimento.

Oteiza y col. (2005) determinaron la eficacia de la luz UV-C para inactivar cepas de *E. Coli* ATCC 25922 y O157:H7 (EDL 933) en jugos de frutas (naranja, manzana y multifrutal). Evaluaron el efecto de la presencia de sólidos en suspensión sobre la inactivación de dichos microorganismos por acción de la luz UV-C debido a los diferentes coeficientes de absorción. Los jugos fueron irradiados con dosis de 0 a 6 J/cm² y bajo diferentes condiciones operativas, como ser diferente espesor del jugo expuesto a la radiación y el efecto de la agitación en un rango de 0 a 220 rpm. Tanto el menor espesor de material como la agitación fueron efectivos para producir el mayor efecto bactericida, y la radiación UV logró el control de la cepa estudiada de *E. coli* O157:H7.

Tran y col. (2004) estudiaron el efecto de la aplicación de luz UV a jugo de naranja, determinando que dosis de 73,8 mJ/cm² fueron capaces de controlar la carga microbiana, así

como también La Cava y col. (2015) determinaron lo propio para jugos de pomelo recién exprimidos reteniendo sus características fisicoquímicas y nutricionales durante el almacenamiento refrigerado. Müller y col. (2014) trataron jugo de uva y manzana en un reactor enfriado continuo de 25 ciclos, determinando una alta reducción de la PPO, lo cual previno el desarrollo de pardeamiento durante el almacenamiento refrigerado además de reducir la carga microbiana. Pala y col. (2013, 2011) para jugos de naranja y granada determinaron la efectividad de la luz UV-C en disminuir más de 5 ciclos log de *E. Coli* ATCC 25922 mientras el cambio en el contenido de sustancias bioactivas fue reducido, extendiéndose el período de almacenamiento. Guerrero-Beltrán y col. (2009) determinaron la cinética de inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* y encontraron que el cambio de color fue más pronunciado a mayores dosis UV-C en jugos de uva, arándanos y pomelos. En jugo de carambola tratado con UV-C los contenidos de compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante se incrementaron, y se redujo en 2 ciclos log la carga microbiana (Bath y col., 2011).

En néctar de mango, Guerrero-Beltrán y col. (2006) informaron acerca de la inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 10274) y de la actividad de la polifenoloxidasas. Realizaron el tratamiento al néctar inoculado con una carga de 5,56 log UFC/mL a diferentes tiempos, los cuales correspondieron a dosis en un rango de 75 a 450 kJ/m². El néctar sin inocular fue tratado a una dosis de 225 kJ/m² y se almacenó durante 30 días. La máxima reducción alcanzada fue de 2,94 y 2,71 ciclos log de aerobios mesófilos totales y levaduras respectivamente a la máxima dosis de radiación (450 kJ/m²). La luz UV logró una reducción de hasta un 60% de la actividad de PPO y no se produjeron cambios significativos en el color durante el almacenamiento. Por otra parte, Keyser y col. (2008) utilizando un sistema continuo de flujo turbulento determinaron la eficiencia en el control de la carga microbiana en un producto similar.

El objetivo de este capítulo fue analizar el efecto de la aplicación de la radiación UV-C a productos a base de mango criollo, variedad diferente a la estudiada en los trabajos antes mencionados. Se efectuaron tratamientos con luz UV-C a puré y néctar de mango, determinando su efectividad en el control del desarrollo de la *Escherichia coli* ATCC 25922 (microorganismo indicador) y su efecto sobre el color y la actividad de las enzimas oxidativas

durante el almacenamiento a temperatura ambiente y de refrigeración, aspectos que no fueran analizados previamente.

5.2. Aplicación de luz UV-C

5.2.1. Puré de mango

5.2.1.a. Control de microorganismos patógenos

A los fines de determinar el efecto de la luz UV-C frente a microorganismos patógenos presentes en el puré de mango, se llevaron a cabo ensayos de inoculación con una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 al producto previamente esterilizado según se detalló en 2.6.1.b.

Para ello se dispusieron de manera uniforme 20 g de puré inoculado en placas de vidrio de 10 cm de diámetro, de modo de lograr un espesor de material de aproximadamente 3 mm. Se colocaron las placas en la cámara de luz UV-C descrita en 2.3.2. y aplicaron dosis de 18,80; 37,60; 56,40 y 75,20 kJ/m². Una vez realizado el tratamiento se prosiguió con el análisis microbiológico, efectuando el recuento de *E. coli* en agar de recuento en placa según se explicó en 2.6.1.a.

En la figura 5.1. se puede observar que los tratamientos con luz UV-C provocaron una disminución gradual de la carga microbiana de *Escherichia coli* ATCC 25922 en el puré, siendo del orden de 1,4 ciclos log para la dosis de 56,40 kJ/m², no distinguiéndose un mayor efecto en el control microbiano a una dosis superior. Así mismo, Oteiza y col. (2010) determinaron dosis de UV-C de 2,09 J/cm² a 20 °C para reducir 5 ciclos log de un cocktail de cepas de *E. Coli* O157:H7 en jugo de naranja conteniendo una carga de levaduras de hasta 6,3 log UFC/mL.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el tratamiento con luz UV-C en las condiciones aplicadas, no fue efectivo para asegurar la pasteurización del puré según lo establecido por la FDA, que requiere una reducción de 5 ciclos log de patógenos de riesgo. La baja efectividad de la radiación UV-C está relacionada con la absorptividad del puré, dado que la composición, contenido de sólidos y el color tienen influencia tanto en la absorción de la radiación como en la efectividad de la misma (Koutchma y col., 2009; Oteiza y col., 2005). El puré del mango

“criollo” tiene un importante contenido de fibras, lo cual podría tener un efecto protector sobre microorganismos ante la radiación.

En néctar de mango, Keyser y col. (2008) encontraron una reducción de 0,4 ciclos log de bacterias aerobias mesófilas totales a dosis de 689 J/L de luz UV-C en un sistema continuo, llegando a no ser detectadas para dosis de 1377 J/L; mientras en jugos mezcla de guayaba y ananá, fueron necesarias dosis superiores para eliminar todas las bacterias debido a la mayor turbidez ocasionada por presencia de células vegetales o fibras, que actúan como barrera frente a la radiación.

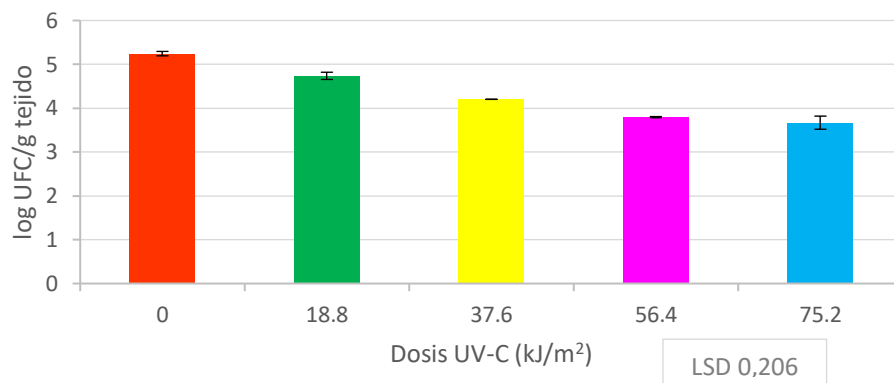


Figura 5.1. Reducción de *Escherichia coli* ATCC 25922 en puré de mango tratado con luz UV-C en un rango de 0 a 75,20 kJ/m².

5.2.1.b. Ensayos de almacenamiento

El almacenamiento del puré de mango se hizo luego de exponerlo a dosis de luz UV-C de 18,80; 37,60 y 112,80 kJ/m². Para ello, se realizaron los tratamientos según se describió en 5.2.1.a. y envasaron en bolsas de polietileno antes de almacenarlos a 25, 10 y 4 °C. A tiempos prefijados se evaluó el color y actividad de la enzima PPO.

Color

El color es el primer atributo evaluado por el consumidor, determinante de su apariencia e indicador de su calidad. En los productos a base de frutas puede deberse a la

presencia de pigmentos naturales como clorofilas, carotenoides, antocianinas, y otros pigmentos que resultan de reacciones de pardeamiento, siendo el desarrollo de estos últimos uno de los mayores problemas en la industria alimentaria (Piagentini y col., 2012).

Los tratamientos con luz UV-C pueden modificar el color original del producto provocando alteraciones en sus componentes o interviniendo en la actividad de las enzimas relacionadas con el color del producto.

La vida útil del puré de mango envasado y almacenado a 25 °C, fue de 2 días para el control y el tratado a 18,8 kJ/m² y de 3 días para mayores dosis, debido a los cambios de color e hinchamiento de las bolsas. A temperatura de refrigeración la vida útil alcanzó los 12 días. En la figura 5.2 se observa el puré de mango control y los tratados con dosis de 18,8 y 37,6 kJ/m² recientemente preparados (inicial) y luego de 3 días de almacenamiento a 25, 10 y 4 °C, donde puede apreciarse que la vida útil del puré fue prolongada por el almacenamiento refrigerado, presentándose hinchamiento de las bolsas a 25 °C y desarrollo de color inaceptable en el producto.



Figura 5.2. Puré de mango control (sin tratamiento) y tratado con luz UV-C recientemente preparado y a los 3 días de almacenamiento a 4, 10 y 25 °C.

El parámetro de color L^* no fue afectado por los tratamientos UV pero disminuyó en todos los casos a las 24 horas de almacenamiento a 25 °C (figura 5.3.). El parámetro b^* presentó una evolución similar, aunque el tratamiento a dosis de 112,28 kJ/m² provocaron una disminución del mismo inmediatamente luego de aplicado. Durante el almacenamiento refrigerado a 10 y 4 °C, se encontró una disminución continua de ambos parámetros, siendo de mayor magnitud a mayor temperatura de almacenamiento (figuras 5.4. y 5.5.). Estos cambios en L^* y b^* indican un desplazamiento del amarillo hacia los colores azules y menor luminosidad.

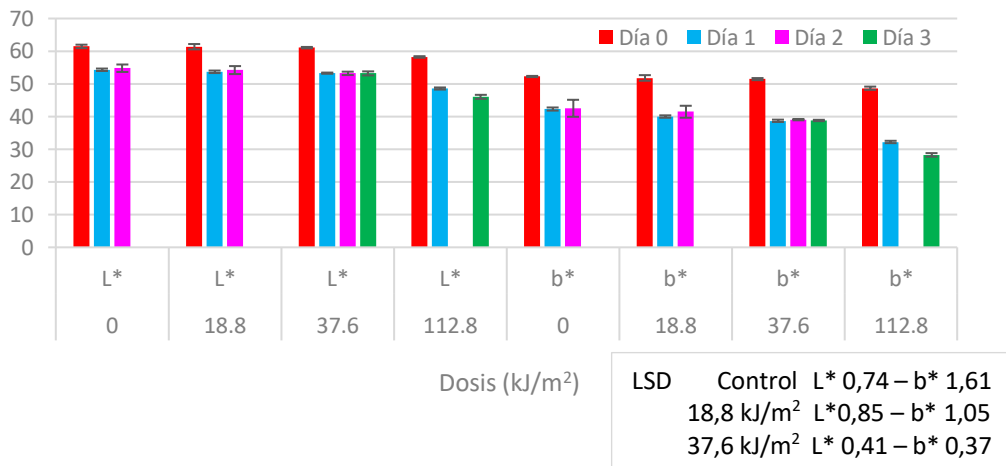


Figura 5.3. Evolución de L^* y b^* en purés de mango control y tratados con luz UV-C almacenados a 25 °C.

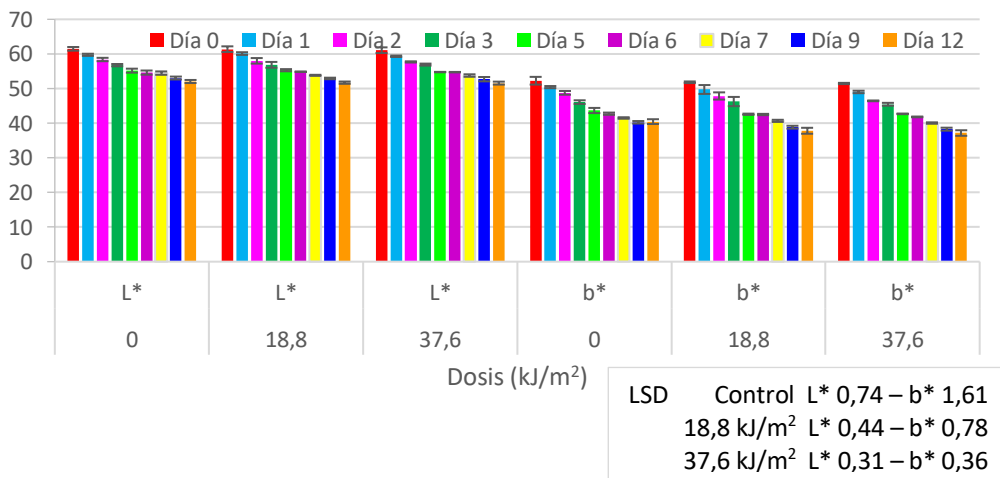


Figura 5.4. Evolución de L^* y b^* en purés de mango control y tratados con luz UV-C almacenados 4 °C.

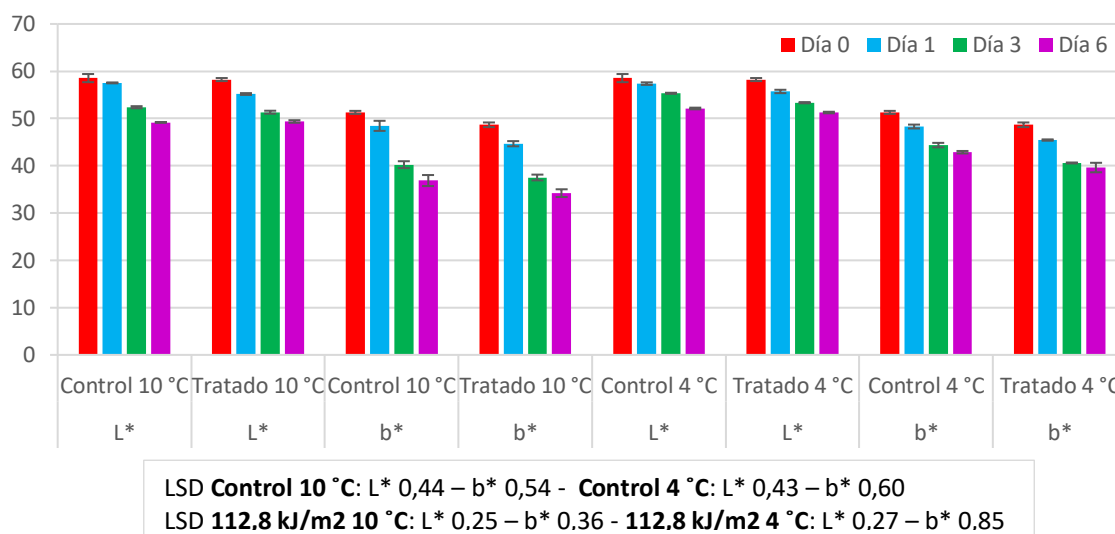


Figura 5.5. Evolución de L* y b* en purés de mango control y tratados con luz UV-C (112,8 kJ/m²) almacenados a 10 y 4 °C.

Durante el almacenamiento a 25 °C, el parámetro a* aumentó en los purés control y tratado a 18,8 kJ/m² de 5,41 a 6,41, mientras que en el producto sometido a mayor dosis se mantuvo prácticamente sin cambios significativos ($p < 0,05$). En los purés almacenados a 10 y 4 °C se distinguió una tendencia similar durante los 12 días, indicando un corrimiento hacia los tonos rojizos.

Al calcular los valores del tono (hue) se encontró que inicialmente los purés tenían un valor de 84°, el cual corresponde a un tono amarillo-anaranjado. A las 48 horas a 25 °C descendió a 81° 07' en los purés controles mostrando un desplazamiento hacia las tonalidades más rojas u oscuras. El resto de las determinaciones efectuadas para los diferentes tratamientos con luz UV-C, tiempos y temperaturas de almacenamiento tuvieron valores comprendidos en el mismo rango (datos no mostrados), correspondiendo en todos los casos a los mismos colores.

Diferencias más notorias se encontraron en la saturación, según puede observarse en las figuras 5.6., 5.7. y 5.8. que muestran los cambios durante el almacenamiento a 25 °C y a temperaturas de refrigeración. En estos purés las disminuciones de la saturación fueron superiores al 18,6% al finalizar el almacenamiento a 25, 10 (datos no mostrados) y 4°C.

Con respecto a los cambios de color, se observó que inmediatamente luego de aplicados los tratamientos el puré tratado con dosis de 18,80 kJ/m² presentó un ΔE^* de $0,55 \pm 0,29$, el tratado con 37,60 kJ/m² un ΔE^* de $0,89 \pm 0,18$, mientras que el tratado con la mayor

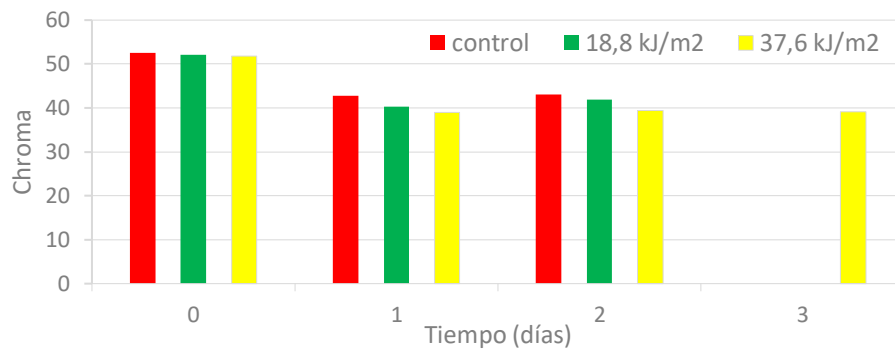


Figura 5.6. Evolución de la saturación del color en purés almacenados a 25 °C.

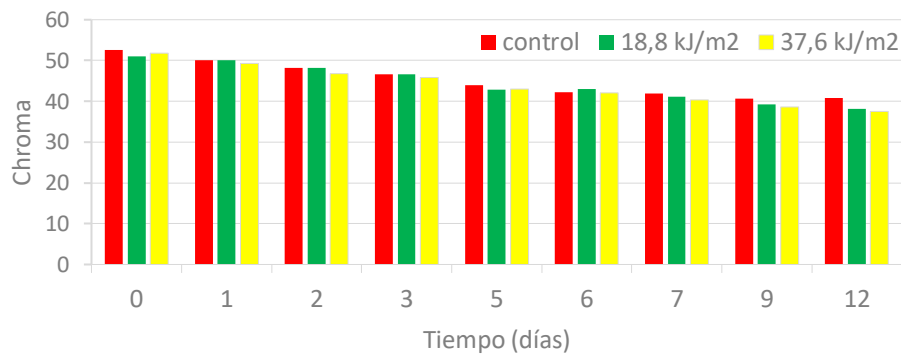


Figura 5.7. Evolución de la saturación del color en purés almacenados a 4 °C.

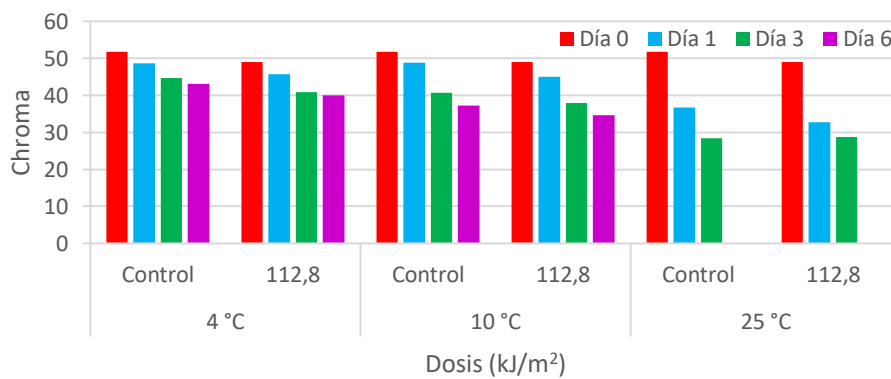


Figura 5.8. Evolución de la saturación del color en purés tratados con dosis de 112,8 kJ/m² almacenados a 25, 10 y 4°C.

dosis (112,80 kJ/m²) tuvo una mayor variación de color respecto al puré control, siendo el ΔE^* $2,68 \pm 0,36$. De acuerdo a la escala de Limbo y col. (2006), ΔE superiores a 6 indican

fuertes diferencias de color, siendo perceptibles por el observador. Para estos purés el ΔE^* calculado muestra desde pequeñas diferencias a diferencias moderadamente perceptibles, según la escala antes mencionada.

A las 24 horas los purés almacenados a 25 °C (figuras 5.9. y 5.12.) tuvieron un ΔE^* superior a $12,26 \pm 0,50$ para el control y mayor a de $14,08 \pm 0,38$ para los purés tratados, siendo significativamente diferentes en todos los casos ($p < 0,05$).

Los valores encontrados de ΔE^* a las 24 horas de almacenamiento a 10 °C estuvieron en un rango de $3,12 \pm 0,18$ a $5,90 \pm 0,55$ para el control y los purés tratados (figura 5.10. y 5.12.), siendo significativamente diferentes a dosis superiores a $18,8 \text{ kJ/m}^2$. Los valores de ΔE^* se incrementaron alcanzando valores superiores a 12 a partir de los 5 días de almacenamiento para los purés tratados con dosis de $18,80$ y $37,6 \text{ kJ/m}^2$, mientras que los purés tratados a mayor dosis hicieron los propio a los 3 días.

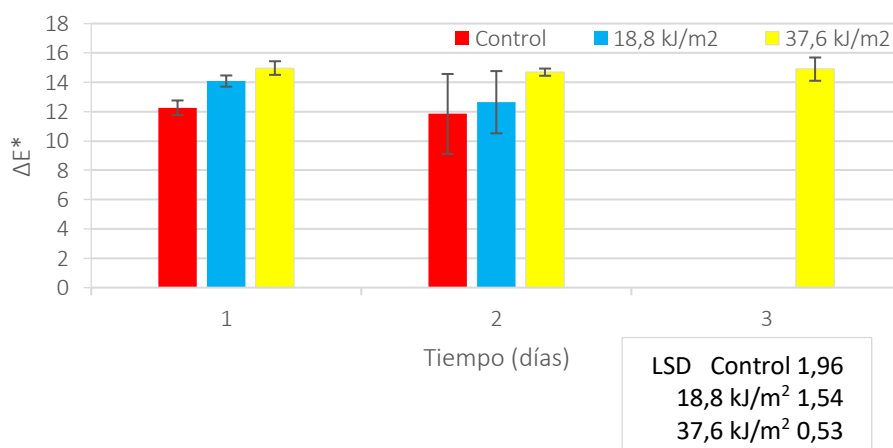


Figura 5.9. Cambio de color en purés control y tratados almacenados a 25 °C.

En el caso de los purés almacenados a 4 °C, se observó que a las 24 horas de almacenamiento no hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el control y los purés tratados, siendo los valores de ΔE^* determinados entre $2,54 \pm 0,89$ y $4,23 \pm 0,70$ para el control y los tratados (figura 5.11. y 5.12.). Durante el almacenamiento se incrementó la diferencia de color, superando al día 7 el valor de 12 y siendo el control significativamente diferente ($p < 0,05$) a los purés tratados.

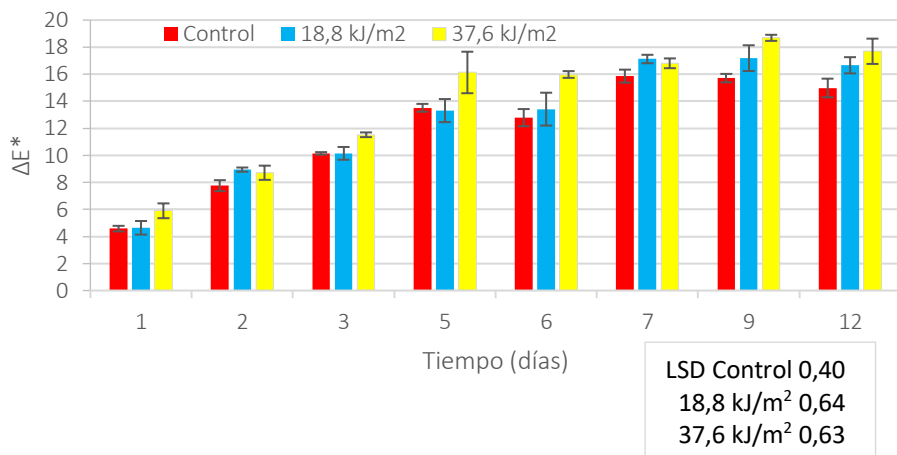


Figura 5.10. Cambio de color en purés control y tratados, almacenados a 10 °C.

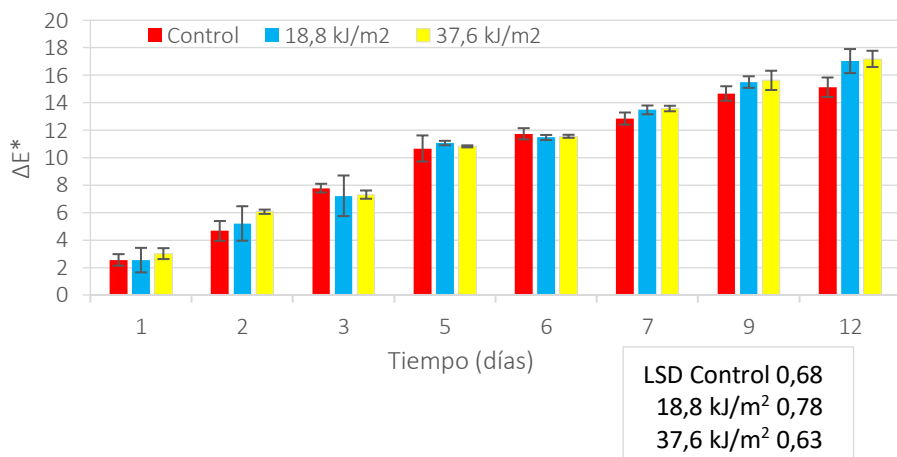


Figura 5.11. Cambio de color en purés control y tratados, almacenados a 4 °C.

La medición de color instrumental y el cálculo del ΔE^* , nos demuestran que los purés tratados con UV C y control tuvieron cambios de color perceptibles dentro de los primeros días de almacenamiento, por lo que resultaron rechazados organolépticamente.

El color del mango tiene un tono característico anaranjado amarillento debido principalmente a los carotenoides presentes. Los tratamientos con luz UV-C pueden modificar el color original del producto provocando alteraciones en sus componentes o interviniendo en la actividad de las enzimas relacionadas con el color del producto. Si bien los carotenoides son sensibles a la luz UV-C, diversos estudios realizados en sistemas de flujo turbulento para el tratamiento de varios jugos de frutas, entre ellos néctares de mango y

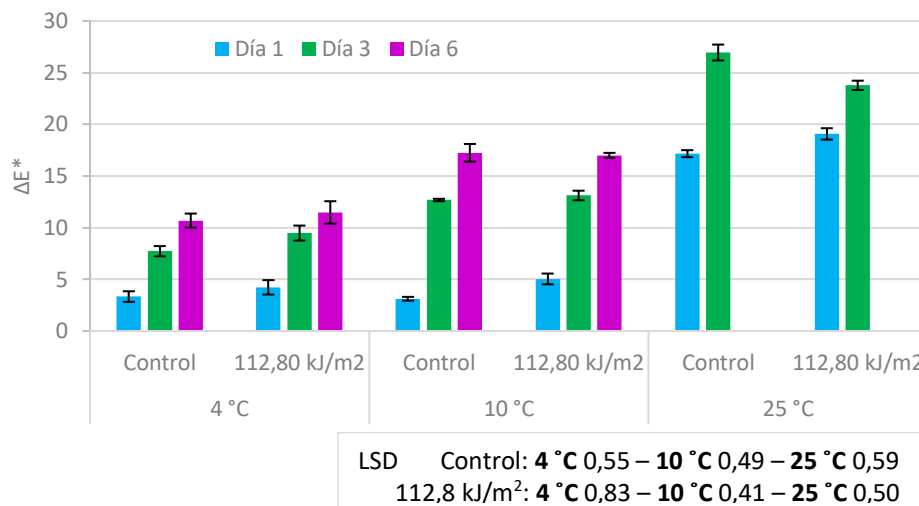


Figura 5.12. Cambio de color en purés control y tratado con dosis de 112,8 kJ/m², almacenados a 25, 10 y 4 °C.

frutilla, demostraron la ausencia de cambios en el color al compararlos con los tratamientos térmicos (Keyser y col., 2008).

Dado que los tratamientos no fueron efectivos en el control del cambio de color, se prosiguió con el estudio de la actividad de polifenoloxidasa para determinar el grado de inactivación alcanzado a las diferentes dosis de UV-C aplicadas.

Actividad de PPO

La enzima polifenoloxidasas PPO puede producir cambios en el color de los productos elaborados con frutas. El pardeamiento enzimático se observa en frutas luego que sus tejidos son cortados y expuestos al aire, la PPO reacciona con monofenoles y difenoles, llevando finalmente a la formación de pigmentos pardos (Guerrero-Beltrán y col., 2006). Estas reacciones de deterioro afectan los principales atributos de calidad del puré de mango, dado que son capaces de modificar su color y sabor.

En el caso del puré de mango, los tratamientos con luz UV-C utilizados (dosis de hasta 112,8 kJ/m²) no tuvieron un efecto notorio sobre la actividad de la polifenoloxidasas. En la Tabla 5.1. se presentan las actividades obtenidas de los purés sometidos a los tratamientos, donde se observa que se retiene más del 79% de la actividad.

Tabla 5.1. Actividad de la enzima PPO ($\Delta\text{abs}/\text{seg.g}$) en puré de mango tratado con luz UV-C.

Dosis (kJ/m^2)	PPO	LSD 0,013
0	0,100 \pm 0,004	
18,8	0,090 \pm 0,017	
37,6	0,079 \pm 0,003	
112,8	0,098 \pm 0,002	

Los tratamientos UV-C aplicados redujeron en un 20% la actividad de PPO y no fueron efectivos en evitar los cambios de color del puré almacenado a 25 °C. En las experiencias de almacenamiento refrigerado realizadas se observó una disminución de la luminosidad (L^*) y de b^* que es el parámetro relacionado con la pérdida de colores amarillos, y se detectó un incremento ligero en la tonalidad roja (a^*) indicando algo de colores rojizos. Estos cambios fueron reflejados por el ΔE^* y la saturación del color (chroma) y en mucho menor grado por el tono (hue). Por otra parte, los tratamientos UV-C aplicados no fueron capaces de reducir la carga de *E. coli* ATCC 25922 a los niveles recomendados por la FDA para considerarlos tratamientos de pasteurización. Las dosis mayores aplicadas promovieron la aparición de otros síntomas de deterioro como ser la presencia de burbujas en las bolsas de polietileno.

5.2.1.c. Otros tratamientos ensayados

Asimismo y con el objetivo de minimizar los cambios de color observados, se efectuaron ensayos de adición de reguladores de acidez y antioxidantes al puré, previo a su exposición a la luz UV-C. Se realizó el agregado individual de ácido ascórbico al 0,1%, ácido cítrico en un rango de 0,3 a 0,5% y una mezcla de ambos aditivos. El pH se redujo por debajo de 3,5 para el caso de la combinación de ambos aditivos. Se efectuó un seguimiento organoléptico del producto envasado en bolsas de polietileno y almacenado a temperatura ambiente. Si bien se obtuvo una mejora en el color del puré, estos no fueron efectivos en el control del deterioro por lo que no se continuó con el estudio (Figura 5.15).

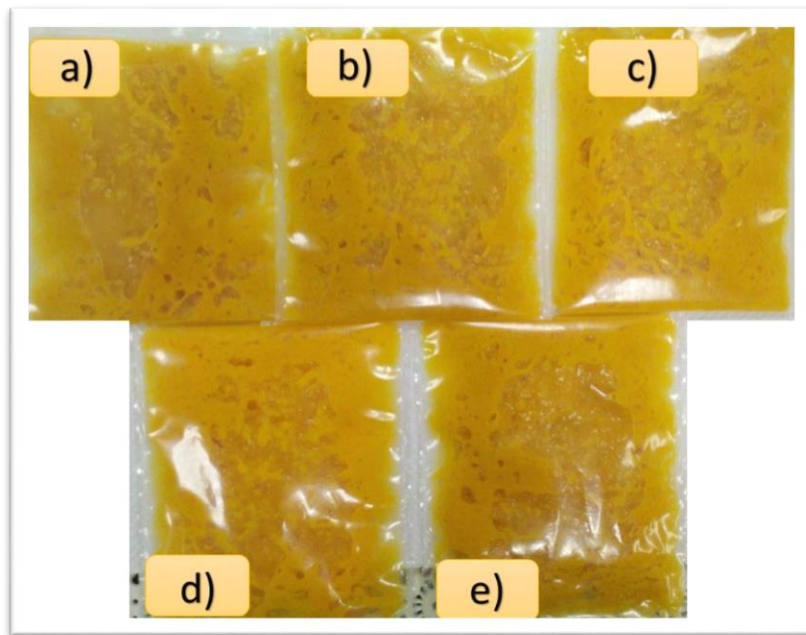


Figura 5.15. Purés de mango control (sin agregado de aditivos ni tratamiento UV) y tratados con una dosis de $18,8 \text{ kJ/m}^2$ de luz UV-C con y sin previo agregado de aditivos. En la foto se observan purés: a) control, b) tratado con luz UV-C sin aditivos, c) adicionado de 0,1% de ácido ascórbico, d) adicionado de 0,5% de ácido cítrico y e) adicionado de 0,1% de ácido ascórbico + 0,45% de ácido cítrico.

Guerrero-Beltrán y col., (2005) informaron que la adición de ácido ascórbico ($\text{pH} < 4$) al puré de mango reducía más del 91,1% de la actividad PPO y el color se mantenía estable por más de 26 días. Sin embargo, Ndiaye y col. (2009) encontraron que niveles del 1% de ácido ascórbico, aplicado a rodajas de mango, fueron insuficientes para prevenir la acción de la PPO, tal como fue descrito previamente por Tomás-Barberán y col. (2001).

5.2.2. Néctar de mango

El néctar de mango puede ser producido directamente a partir del fruto fresco o del puré de mango previamente elaborado. Durante su elaboración industrial se le suele adicionar como ingredientes agua, azúcar y ácido cítrico.

El producto elaborado a base de mango “criollo” denominado “néctar”, se preparó mezclando un 40% (p/p) del puré obtenido según se detalló en 2.3.2.b., con agua potable previamente hervida y enfriada, resultando una solución con un contenido de sólidos solubles de 7 °Brix y un pH de $4,93 \pm 0,36$. El néctar así preparado se utilizó para la experiencias cuyos resultados se presentan a continuación.

5.2.2.a. Control de microorganismos patógenos mediante tratamiento UV

Con el objetivo de determinar el efecto de la luz UV-C frente a microorganismos patógenos, se llevaron a cabo ensayos de inoculación con una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, según se describió en 2.6.1.b., en el néctar previamente esterilizado. Se dispuso en forma uniforme 20g del néctar inoculado en placas de vidrio de 15 cm de diámetro y se prosiguió según 5.2.1.a. Se aplicaron dosis de 18,80; 37,60; 56,40 y 75,20 kJ/m² con agitación permanente, dado que Oteiza y col. (2005) encontraron un mayor efecto bactericida en jugos de naranja tratados con agitación. Luego de realizado el tratamiento se prosiguió con el análisis microbiológico, efectuando el recuento de *E. coli* en agar de recuento en placa según lo detallado en 2.6.1.b.

En la Tabla 5.2. se puede observar el efecto de la aplicación de luz UV-C al néctar de mango inoculado, donde se nota una disminución progresiva de los recuentos microbianos con el aumento de la dosis a la que fue expuesto. Con dosis de 56,40 kJ/m² la población inicial de *Escherichia coli* se redujo cerca de un 50%, y a mayores dosis (75,20 kJ/m²) ya no se detectó desarrollo. La eficacia de los tratamientos para reducir la carga microbiana del néctar está en relación con el color, sólidos disueltos y su absortividad. Keyser y col. (2008) establecieron que la aplicación de dosis de 1377 J/L de luz UV-C a néctar de mango fueron capaces de eliminar 1,40 ciclos log de bacterias aerobias mesófilas y 2,8 ciclos log de mohos y levaduras. Asimismo, Guerrero-Beltrán y col. (2006) determinaron la efectividad de la luz UV-C en la inactivación de *Saccharomyces cerevisiae* inoculada al néctar.

5.2.2.b. Ensayos de almacenamiento

Para realizar los ensayos de almacenamiento, el néctar de mango se dispuso en

Tabla 5.2. Efecto de la luz UV-C en néctar inoculado con *Escherichia coli* ATCC 25922

	Néctar esterilizado	Néctar inoculado	Dosis (kJ/m ²)			LSD 0,36
			18,80	37,60	56,40	75,20
	Recuentos iniciales		Recuentos finales			
log UFC/g de néctar	nd	5,28	4,41	3,72	2,87	nd

recipientes de vidrio de 15 cm de diámetro formando un lecho de 3 mm de espesor y se lo trató con dosis de 18,80; 37,60; 75,20 y 146,67 kJ/m² con agitación magnética permanente. Se almacenaron los néctares envasados en bolsas de polietileno a 25 °C y a temperaturas de refrigeración de 10 y 4 °C. A tiempos prefijados se retiraron las muestras y determinó el color y actividad de las enzimas PPO y POD.

Color

Los valores de luminosidad (L*) y de b* del néctar fueron afectados inmediatamente luego de aplicados los tratamientos con UV-C, siendo el descenso más evidente a mayor dosis utilizada.

Durante el almacenamiento a 25 °C (figura 5.16.), se observó una tendencia al incremento de los valores de L* para el néctar control y tratados hasta dosis de 75,20 kJ/m², no distinguiéndose diferencias significativas (p > 0,05) entre los valores iniciales y finales para el néctar tratado a 146,67 kJ/m². El b* no tuvo cambios significativos en sus valores durante el almacenamiento del néctar control y tratado (p > 0,05), a excepción del producto tratado con la mayor dosis de UV-C, presentando disminuciones significativas a partir de las 24 horas y permaneciendo luego constante.

El parámetro a*, que mide las variaciones del color entre el verde (valores negativos de la escala) y el rojo (valores positivos de la escala), no fue afectado significativamente luego de los tratamientos aplicados al néctar (figura 5.17.). A los 7 días de almacenamiento a 25 °C se encontraron disminuciones significativas en el valor de a* para el néctar control y

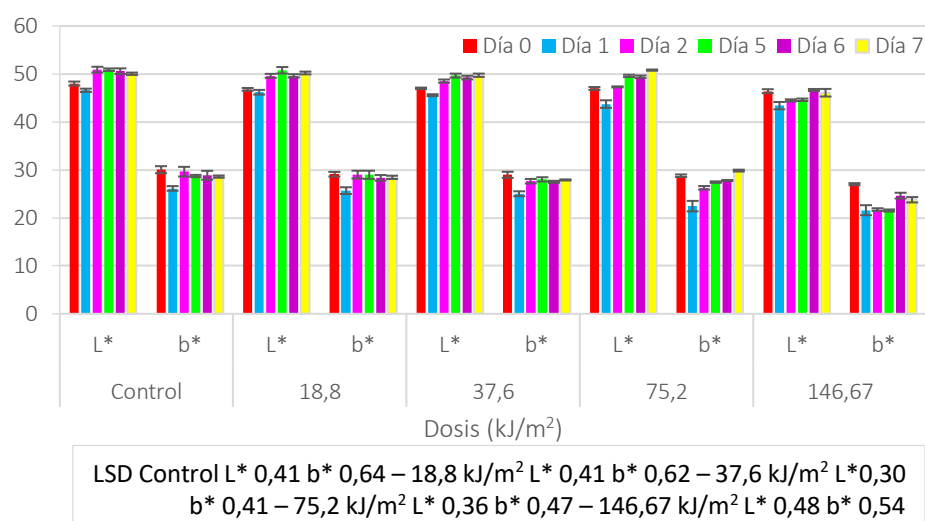


Figura 5.16. Evolución durante el almacenamiento a 25 °C de L* y b* en néctar de mango control y tratados con luz UV-C.

tratado con dosis inferiores a 75,20 kJ/m² indicando un desplazamiento hacia el verde (mayor pardeo), mientras en el néctar tratado a 146,67 kJ/m² el valor de a* tuvo aumentos significativos ($p < 0,05$).

En néctar de mango pasteurizado a 98 °C durante 15 segundos y almacenado a 25 °C Cadena y col. (2013) informaron disminuciones significativas de L*, y aumentos de b* y a* debido al oscurecimiento del producto.

Durante el almacenamiento refrigerado a 10 °C (figura 5.18.), y a diferencia de lo observado para el almacenamiento a temperatura ambiente, los valores de L* y b* tuvieron disminuciones significativas en sus valores, no distinguiéndose diferencias significativas entre controles y tratados a dosis inferiores a 75,20 kJ/m² ($p > 0,05$). El néctar tratado a 146,47 kJ/m² tuvo menores descensos de L* y de b*. El parámetro a* tuvo incrementos significativos en todas las muestras de néctar analizadas, tanto control como tratadas, no habiendo diferencias significativas entre los néctares control y los tratados con dosis de 18,80 y 37,60 kJ/m² (figura 5.19.) a los 8 días.

El néctar almacenado a 4 °C (figura 5.20.) también presentó disminuciones de los valores de L*, no distinguiéndose diferencias significativas entre los controles y tratados ($p > 0,05$). Durante el almacenamiento el parámetro a* aumentó y el b* disminuyó tanto en néctares control como tratados, siendo significativamente diferente el tratamiento de mayor

dosis (figuras 5.20. y 5.21.). Guerrero-Beltrán y col. (2006) informaron para néctar de mango, tratado en un sistema continuo con dosis de 75 a 450 kJ/m², que el principal cambio fue observado en el parámetro L*.

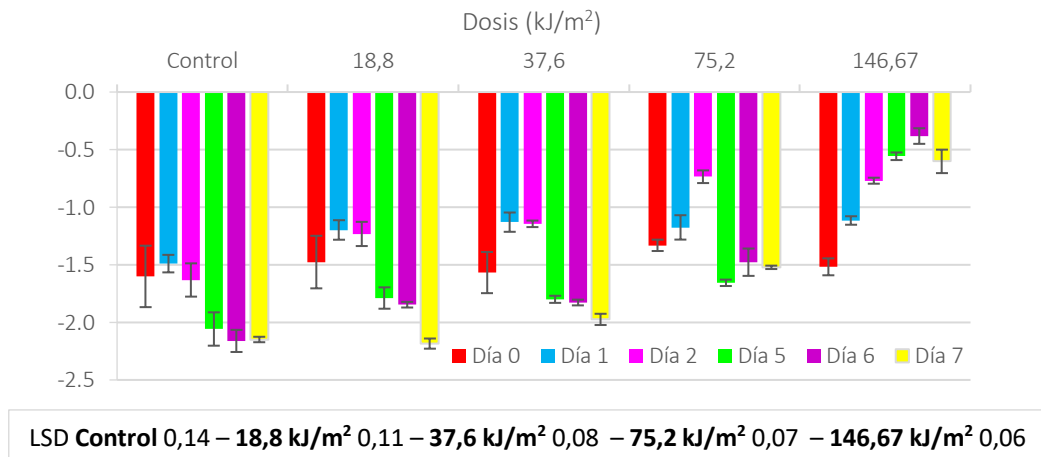


Figura 5.17. Evolución durante el almacenamiento 25 °C de a* en néctares de mango control y tratados.

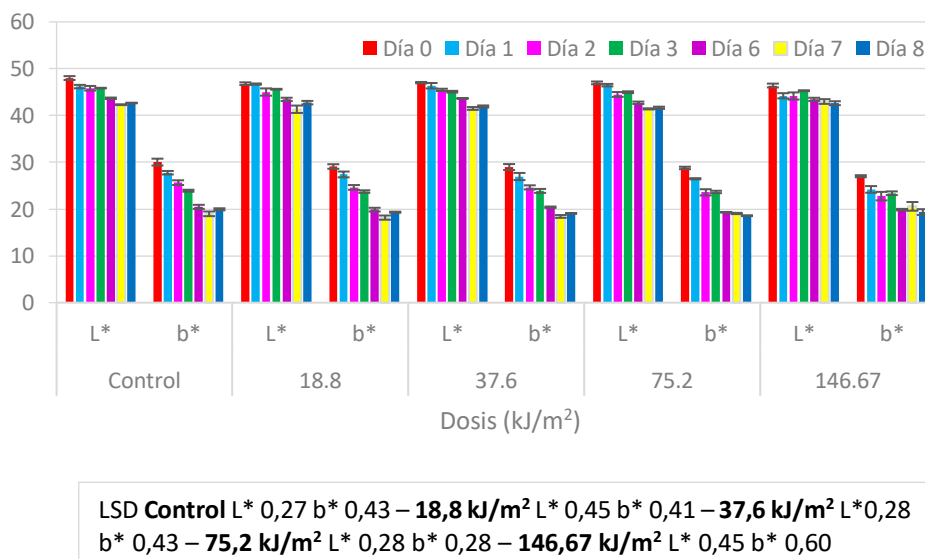


Figura 5.18. Evolución durante el almacenamiento a 10 °C de L* y b* en néctar de mango control y tratado con luz UV-C.

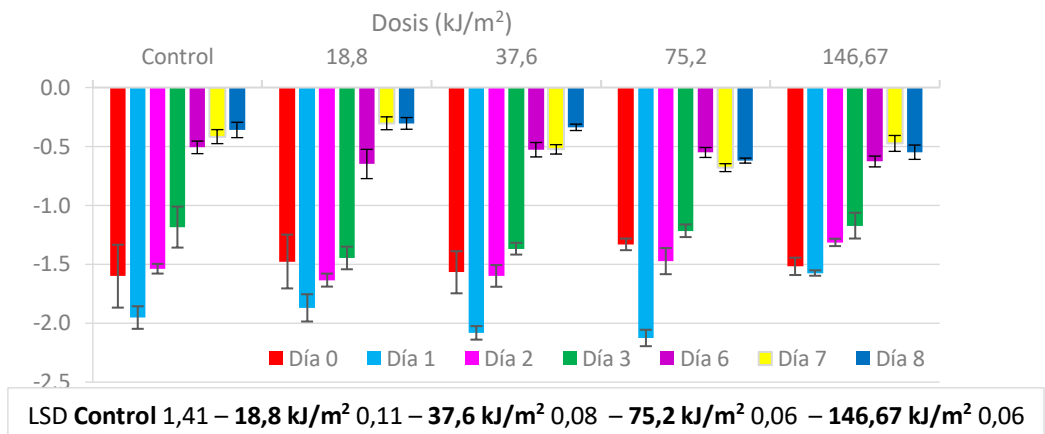


Figura 5.19. Evolución durante el almacenamiento a 10 °C de a* en néctares control y tratados con luz UV-C.

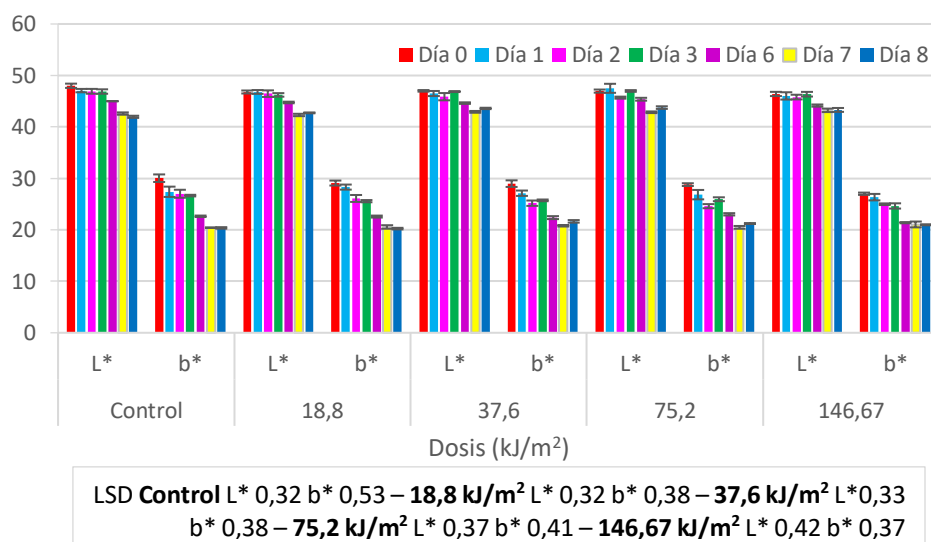


Figura 5.20. Evolución durante el almacenamiento a 4 °C de L* y b* en néctar control y tratados con luz UV-C.

Inmediatamente luego de aplicado los tratamientos, la mayor variación de color se observó en el néctar tratado a mayor dosis de luz UV-C. El néctar de mango control presentó valores de ΔE^* a las 24 horas de almacenamiento de $4,15 \pm 0,57$; $2,93 \pm 0,47$ y $2,85 \pm 0,97$ a 25, 10 y 4 °C respectivamente (figuras 5.22. y 5.23.), siendo los cambios de color a temperaturas de refrigeración significativamente menores ($p < 0,05$) que a 25 °C (datos no mostrados).

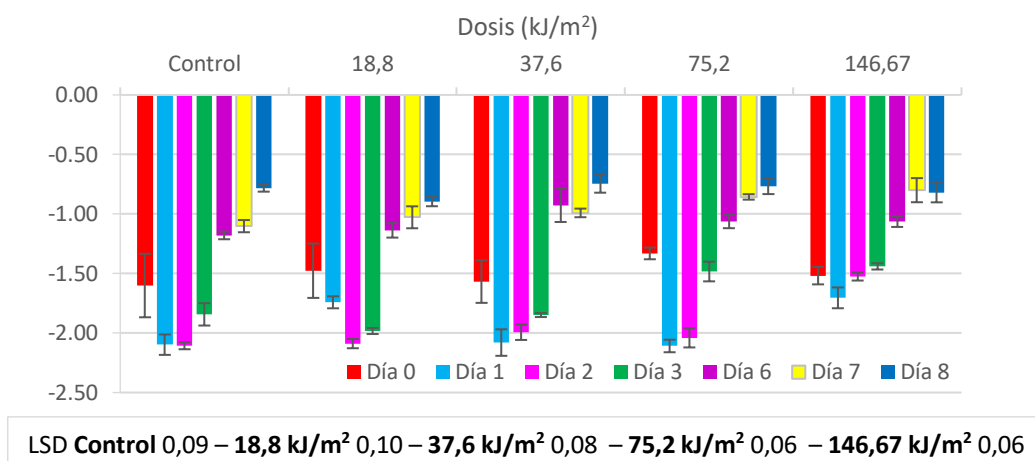


Figura 5.21. Evolución durante el almacenamiento a 4 °C de a* en néctar control y tratado con luz UV-C.

En el almacenamiento a 25 °C, el ΔE^* del control permaneció invariable a partir de las 48 horas. En el caso de los néctares tratados (figura 5.24), se observaron variaciones significativas en aquellos tratados con dosis mayores.

En el almacenamiento refrigerado, para ambas temperaturas, la tendencia de los néctares control y tratados fue similar, evidenciándose un aumento de ΔE^* en el tiempo. Los menores cambios de color fueron experimentados por el néctar tratado con dosis de 146,67 kJ/m² (figuras 5.25. y 5.26.), a diferencia de lo ocurrido a 25 °C.

El parámetro calculado hue fue inicialmente de 93° y no fue afectado por el tratamiento con luz UV-C. Durante el almacenamiento presentó un descenso hasta el día 6, a partir del cual se mantuvo constante hasta el final del almacenamiento, siendo el hue de 91°. Todos estos valores se encuentran en el rango del tono amarillo.

Las figuras 5.27., 5.28. y 5.29. muestran la evolución del chroma o saturación a las diversas temperaturas de almacenamiento. A 25 °C se distingue una disminución del valor a lo largo del tiempo, la cual es mayor a mayores dosis de radiación. Para los néctares almacenados a 10 °C se determinaron descensos del chroma del orden del 34% al final del almacenamiento, siendo significativamente diferente el néctar tratado a mayor dosis, el cual experimentó un descenso del 10% inmediatamente luego de aplicado el tratamiento y llegando al 28% al final del almacenamiento. Una evolución similar tuvieron los néctares

almacenados a 4 °C, con pérdidas de hasta un 32%. El néctar tratado a mayor dosis redujo en este caso un 22% la saturación al final del almacenamiento.

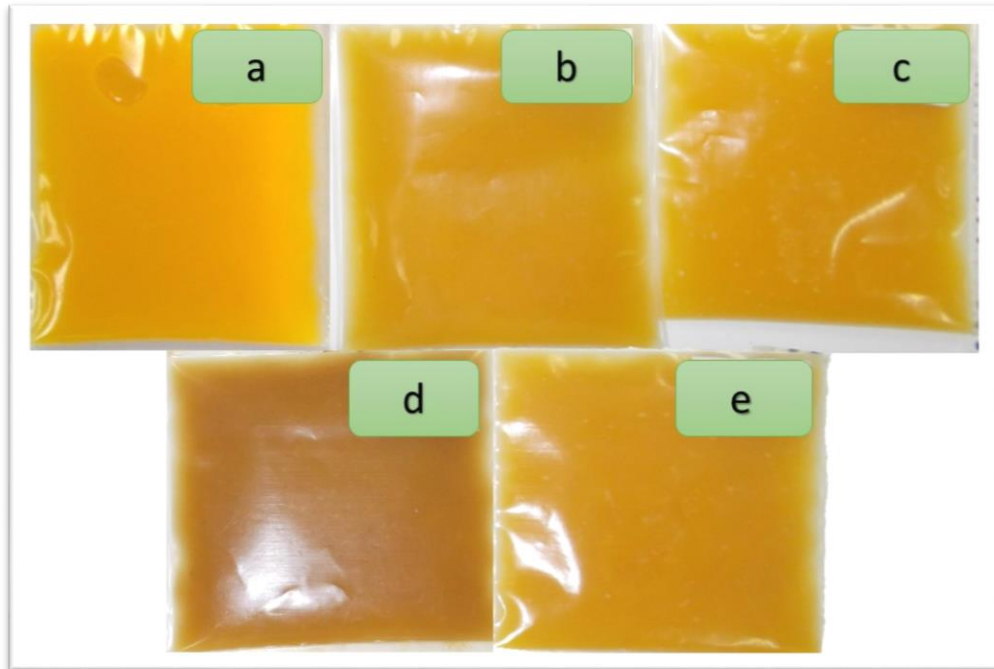
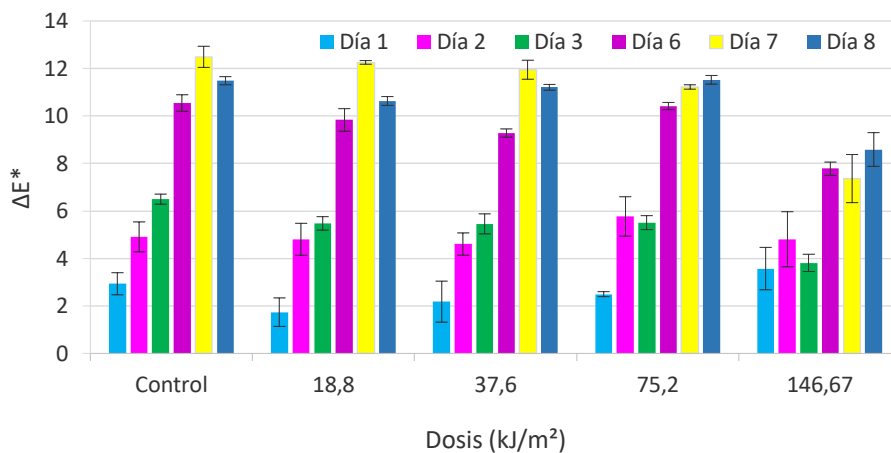
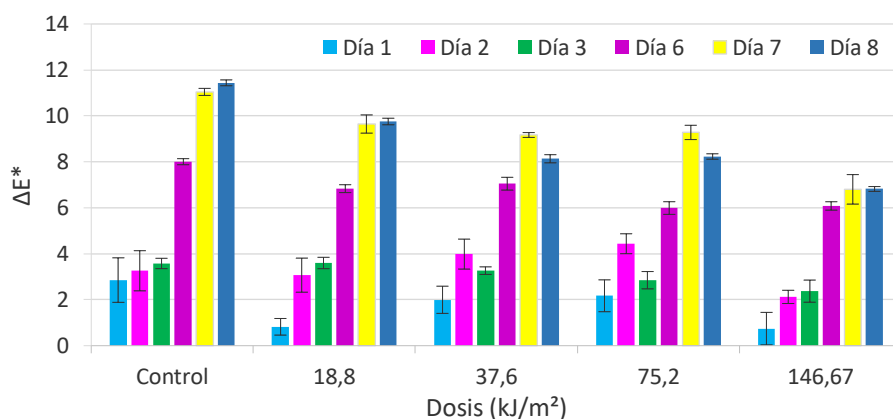


Figura 5.24. Néctar de mango control (a) y tratado con luz UV-C con dosis (kJ/m^2) de: 18,8 (b); 37,6 (c); 75,2 (d) y 146,67 (e) luego de 48 horas de almacenamiento a 25 °C.



LSD Control 0,39 – 18,8 kJ/m^2 0,41– 37,6 kJ/m^2 0,45 – 75,2 kJ/m^2 0,33 – 146,67 kJ/m^2 0,76

Figura 5.25. Evolución durante el almacenamiento a 10 °C del cambio de color (ΔE^*) en néctar de mango control y tratado con luz UV-C.



LSD Control 0,38 – 18,8 kJ/m² 0,37– 37,6 kJ/m² 0,38 – 75,2 kJ/m² 0,33 – 146,67 kJ/m² 0,46

Figura 5.26. Evolución durante el almacenamiento a 4 °C del cambio de color (ΔE^*) en néctar de mango control y tratado con luz UV-C.

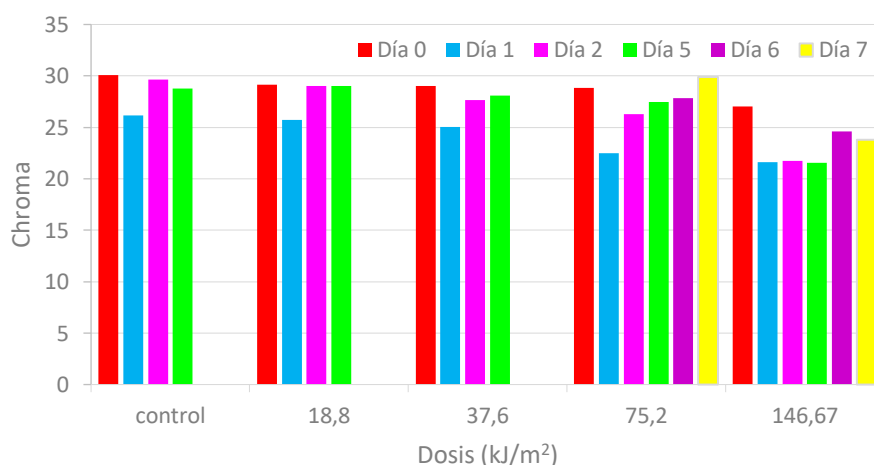


Figura 5.27. Evolución de la saturación del color en néctares almacenados a 25 °C.

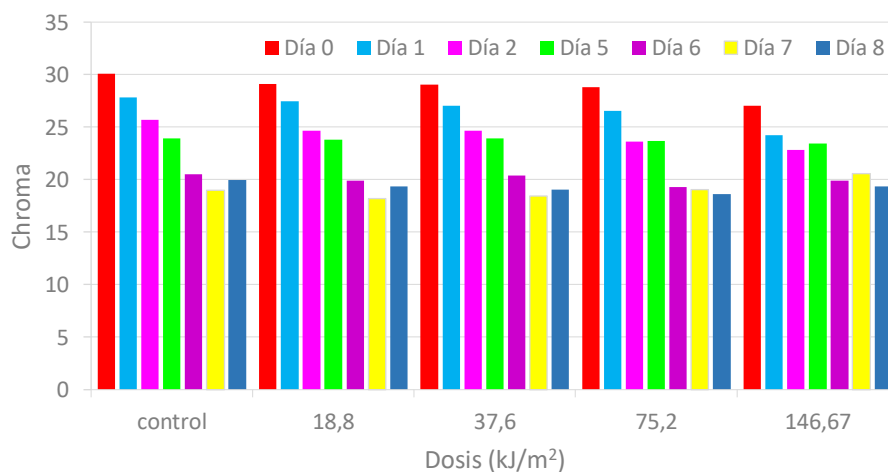


Figura 5.28. Evolución de la saturación del color en néctares almacenados a 10 °C.

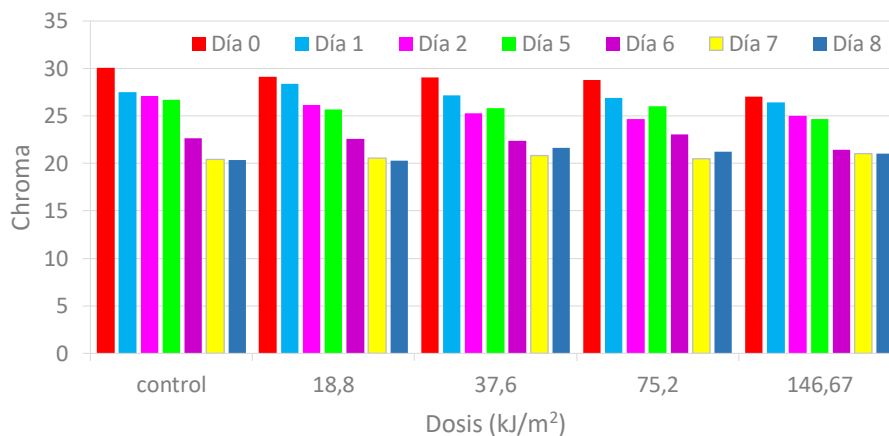


Figura 5.29. Evolución de la saturación del color en néctares almacenados a 4 °C.

Actividad de PPO y POD

En la tabla 5.3. se presenta la actividad de ambas enzimas en el néctar sin tratamiento y luego de tratados con radiación UV-C, expresadas en Δ Absorbancia/seg.g de proteína. Los tratamientos con luz UV-C aplicados al néctar de mango no lograron inactivar las enzimas, las cuáles mantuvieron una actividad residual del orden del $55,53 \pm 2,33$ en el caso de PPO y $82,14 \pm 0,76$ % para POD, al aplicar la dosis de $146,67 \text{ kJ/m}^2$.

En néctar de mango de pH=3,8 y 13 °Brix, tratado en un sistema continuo, Guerrero-Beltrán y col. (2006) encontraron una reducción de más del 80% de la actividad PPO, manteniéndose los colores amarillo o naranja-amarillento durante 26 días. Noci y col. (2008) encontraron que los tratamientos en un sistema discontinuo del jugo de manzana fresco no afectaron la actividad de PPO y POD.

Los tratamientos UV-C aplicados sobre el néctar de mango tuvieron efecto inmediato sobre los parámetros de color L^* y b^* , provocando una disminución de los mismos, no así sobre a^* y el hue. Los néctares tratados a mayores dosis desarrollaron pigmentos pardos durante el almacenamiento a 25 °C, como se observa en la figura 5.24 para dosis de $146,67 \text{ kJ/m}^2$, mientras que a temperaturas de refrigeración los cambios de color fueron de menor magnitud. Se logró una reducción parcial de la actividad de las enzimas PPO y POD, la cual fue inferior al 50%. La mayor dosis de UV ensayada para el análisis microbiológico fue capaz de reducir completamente la carga de *E. coli* ATCC 25922, por lo cual podría considerarse un

tratamiento de pasteurización según la FDA. Durante el almacenamiento se distinguió un efecto de la temperatura de almacenamiento sobre la evolución de los parámetros de color. La radiación UV-C no fue efectiva para evitar los cambios de color del puré almacenado a 25 °C, como puede apreciarse en la figura 5.2, observándose al día 3 hinchamiento de las bolsas y colores pardos. En el almacenamiento refrigerado se observaron disminuciones de L*, b* e incremento del a*. El ΔE^* evidenció efecto de dosis y temperatura de almacenamiento, siendo menor a mayor dosis aplicada y a 4 °C. La saturación del color disminuyó durante el almacenamiento, indicando una disminución en la intensidad del mismo.

Tabla 5.3. Actividad de las enzimas PPO y POD (Δ Abs/seg.g) en néctar de mango tratado con luz UV-C.

Dosis (kJ/m ²)	PPO	POD
0	0,497 ± 0,010	0,591 ± 0,037
18,80	0,311 ± 0,004	0,349 ± 0,012
37,60	0,273 ± 0,032	0,429 ± 0,046
75,20	0,301 ± 0,033	0,392 ± 0,010
146,67	0,276 ± 0,012	0,424 ± 0,031

LSD 0,0325

LSD 0,056

5.3. Conclusiones parciales

- En los ensayos de aplicación de luz UV-C al puré de mango, las mediciones instrumentales de color del puré, arrojaron importantes variaciones en el valor de ΔE^* , las cuales fueron diferencias moderadamente perceptibles (puré control a las 24 horas de almacenamiento a 4 °C) llegando hasta el grado de colores diferentes (puré control a las 24 horas de almacenamiento a 25 °C) según la escala de Limbo y col.

(2006). Los cambios no fueron organolépticamente aceptables, debido al pardeamiento desarrollado (figura 5.2.).

- Durante el almacenamiento refrigerado los parámetros L^* y el b^* disminuyeron, indicando una reducción en la luminosidad y un corrimiento hacia los tonos azules, y se detectó un incremento ligero en la tonalidad roja a^* indicando algo de colores rojizos, influyendo en la saturación del color (chroma) y no afectando significativamente el tono (amarillo-anaranjado), siendo el color un determinante de la vida útil.
- A partir de la dosis de $56,40 \text{ kJ/m}^2$ la población de *Escherichia coli* inoculada se redujo en 1,4 ciclos log, no resultando efectivo el tratamiento para asegurar la pasteurización del puré en las condiciones ensayadas.
- Los tratamientos con luz UV-C utilizados redujeron parcialmente la actividad de la PPO, resultados que fueron concordantes con los cambios de color determinados.
- En los ensayos realizados sobre néctar de mango, se determinó que los tratamientos con dosis de $56,40 \text{ kJ/m}^2$ de luz UV-C aplicados al néctar inoculado con *Escherichia coli* ATCC 25922 redujeron un 50% de la carga inicial, lográndose su eliminación con dosis de $75,20 \text{ kJ/m}^2$, por lo cual puede ser considerado como un tratamiento de pasteurización.
- Durante el almacenamiento a las diversas temperaturas la medición instrumental del color presentó valores elevados, encontrándose fuertes diferencias al final del almacenamiento tanto para el control como para los néctares tratados.
- Durante el almacenamiento refrigerado prácticamente no fueron afectados el brillo (L^*) y el b^* ; sin embargo a^* incrementó, indicando aumento de los tonos rojizos, lo cual provocó modificaciones en la saturación del color pero no afectó significativamente el tono (amarillo).
- Las enzimas PPO y POD tuvieron una mayor reducción de su actividad en el néctar tratado con UV-C que en el puré, resultando en menores cambios de color que en este último, lo cual podría deberse a la menor viscosidad o menor absortividad del néctar, que conduce a una mayor penetración de la radiación.

Capítulo 6

Aplicación de tratamientos combinados a néctar de mango

6. Aplicación de tratamientos combinados a néctar de mango

6.1. Introducción

La elaboración de alimentos inocuos, a la vez nutritivos y con características de productos frescos, en general requiere de la aplicación de una o más tecnologías de preservación a fin de lograr el objetivo propuesto.

Los tratamientos térmicos (TT) son efectivos en prolongar la vida útil de un producto, ya sea por el control de microorganismos o la inactivación de enzimas. Sin embargo estos tratamientos pueden afectar a los componentes nutritivos y bioactivos presentes y a sus características organolépticas, siendo los cambios más notorios cuanto más rigurosos son los tratamientos (Rawson y col., 2011; Gomez y col., 2011; Ndiaye y col., 2009).

Por su parte, los tratamientos con luz ultravioleta (UV-C) representan una alternativa ante los tratamientos térmicos, debido a la capacidad de controlar un amplio espectro de microorganismos patógenos y alterantes, además de tener un bajo consumo de energía comparado con otras tecnologías no térmicas (Geveke, 2005; Guerrero-Beltrán y col., 2006; Keyser y col., 2008). Oteiza y col (2010) encontraron que cepas de *E. Coli* O157:H7 individualmente inoculadas a jugos de naranja fueron más resistentes a los tratamientos con luz UV-C aplicados a menor temperatura y siguen una cinética de destrucción de primer orden. La efectividad de estos tratamientos es dependiente de varios factores, entre ellos las características de la matriz del alimento, dado el escaso poder de penetración que tiene la radiación UV-C. Asimismo, el uso de dosis inapropiadas puede producir efectos indeseados en el alimento.

Actualmente se están desarrollando numerosas investigaciones dirigidas a aplicar tratamientos combinados, que permitan reducir la rigurosidad de los tratamientos individuales y potencien sus efectos. Neves y col. (2012) combinaron tratamientos térmicos y de radiación UV-C con el objetivo de obtener zucchinis congelados de buena calidad y seguros para el consumidor. Sampedro y col. (2014) utilizaron esta combinación para caracterizar la cinética de inactivación de las enzimas LOX, POD y PPO y encontraron que es un proceso efectivo para reducir la actividad de estas enzimas en productos líquidos. Otros estudios demostraron la acción sinérgica entre ambos tratamientos para inactivar

microorganismos (Gayán y col., 2013), tal es el caso de bacterias Gram-positivas como *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* (Gayán y col., 2014; Gayán y col., 2015), Gram-negativas como *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia Coli* y *Salmonella typhimurium* (Arroyo y col., 2012; Gayán y col., 2011; Gayán y col., 2012), y levaduras alterantes (Gouma y col., 2015).

El efecto sinérgico letal de los tratamientos combinados podría ser explicado por la reducción de la capacidad de reparación del ADN celular, debido a que la luz UV-C es capaz de dañar el ADN de los microorganismos produciendo mutaciones (Koutchma y col., 2009; Tran y col., 2004) y el calor dañar las proteínas encargadas de su reparación (Friedberg y col., 2006; Bichara y col., 2011), aunque aún se desconoce el mecanismo de mejora de la acción antimicrobiana por combinación de la luz UV y los tratamientos térmicos suaves.

En base a los resultados obtenidos y a fin de minimizar la rigurosidad de los tratamientos utilizados, se decidió realizar la combinación de la exposición a dosis de radiación UV-C y tratamientos térmicos, estudiando su efecto sobre la actividad de las enzimas PPO y POD y el color en el néctar de mango recientemente preparado.

Al aplicar una combinación de tratamientos de preservación al producto, los factores a considerar son varios, ya que pueden actuar en forma individual o interaccionando entre sí, debiendo entonces utilizarse una herramienta apropiada.

Para desarrollar u optimizar procesos se utilizan herramientas estadísticas que permiten obtener la mejor combinación de factores, entre las cuales figura la metodología de superficie de respuesta (MSR), de uso frecuente en la industria. Esta metodología está conformada por técnicas matemáticas y estadísticas, es muy útil para realizar el análisis adecuado de la relación entre la variable respuesta y las variables asociadas, y permite optimizar la variable de interés (Granato y col., 2014). Esta optimización tiene como objetivo determinar los niveles de las variables independientes que llevan a obtener las mejores características de un producto sin extender excesivamente el tiempo y número de ensayos. Permite superar los obstáculos que devienen de analizar un factor a la vez, como ser la ausencia de consideración de la interacción entre factores, lo cual impide la representación completa de los efectos de los factores en el proceso. Todos los factores varían y son analizados simultáneamente con un mínimo número de ensayos.

Cuando el número de factores a ser estudiado es elevado, también lo son el tiempo requerido para el análisis y la cantidad de muestra a utilizar. En esos casos, el diseño recomendado es un diseño factorial fraccionado, cuyo objetivo es reducir el número de ensayos a realizar, siendo el diseño de Box-Behnken un caso particular del mismo. Este diseño consiste en un diseño factorial 3^{k-p} muy utilizado ya que considera más puntos experimentales que un diseño factorial fraccionado normal pero menos que un diseño factorial completo, otorgando más grados de libertad y un análisis más preciso (Granato y col., 2014).

En este capítulo se presentan los resultados de la aplicación de la MSR para optimizar las condiciones de tratamientos combinados de luz UV-C y tratamientos térmicos (UV-C+TT) a ser aplicados al néctar de mango, y la determinación del tiempo de vida útil sensorial del producto almacenado a 10 °C.

6.2. Determinación de las condiciones óptimas de tratamientos UV-C y térmico (UV-C + TT) combinados

A los fines de optimizar las condiciones de tratamiento combinado, se evaluó mediante la metodología de superficie de respuesta el efecto de tres parámetros: dosis de luz UV-C (kJ/m^2), temperatura de tratamiento térmico ($^{\circ}\text{C}$) y tiempo del tratamiento térmico (minutos) sobre la actividad de las enzimas polifenoloxidasas (PPO) y peroxidasa (POD), ambas expresadas como la relación:

$$\Delta\text{Abs muestra/seg.g} / \Delta\text{Abs control/seg.g}$$

El diseño experimental utilizado fue el de Box-Behnken, con 3 variables en 2 niveles, mediante el software Design Expert 7.0.0 modo de prueba (Stat-Ease, Inc.; MN, USA). Se estudiaron los efectos de los 3 factores en 15 corridas con 3 puntos centrales. El diseño se corrió en un solo bloque y el orden de los experimentos fue completamente aleatorizado de modo de aportar protección contra el efecto de variables ocultas.

Los niveles de las variables se seleccionaron en base a experiencias preliminares. El rango de la dosis de irradiación con luz UV-C fue de 0 a $146,67 \text{ kJ/m}^2$, temperaturas entre 55

y 80 °C y tiempo de tratamiento térmico entre 0 y 15 minutos. En las Tablas 6.1. y 6.2. se resume el rango de variables experimentales utilizadas y las variables de respuesta analizadas en este estudio.

Tabla 6.1. Niveles de variables experimentales utilizadas en el diseño.

Factores	Bajo	Alto	Unidades	Contínuo
UV-C	0	146.67	kJ/m ²	Sí
Temperatura	55	80	°Celsius	Sí
Tiempo	0	15	minutos	Sí

Tabla 6.2. Variables respuesta estudiadas.

Respuestas	Unidades
PPO	$\frac{\Delta \text{Abs muestra}}{\text{seg.g}}$ $\frac{\Delta \text{Abs control}}{\text{seg.g}}$
POD	$\frac{\Delta \text{Abs muestra}}{\text{seg.g}}$ $\frac{\Delta \text{Abs control}}{\text{seg.g}}$

En la Tabla 6.3 se indican las condiciones de tratamiento aplicadas a fin de estudiar el efecto de los factores considerados sobre la actividad de las enzimas oxidativas. El número total de experiencias fue 15.

Para llevar a cabo estas experiencias, se preparó el néctar de mango según se describió en 2.3.2.b., disponiendo el producto en bandejas de vidrio Pyrex de 19 x 19 cm, distribuido uniformemente formando un lecho de aproximadamente 3 mm de espesor. Se realizaron los tratamientos de irradiación con agitación según se detalló en 2.3.2.b., el néctar tratado se envasó en bolsas de polietileno y a continuación se los trató térmicamente según 2.3.1.a. Se determinó la actividad enzimática de los néctares tratados y sin tratamiento.

Tabla 6.3. Combinación de tratamientos aplicados.

Corrida	UV-C (kJ/m ²)	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)
1	73,34	67,5	7,5
2	73,34	67,5	7,5
3	0	67,5	15
4	0	67,5	0
5	0	55	7,5
6	73,34	55	0
7	146,67	67,5	15
8	146,67	55	7,5
9	0	80	7,5
10	73,34	80	15
11	73,34	67,5	7,5
12	73,34	80	0
13	146,67	67,5	0
14	146,67	80	7,5
15	73,34	55	15

Los datos obtenidos luego de realizar las 15 corridas se presentan en la Tabla 6.4.

Tabla 6.4. Datos de actividad de PPO y POD (Δ Abs muestra/seg.g de proteína/ Δ Abs control/seg.g de proteína) para análisis estadístico en software Design Expert.

Std	Run	Block	Factor 1 A:UV minutos	Factor 2 B:Temperatu Celcius	Factor 3 C:Tiempo minutos	Response 1 PPO dT/dC	Response 2 POD dT/dC
13	1	Block 1	15.00	67.50	7.50	0.4329	0.1301
8	2	Block 1	30.00	67.50	15.00	0.458	0.0356
2	3	Block 1	30.00	55.00	7.50	0.4392	0.3964
14	4	Block 1	15.00	67.50	7.50	0.4729	0.169
5	5	Block 1	0.00	67.50	0.00	0.988	0.987
6	6	Block 1	30.00	67.50	0.00	0.7672	0.5328
1	7	Block 1	0.00	55.00	7.50	0.5346	0.8
10	8	Block 1	15.00	80.00	0.00	0.5725	0.6081
15	9	Block 1	15.00	67.50	7.50	0.5228	0.1421
12	10	Block 1	15.00	80.00	15.00	0.3478	0.0098
11	11	Block 1	15.00	55.00	15.00	0.5712	0.395
9	12	Block 1	15.00	55.00	0.00	0.7785	0.7488
7	13	Block 1	0.00	67.50	15.00	0.524	0.1186
4	14	Block 1	30.00	80.00	7.50	0.3407	0.03
3	15	Block 1	0.00	80.00	7.50	0.2782	0.09

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el software estadístico Design Expert, para obtener el modelado y generar las superficies de respuesta. La pertinencia de los modelos fue evaluada por medio del análisis de los valores de probabilidad (p-valor), la falta de ajuste, el R^2 y el R^2 ajustado. El nivel de significancia utilizado fue $p < 0,05$. Las ecuaciones finales en términos codificados fueron las siguientes:

$$\text{PPO} = 0,48 - 0,040 \times A - 0,098 \times B - 0,15 \times C + 0,039 \times A \times B + 0,039 \times A \times C - 4,337 \times 10^{-3} \times B \times C + 0,019 \times A^2 - 0,097 \times B^2 + 0,19 \times C^2$$

$$\text{Log}_{10} \text{POD} = -0,73 - 0,20 \times A - 0,47 \times B - 0,52 \times C - 0,043 \times A \times B - 0,064 \times A \times C - 0,38 \times B \times C$$

Siendo A= Dosis de radiación UV-C; B= Temperatura de tratamiento térmico; C= Tiempo de tratamiento térmico.

Para el caso de la PPO, el modelo significativo resultó ser el cuadrático; y para POD el logarítmico, ya que luego de la evaluación general del modelo propuesto para POD la transformación logarítmica de los datos permitió un mejor ajuste del sistema. Además la falta de ajuste resultó no significativa para ambos, indicando que los modelos eran adecuados para predecir las respuestas. Por otra parte se evaluaron los gráficos de los residuos de modo de confirmar que se cumplían los supuestos de los modelos. Estos supuestos son una serie de condiciones necesarias para garantizar que los modelos propuestos son válidos.

En las Tablas 6.5. y 6.6. se presentan los resultados del análisis de la varianza de los parámetros de regresión de los modelos matemáticos sugeridos. Se puede observar que la temperatura y el tiempo de tratamiento fueron los términos lineales y cuadráticos significativos ($p < 0.05$) del modelo para PPO. Para el modelo logarítmico de POD fueron significativos la temperatura, el tiempo de tratamiento térmico, el tratamiento UV y la interacción temperatura-tiempo.

Las ecuaciones en términos reales obtenidas luego de considerar en la ecuación los términos significativos, incluyendo los términos que permiten que el modelo sea jerárquico, resultaron:

$$\begin{aligned} \text{PPO} = & -1,20830 - 0,022036 \times \text{UV} + 0,073524 \times \text{Temperatura} - 0,072444 \times \text{Tiempo} \\ & + 2,10436 \times 10^{-4} \times \text{UV} \times \text{Temperatura} + 3,44013 \times 10^{-4} \times \text{UV} \times \text{Tiempo} \\ & - 4,62562 \times 10^{-5} \times \text{Temperatura} \times \text{Tiempo} + 8,6221 \times 10^{-5} \times \text{UV}^2 \\ & - 6,23524 \times 10^{-4} \times \text{Temperatura}^2 + 3,35477 \times 10^{-3} \times \text{Tiempo}^2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Log}_{10} \text{POD} = & 0,18563 + 6,64031 \times 10^{-3} \times \text{UV} - 3,91247 \times 10^{-3} \times \text{Temperatura} + 0,21177 \times \\ & \text{Tiempo} - 2,29553 \times 10^{-4} \times \text{UV} \times \text{Temperatura} - 5,66702 \times 10^{-2} \times \text{UV} \times \text{Tiempo} \\ & - 4,03994 \times 10^{-3} \times \text{Temperatura} \times \text{Tiempo} \end{aligned}$$

A continuación se presentan las gráficas de contorno de las superficies de respuesta obtenidas para la actividad de la PPO y POD en función de las dosis de UV-C, temperatura y tiempos de tratamiento (figuras 6.1 y 6.2.).

Tabla 6.5. Análisis de la varianza del modelo propuesto para la Polifenoloxidasa (PPO).

Respuesta PPO				
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	p-valor	
Modelo	0,46	9	0,0119	Significativo
A-UV	0,013	1	0,1870	
B-Temperatura	0,077	1	0,0133	
C-Tiempo	0,18	1	0,0022	
AB	$6,227 \times 10^{-3}$	1	0,3349	
AC	$5,991 \times 10^{-3}$	1	0,3433	
BC	$7,522 \times 10^{-5}$	1	0,9112	
A ²	$1,390 \times 10^{-3}$	1	0,6357	
B ²	0,035	1	0,0525	
C ²	0,13	1	0,0045	
Residuos	0,027	5		
Falta de Ajuste	0,023	3	0,2142	no significativo
Error Puro	$4,062 \times 10^{-3}$	2		
Total	0,49	14		
R ²	0,9441			
R ² aj	0,8435			
Adeq. precisión	10,165			

El valor óptimo de las condiciones del tratamiento combinado (luz UV-C, temperatura y tiempo de tratamiento térmico) capaz de minimizar la actividad de las enzimas se obtuvo utilizando el método estadístico denominado deseabilidad. En 1980 Derringer y col. desarrollaron la función “Desirability” o deseabilidad, encontrando la solución para la optimización de múltiples respuestas. La base de esta función es la idea que cualquier producto o proceso que involucre muchos aspectos es inadmisibles si cualquiera de ellos se encuentra por fuera del límite de deseabilidad (Vera Candiotti y col., 2014). La idea básica de la función deseabilidad es transformar un problema de respuesta múltiple en otro con una única respuesta por medio de transformaciones matemáticas (Del Castillo y col., 1996). La función deseabilidad permite encontrar las condiciones experimentales que

Tabla 6.6. Análisis de la varianza del modelo propuesto para la Peroxidasa (POD).

Respuesta POD				
Fuente de variación	Suma de cuadrados	GL	p-valor	
Modelo	4,85	6	< 0,0001	Significativo
A-UV	0,31	1	0,0007	
B-Temperatura	1,77	1	< 0,0001	
C-Tiempo	2,17	1	< 0,0001	
AB	$7,410 \times 10^{-3}$	1	0,4341	
AC	0,016	1	0,2573	
BC	0,57	1	< 0,0001	
Residuos	0,087	8		
Falta de Ajuste	0,081	6	0,2117	no significativo
Error Puro	$6,667 \times 10^{-3}$	2		
Total	4,94	14		
R ²	0,9823			
R ² aj	0,9690			
Adeq. precisión	28,335			

simultáneamente permitan dar con el nivel óptimo de las variables analizadas (Vera Candiotti y col., 2014). Así, este método primero transforma cada variable respuesta Y_i en una función deseabilidad individual d_i , la cual toma valores entre 0 (baja deseabilidad) y 1 (alta deseabilidad) y se relacionan mediante la ecuación:

$$d_i = \frac{Y_i - Y_{\min}}{Y_{\max} - Y_{\min}}$$

siendo Y_{\min} e Y_{\max} los valores mínimos y máximos de la respuesta. Luego, las deseabilidades individuales se relacionan en una ecuación, dando origen a la deseabilidad total D:

$$D = (d_1^{l_1}; d_2^{l_2}; \dots; d_k^{l_k})^{1/k}$$

siendo k: número de respuesta considerada; l_k : coeficiente de impacto de cada respuesta.

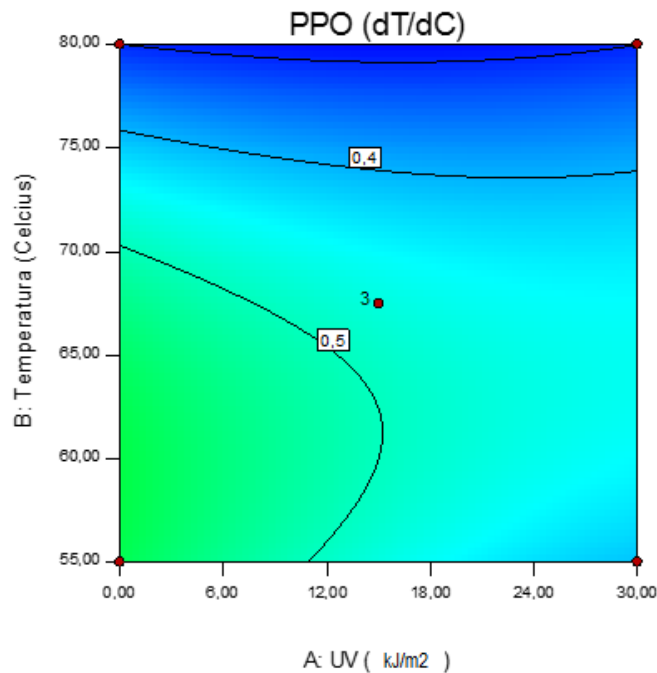


Figura 6.1. Gráfica de contorno de la superficie de respuesta para la actividad de la enzima PPO.

El procedimiento de optimización fue llevado a cabo de modo de obtener la mínima actividad de ambas enzimas, PPO y POD, resultando en un valor de deseabilidad de 0,860 (figura 6.3), correspondiendo a la siguiente combinación de condiciones de tratamiento:

Dosis de luz UV-C de 73,36 kJ/m²

Temperatura y tiempo de tratamiento térmico: 75 °C, 10 minutos

6.3. Ensayos de almacenamiento

Una vez determinadas las condiciones óptimas del tratamiento combinado a aplicar al néctar de mango (dosis UV-C = 73,36 kJ/m² y TT = 75 °C durante 10 minutos), se realizó el almacenamiento de un lote de 25 bolsas de polietileno de las muestras tratadas según las condiciones óptimas establecidas por modelado durante 50 días a 10 °C. Simultáneamente se almacenó un lote de 15 bolsas de muestras sin tratamiento (control), envasadas en condiciones similares, durante 14 días.

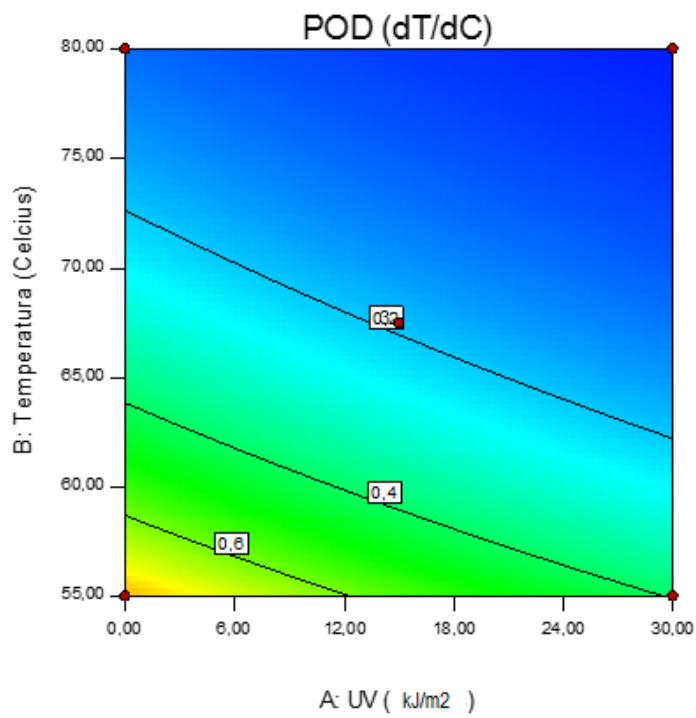


Figura 6.2. Gráfica de contorno de la superficie de respuesta para la actividad de la enzima POD.

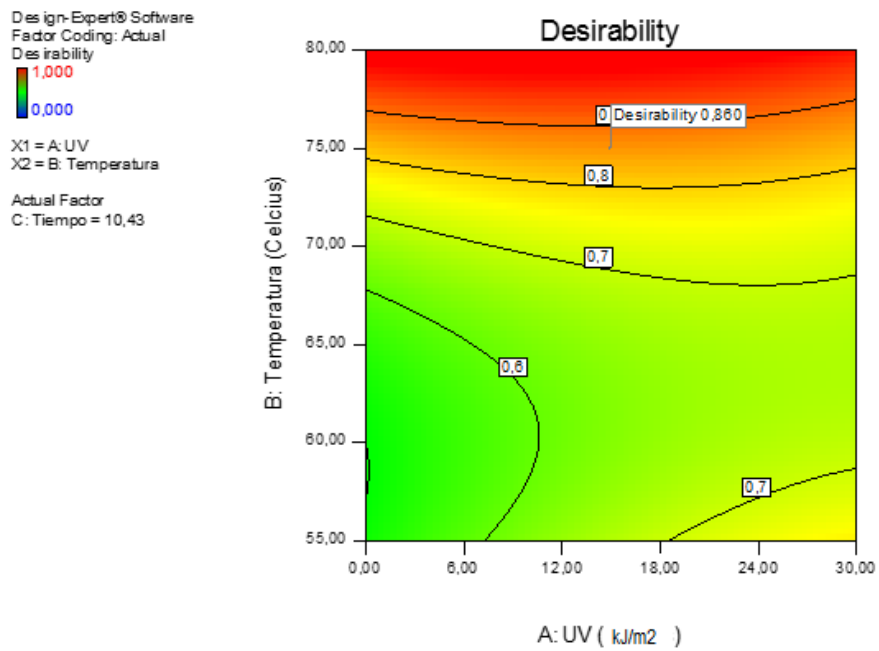


Figura 6.3. Gráfica de contorno de superficie de respuesta aplicando la función deseabilidad.

A tiempos prefijados se retiraron 5 bolsas de cada condición de tratamiento para su análisis, determinándose el color superficial, la actividad de las enzimas PPO y POD, el recuento de microorganismos aerobios mesófilos y mohos y levaduras, y se efectuó el análisis sensorial de los productos.

6.3.1. Color

Las mediciones instrumentales de color indicaron para el néctar de mango control valores iniciales de L^* de $50,50 \pm 0,09$ y no se observaron cambios significativos de este parámetro durante los 14 días de almacenamiento (figura 6.5.). Los néctares tratados, mostraron una reducción de la luminosidad inmediatamente luego de aplicado el tratamiento, para luego mantenerse sin cambios significativos durante los 50 días de almacenamiento ($p < 0,05$).

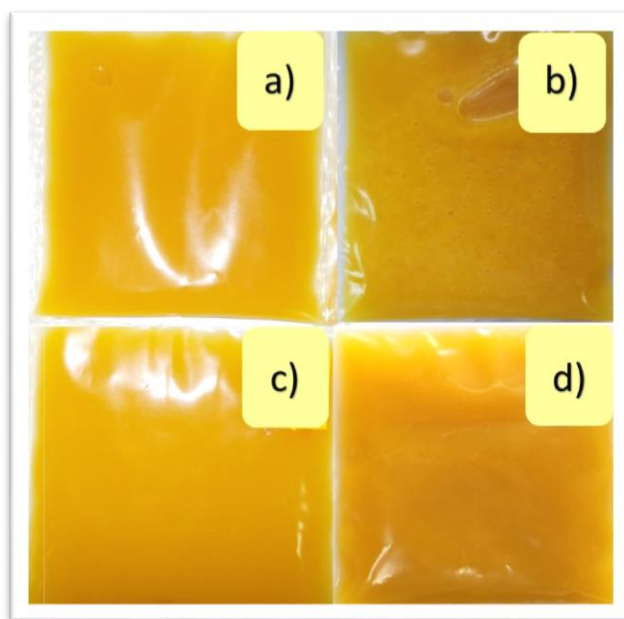


Figura 6.4. a) y b) Néctar de mango sin tratamiento (control) tiempo inicial y final; c) y d) Néctar de mango con tratamiento combinado UV-C+TT tiempo inicial y final.

Por su parte el parámetro b^* en el néctar control tuvo valores iniciales de $31,46 \pm 0,06$, los cuales descendieron a $27,51 \pm 0,24$ a los 14 días de almacenamiento (figuras 6.4. y 6.5.),

indicando una disminución del tono amarillo. En la misma figura 6.5. se puede observar que inicialmente los tratamientos provocaron una disminución del valor de b^* a $25,52 \pm 0,36$ y que dicho parámetro tuvo una pérdida gradual del valor llegando a $21,97 \pm 0,17$ al finalizar el almacenamiento.

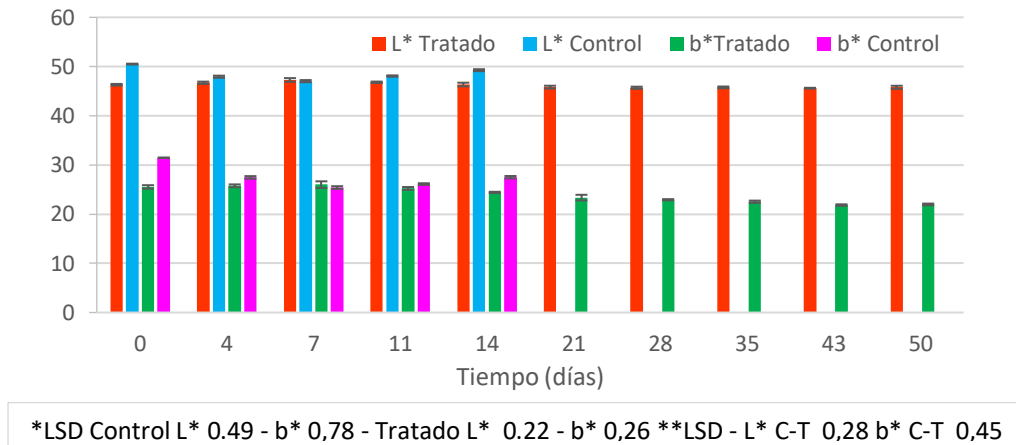


Figura 6.5. Evolución de los parámetros L^* y b^* en néctar de mango tratado y sin tratamiento, durante el almacenamiento refrigerado a $10\text{ }^{\circ}\text{C}$.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

Los valores negativos obtenidos para el parámetro a^* indican el aporte del color verde al color total, y en este caso, el néctar control tuvo valores de $-0,61 \pm 0,02$, mientras en el néctar tratado el valor fue de $-2,03 \pm 0,05$ (figura 6.6.). Durante el almacenamiento refrigerado, en el néctar control los valores de a^* no mostraron una tendencia definida, en tanto que los tratados tuvieron una disminución significativa ($p < 0,05$) desplazándose ligeramente hacia los colores rojos.

La variación de color ΔE observada en el néctar de mango control fue significativamente superior ($p < 0,05$) que la mostrada por el néctar tratado, tal como puede apreciarse en las figura 6.4. y 6.7. Teniendo en cuenta la escala de Limbo y col. (2006) el néctar control presenta desde el inicio del almacenamiento “diferencias perceptibles” de color y continúa con “fuertes diferencias” hasta el día 14.

En las muestras tratadas en forma combinada, según se muestra en la figura 6.7., al inicio del almacenamiento se encontraron “pequeñas diferencias” de color, las cuales se volvieron en “diferencias moderadamente perceptibles” al día 28. Posteriormente y hasta el

final del almacenamiento no superaron un ΔE^* de 4, siendo consideradas por la escala mencionada como “diferencias perceptibles”.

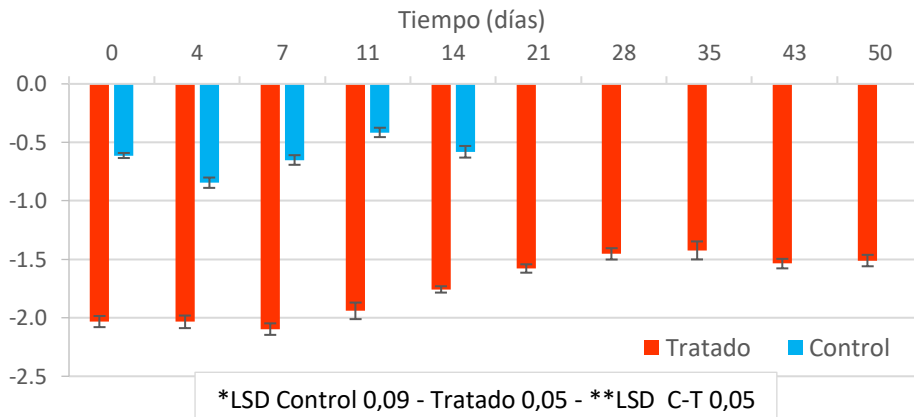


Figura 6.6. Evolución del parámetro a^* en néctar de mango tratado y sin tratamiento, durante el almacenamiento refrigerado a 10 °C.

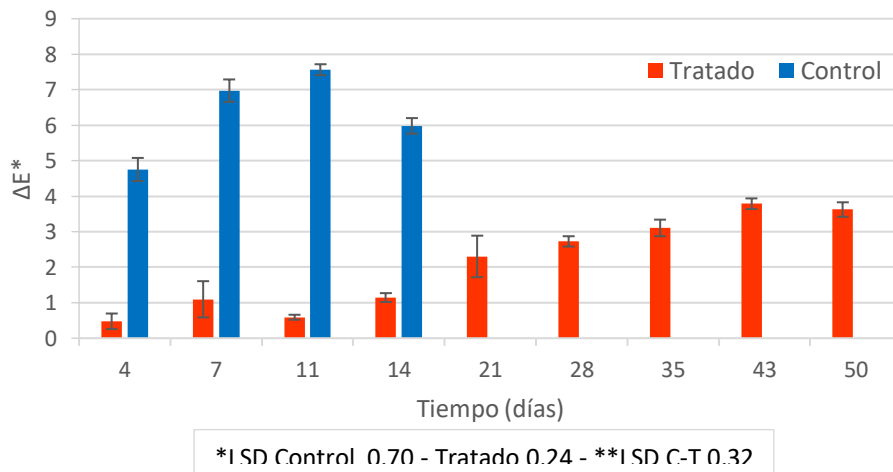


Figura 6.7. Evolución de la variación de color en néctar de mango tratado y sin tratamiento, durante el almacenamiento refrigerado a 10 °C.

*LSD: comparación de medias intra-tratamiento.

**LSD: comparación de medias entre tratamientos.

6.3.2. Actividad enzimática

Las enzimas oxidativas presentes en el néctar de mango mostraron una actividad inicial de $0,623 \pm 0,050$ y $0,958 \pm 0,018 \Delta\text{Abs}/\text{seg}\cdot\text{g}$ para la PPO y POD respectivamente. Luego de los tratamientos combinados (UV-C + TT), se encontró una reducción muy importante en la actividad de PPO, del orden del 83%, mientras que la actividad de la enzima POD fue totalmente inhibida.

Durante el almacenamiento refrigerado de los néctares control (Tabla 6.7.) se encontró que la actividad de la PPO y POD tuvieron disminuciones del orden del 57 y 26% respectivamente. En el néctar tratado, la actividad residual de la PPO se mantuvo constante no siendo significativamente diferente durante los 50 días de almacenamiento, tal como puede observarse en la Tabla 6.8. Por su parte la enzima POD, que inicialmente fue inhibida por los tratamientos combinados, no recuperó su actividad durante el almacenamiento.

6.3.3. Análisis microbiológico

Si bien el interior de los frutos sanos es estéril, durante las diferentes etapas del proceso de elaboración del néctar de mango pueden ocurrir contaminaciones y en el caso del producto bajo estudio, la carga inicial del néctar sin tratamiento fue de 1,75 log UFC/g de néctar de aeróbios mesófilos totales y 1,61 log UFC/g de néctar de mohos y levaduras. Luego de aplicado el tratamiento combinado (UV-C + TT), no se detectó desarrollo de unidades formadoras de colonias para ambos grupos de microorganismos considerados. Durante el almacenamiento a 10 °C, la carga inicial del néctar control experimentó un aumento, alcanzando recuentos superiores a 6 log UFC/g de néctar en el caso de los aeróbios mesófilos y 3,35 log UFC/g de néctar para mohos y levaduras (Tabla 6.9.). Sin embargo, los néctares tratados, almacenados en iguales condiciones que los néctares control, no tuvieron desarrollo de microorganismos durante los 50 días de almacenamiento. Por otra parte, según se vio en el capítulo 5, la aplicación de dosis de luz UV-C de 75,20 kJ/m² fue efectiva en disminuir más de 5 ciclos log de UFC de *E. coli* ATCC 25922, con lo que estos tratamientos combinados asegurarían la pasteurización del producto.

6.3.4. Análisis sensorial

El panel entrenado efectuó el análisis sensorial del producto según se describió anteriormente, considerando los atributos color, aroma, brillo y consistencia de los néctares tratados y control, almacenados a 10 °C.

Tabla 6.7. Actividad de las enzimas PPO y POD (Δ abs/seg.g) en néctar de mango control almacenado a 10 °C.

Día	PPO	POD
0	0,623 ± 0,050	0,958 ± 0,018
7	0,359 ± 0,018	0,858 ± 0,022
11	0,265 ± 0,015	0,716 ± 0,005
LSD	0.05	0.03

Tabla 6.8. Actividad de la PPO (Δ abs/seg.g) en néctar de mango tratado almacenado a 10 °C

Día	PPO
0	0,114 ± 0,010
7	0,129 ± 0,005
14	0,129 ± 0,018
21	0,142 ± 0,012
28	0,121 ± 0,007
35	0,143 ± 0,006
43	0,146 ± 0,005
50	0,138 ± 0,019
LSD	0,02

Tabla 6.9. Evolución del recuento de aerobios mesófilos totales y mohos y levaduras en néctar de mango control durante el almacenamiento a 10 °C.

Control		
Día	Aerobios mesófilos totales log UFC/g néctar	Mohos y levaduras log UFC/g néctar
0	1,75	1,61
7	4,16	3,97
14	> 7	3,35

El néctar de mango control inicialmente obtuvo puntajes cercanos al máximo (5) para la mayoría de los atributos evaluados (figura 6.8). Una vez aplicado el tratamiento (UV-C + TT), los evaluadores asignaron puntajes de $4,88 \pm 0,35$ para el color; $4,38 \pm 0,74$ para el aroma; $4,75 \pm 0,46$ para el brillo y $4,63 \pm 0,52$ para la consistencia, siendo en todos los casos superiores al límite de aceptabilidad establecido (≥ 3) (figura 6.9).

Al día 7 de almacenamiento, el color y el aroma del néctar control obtuvieron valores cercanos al límite de aceptabilidad (figura 6.8.) y los evaluadores lo rechazaron por su aroma al día 14, presentando un puntaje de $1,33 \pm 0,58$.

Sin embargo, las muestras tratadas fueron valoradas por encima del límite de aceptabilidad durante los 50 días de almacenamiento, a excepción del atributo color que recibió un puntaje de $2,83 \pm 0,59$ (figura 6.9.). En este caso, el color fue el atributo determinante de la vida útil sensorial, a diferencia de lo observado en el néctar no tratado. Teniendo en cuenta la evaluación sensorial del néctar, se encontró que los integrantes del panel calificaron en el límite de aceptabilidad del color a las muestras tratadas que presentaron un $\Delta E^* > 3$, habiéndose definido la vida útil sensorial del producto por medio de este atributo. Debe ser mencionado que, si bien los evaluadores percibieron diferencias de color en el néctar tratado, las mismas no estuvieron relacionadas con su pardeamiento, sino con la modificación del color característico del mismo.

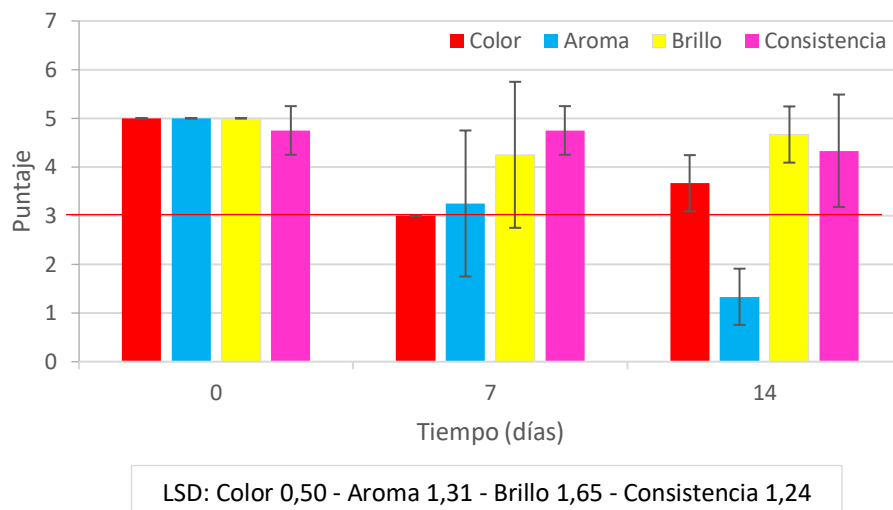


Figura 6.8. Evolución de los atributos sensoriales del néctar de mango sin tratamiento durante el almacenamiento refrigerado a 10 °C.

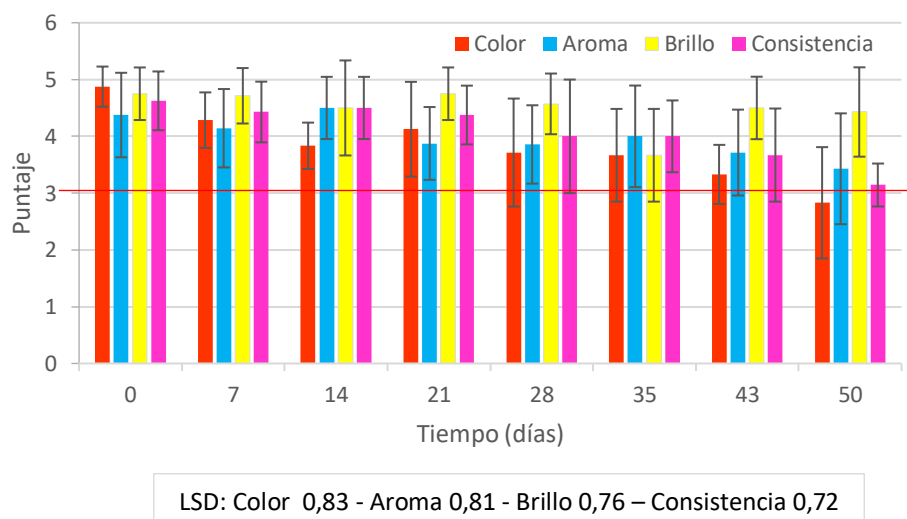


Figura 6.9. Evolución de los atributos sensoriales del néctar de mango tratado (UV-C+TT) durante el almacenamiento refrigerado a 10 °C.

Durante el almacenamiento de los néctares no tratados (controles), las enzimas oxidativas retuvieron su actividad y se observaron cambios de color fuertemente perceptibles.

6.4. Conclusiones parciales

- A los 7 días de almacenamiento a 10 °C del néctar de mango control los atributos color y aroma recibieron puntajes en el límite de aceptabilidad fijado y a los 14 días fue rechazado debido al atributo aroma, lo cual determinó su vida útil.
- Las mediciones instrumentales de color del néctar control arrojaron importantes variaciones en el valor de ΔE^* , superiores a 7, coincidentemente con las observaciones sensoriales y la actividad de las enzimas PPO y POD.
- Los recuentos microbianos del néctar control superaron los 7 log UFC/g néctar en aerobios mesófilos y 3,35 log UFC/g néctar para mohos y levaduras a los 14 días de almacenamiento.
- Aplicando un diseño de Box-Behnken y utilizando la metodología de superficie de respuesta, se determinaron las mejores condiciones de proceso para el néctar de mango, las cuales fueron: Dosis de luz UV-C de 73,36 kJ/m² y tratamiento térmico de 75 °C durante 10 minutos.
- El néctar tratado con luz UV-C y tratamiento térmico mantuvo características organolépticas aceptables durante 50 días de almacenamiento a 10 °C.
- Al aplicar los tratamientos combinados se determinaron instrumentalmente cambios en ΔE^* respecto del néctar control recientemente preparado. Sin embargo, durante el almacenamiento el ΔE^* fue inferior a 4.
- La actividad residual de PPO luego de aplicado el tratamiento UV-C+TT se mantuvo por debajo del 22%, mientras la POD fue inactivada y no presentó actividad durante los 50 días de almacenamiento.
- El tratamiento combinado fue efectivo para controlar el desarrollo microbiano. Luego de 50 días de almacenamiento no desarrollaron microorganismos aerobios mesófilos ni mohos y levaduras.

Capítulo 7

Conclusiones

7. Conclusiones

El fruto del árbol de mango silvestre que crece en la Provincia de Corrientes, conocido como mango “criollo”, presenta un alto contenido de azúcares totales, que promedia los $11,951 \pm 1,319$ g glucosa/100 g tejido, comparable a otras variedades estudiadas por diversos autores. Tiene un alto contenido de fibra y compuestos bioactivos, como los fenoles, los cuales se encuentran en el orden de los $1117,455 \pm 18,512$ μ g β -caroteno/g tejido, elevada acidez, además de tener una buena capacidad antioxidante, la cual promedia $0,984 \pm 0,032$ mg ácido clorogénico/g tejido. Todas estas características superan a las del mango denominado “brasileño”.

Los derivados de mango estudiados, puré y néctar, fueron sometidos a tratamientos térmicos, de irradiación con luz UV-C y a una combinación de ambos. Las experiencias de almacenamiento con estos productos se efectuaron a dos temperaturas: 10 y 4 °C.

Las variaciones de color total y las observaciones organolépticas fueron los parámetros considerados para seleccionar las condiciones de los tratamientos térmicos (temperatura-tiempo) a aplicar al puré de mango y para determinar su tiempo de vida útil.

Los purés tratados térmicamente a 90 °C durante 1 y 15 minutos, envasados en bolsas de polietileno y en frascos de vidrio con tapa a rosca tuvieron menores cambios de color luego de aplicados los tratamientos respecto al puré sin tratamiento (control). Los parámetros de color analizados L^* , a^* y b^* en los purés envasados en bolsas de polietileno, tratados térmicamente y almacenados a las dos temperaturas, presentaron una evolución similar entre sí, presentando una disminución luego de aplicado el tratamiento y durante el almacenamiento. Sin embargo, en los purés envasados en frascos de vidrio el parámetro a^* fue el más afectado tras la aplicación del tratamiento, mientras durante el almacenamiento la disminución más marcada fue de L^* y b^* . El parámetro L^* puede utilizarse como indicador del oscurecimiento del puré de mango criollo, mientras que b^* indicaría cambios en el color amarillo. El ΔE^* tuvo una tendencia a incrementar durante el almacenamiento a ambas temperaturas, siendo más reducido el cambio observado a 4 °C, y menor que el experimentado por los purés control.

La temperatura de almacenamiento influyó sobre los atributos sensoriales evaluados. A 10 °C los purés de mango tratados térmicamente tuvieron una vida útil de 20 días, la cual fue determinada principalmente por el aroma. Sin embargo, a 4 °C los purés fueron aceptados por el panel de evaluadores durante los 60 días de almacenamiento, para ambos tipos de envases. Por su parte, los purés sin tratamiento no superaron los 4 días de almacenamiento a ambas temperaturas de almacenamiento.

El tratamiento térmico no tuvo influencia en la acidez y el pH y el contenido de azúcares totales y reductores de los purés, pero sí produjo una disminución en el contenido de pigmentos carotenoides y de β -caroteno, fenoles totales, ácido ascórbico y la actividad antioxidante. Sin embargo, en los purés sin tratamiento estas disminuciones fueron de mayor magnitud y/o en menor tiempo.

Las enzimas oxidativas peroxidasa y polifenoloxidasas fueron inhibidas tras la aplicación del tratamiento a 90 °C, tanto a 1 como a 15 minutos, y se mantuvieron inactivas durante los 60 días de almacenamiento a 10 y 4 °C en ambos tipos de envases.

Los tratamientos térmicos aplicados aseguraron la calidad microbiológica del puré, evitando el desarrollo de aerobios mesófilos totales y de mohos y levaduras durante el período de almacenamiento.

Los tratamientos térmicos aplicados al puré de mango fueron eficaces para prolongar su vida útil durante el almacenamiento refrigerado.

Por otra parte, en los purés tratados con luz UV-C, el valor de ΔE^* presentó importantes variaciones. Durante el almacenamiento refrigerado la luminosidad L^* y el parámetro b^* disminuyeron, mientras que a^* experimentó un ligero aumento, indicando una tendencia hacia la tonalidad roja, lo cual influyó en la saturación del color (chroma) sin afectar de modo significativo el tono (amarillo-anaranjado). La luz UV-C, en las condiciones ensayadas, redujo parcialmente la actividad de la PPO, lo cual sería concordante con los cambios de color determinados. Además no fue efectiva en el control microbiano de la *E. coli* ATCC 25922.

En el néctar de mango tratado con luz UV-C, durante el almacenamiento refrigerado, prácticamente no fueron afectados los parámetros de color L^* y b^* , pero fue determinado un incremento de a^* , modificando la saturación del color y no afectando significativamente el tono (amarillo). Los cambios de color observados fueron menores en comparación con el puré. Esto podría deberse a la menor actividad presentada por las enzimas PPO y POD luego

de aplicado el tratamiento UV, probablemente determinado por la menor viscosidad del néctar. Se observó una tendencia al blanqueamiento del néctar, mientras que el puré lo hizo hacia el oscurecimiento, por lo que los tratamientos UV-C aplicados no fueron eficientes en evitar los cambios de color. Las dosis de UV-C superiores a 75 kJ/m² fueron efectivas para el control de la *E. coli* ATCC 25922, microorganismo subrogante de la *E. coli* patógena.

Las condiciones óptimas de procesamiento combinado UV-C + TT del néctar fueron obtenidas por medio de un diseño de Box-Behnken, utilizando la metodología de superficie de respuesta resultaron: Dosis de luz UV-C de 73,36 kJ/m² y tratamiento térmico a 75 °C durante 10 minutos.

El tratamiento combinado UV-C+TT, determinado por metodología de superficie de respuesta y aplicado al néctar, dio como resultado un producto con características organolépticas aceptables durante 50 días de almacenamiento a 10 °C, determinando su vida útil el atributo color. Se determinaron cambios de color respecto del néctar recientemente preparado, aunque durante el almacenamiento el ΔE^* fue inferior a 4.

La actividad residual de PPO se mantuvo por debajo del 22%, mientras la POD fue inactivada y no se detectó reactivación durante los 50 días de almacenamiento.

Por otra parte, el tratamiento combinado fue efectivo para controlar el desarrollo microbiano, no detectándose hasta el final del almacenamiento desarrollo de microorganismos aerobios mesófilos ni mohos y levaduras.

La aplicación del tratamiento combinado UV-C+TT, utilizando una temperatura inferior a 90 °C, representa una alternativa promisoría para el néctar de mango, capaz de retener su calidad organoléptica y microbiológica.

Capítulo 8

Bibliografía

8. Bibliografía

- Abadias, M.; Usall, J.; Anguera, M.; Solsona, C.; Viñas, I. (2008). Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *International Journal of Food Microbiology*. 123, 121–129.
- Ahmed, J.; Shivhare, U.S.; Singh, G. (2000). Chlorophyll and colour of green chilli puree as affected by mesh size and temperature. *International Journal of Food Properties*. 3, 305-315.
- Ahmed, J.; Shivhare, U. S.; Kaur, M. (2002). Thermal colour degradation kinetics of mango puree. *International journal of food properties*. 5(2), 359–366.
- Allende, A.; Tomás-Barberán, F.A.; Gil, M.I. (2006). Minimal Processing for Healthy Traditional Foods. *Trends in Food Science & Technology*. 17, 513–519.
- Amin, r. (2015). Studies on physico-chemical and microbiological qualities of some selected brand of mango fruit juice of Bangladesh. BRAC University, Dhaka, Bangladesh.
- Anese, M.; Falcone, P.; Fogliano, V.; Nicoli, M.C. Massini, R. (2002). Effect of equivalent thermal treatments on the color and the antioxidant activity of tomato purees. *Journal of Food Science*. 67 (9), 3442-3446.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th edition.
- Arogba, S. S.; Ajiboye, O. L.; Ugboko, L. A.; Essienette, S. Y.; Afolabi, P. O. (1998). Properties of polyphenol oxidase in mango (*Mangifera indica*) kernel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 77, 459-462.
- Arogba, S. S. (2000). Mango (*Mangifera indica*) Kernel: Chromatographic analysis of the tannin, and stability study of the associated polyphenol oxidase activity. *Journal of Food Composition and Analysis*. 13, 149-156.
- Askar, A.; Treptow, H. (2001). Verarbeitung von tropischen Früchten. In U. Schobinger (Ed.). *Handbuch der Lebensmitteltechnologie – Frucht- und Gemüsesäfte* (234–275). Stuttgart: Ulmer. Citado en: Vazquez-Caicedo, A.L.; Schilling, S.; Carle, R.; Neidhart, S. (2007) Effects of thermal processing and fruit matrix on β -carotene stability and enzyme inactivation during transformation of mangoes into purée and nectar. *Food*

Chemistry. 102. 1172-1186.

- Baron, A.; Denes, J.-M.; Durier, C. (2006). High-pressure treatment of cloudy apple juice. *LWT - Food Science and Technology*. 39, 1005-1013. Leído en: Ndiaye, C.; Xu, S.; Wang, Z. 2009. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry*. 113, 92–95.
- Benhura, C.; Rukuni, T.; Kadema, C.; Mubvakure, B.; Nazare, R.; Gombiro, P.E.; Tokwe, B.; Matangi, E.; Madzima, A. (2012). Preservation of mango pulp of fruit from Rusitu Valley, Chimanimani in Zimbabwe. *Pakistan Journal of Food Sciences*. 22 (4), 191-196.
- Bhat, R.; Ameran, S.B.; Voon, H.C.; Karim, A.A.; Tze, L.M. (2011). Quality attributes of starfruit (*Averrhoa carambola* L.) juice treated with ultraviolet radiation. *Food Chemistry*. 127 (2), 641–644.
- Bichara, M.; Meier, M.; Wagner, J.; Cordonnier, A.; Lambert, I.B. (2011). Post replication repair mechanisms in the presence of DNA adducts in *Escherichia coli*. *Mutation Research*. 727 (3), 104-122.
- Boynton, B.B.; Sims, C.A.; Sargent, S.; Balaban, M.O.; Marshall, M.R. (2002). Sensory and nutritive qualities of food quality and stability of pre-cut mangos and carambolas subjected to high-pressure processing. *Journal of Food Science*. 67 (1), 409-415.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28, 25-30.
- Buera, M.P.; Lozano, R.D.; Petriella, C. (1985). Definition of color in the non-enzymatic browning process. *Die Farbe*. 32/33: 316-326.
- Caivano, J. L.; Buera, M. P. (2012). Color in food. Technological and psychophysical aspects. CRC Press. Boca Raton, Florida, U.S.A. ISBN: 978-1-4398-7693-0.
- Camargo Neves, L.; Moreno Benedette, R.; da Silva V.; de Souza Prill, M.; Lopes Vieites, R. (2007). Produção de polpas de mangas Tommy Atkins, na Amazônia setentrional, através da aplicação de preservativos e da pasteurização. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 29 (3), 576-582.
- Cano, M.P.; de Ancos, B. (1994). Carotenoid and carotenoid ester composition in mango fruit as Influenced by processing method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42, 2737-2742.
- Cano, M.P.; Sánchez-Moreno, C.; Pascual-Teresa, S.; De Ancos, B. (2005). Procesado

Mínimo y Valor Nutricional en: Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados. González-Aguilar, G.; Gardea, A.; Cumea-Navarro, F. (Eds). CYTED. 124-140. México.

- Cheema, S.; Sommerhalter, M. (2015). Characterization of polyphenol oxidase activity in Ataulfo mango. *Food Chemistry*. 171, 382–387.
- Chisari, M.; Barbagallo, R. N.; Spagna, G. (2007). Characterization of polyphenol oxidase and peroxidase and influence on browning of cold stored strawberry fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55, 3469-3476.
- Chutintrasri, B.; Noomhrom, A. (2006). Thermal inactivation of polyphenoloxidase in pineapple puree. *LWT-Food Science and Technology*. 39, 492-495.
- Codex Alimentarius. 2005. General standard for fruit juices and nectars. CODEX STAN-247.
- Constabel, C. P.; Bergey, D. R.; Ryan, C. A. (1995). Systemin activates synthesis of wound-inducible tomato leaf polyphenol oxidase via the octadecanoid defense signaling pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 407–411.
Leído en: Cheema, S.; Sommerhalter, M. (2015). Characterization of polyphenol oxidase activity in Ataulfo mango. *Food Chemistry*. 171, 382–387.
- Cook, K. A.; Dobbs, T. E.; Hlady, W. G.; Wells, J. G.; Barrett, T. J.; Puhr, N. D.; Lancette, G. A.; Bodager, D. W.; Toth, B. L.; Genese, C. A.; Highsmith, A. K.; Pilot, K. E.; Finelli, L.; Swerdlow, D. L. (1998). Outbreak of Salmonella Serotype Hartford Infections Associated With Unpasteurized Orange Juice. *Journal of the American Medical Association*. 280(17), 1504-1509. doi:10.1001/jama.280.17.1504.
- Davies, B.H.; Mathews, S.; Kirk, J.T.O. (1970). The nature and biosynthesis of carotenoids of different colour varieties of *Capsicum annum*. *Phytochemistry*. 9, 797-805.
- De Ancos, B.; Cano, M.P.; Hernandez, A.; Monreal, M. (1999). Effects of microwave heating on pigment composition and colour of fruit purees. *J.Sci.Food Agric*. 79, 663-670.
- Del Castillo, E.; Montgomery, D.; McCarville, D. (1996). Modified desirability functions for multiple response optimization. *Journal of Quality Technology*. 28 (3), 337-345.
- Deliza, R.; Rosenthal, A.; Abadio, F. B. D.; Silva, C. H. O.; Castillo, C. (2005). Application

- of high pressure technology in the fruit juice processing: Benefits perceived by consumers. *Journal of Food Engineering*. 67, 241–246. Leído en: Ndiaye, C.; Xu, S.; Wang, Z. 2009. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry*. 113, 92–95.
- Djoua, T.; Charles, F.; Lopez-Lauri, F.; Filgueiras, H.; Coudret, A.; Freire, M. Jr; Ducamp-Collin, M.N.; Sallanon, H. Improving the storage of minimally processed mangoes (*Mangifera indica* L.) by hot water treatments. *Postharvest biology and technology*. 52, 221-226.
 - Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada M.; Robledo, C.W. InfoStat versión 2011. Grupo Infostat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
 - Durrani, Y.; Zeb, A.; Xingqian, Y.; Ayub, M.; Tahir, W.; Muhammad, A.; Wahab, S. (2012). Influence of storage temperatures on physicochemical, sensory and nutritional properties of chemically preserved mango pulp. *African Journal of Biotechnology*. 11 (13), 3147-3152. <http://www.academicjournals.org/AJB>. DOI: 10.5897/AJB11.3468 ISSN 1684–5315.
 - Falguera, V.; Garza, S.; Pagán, J.; Garvín, A.; Ibarz, A. (2013). Effect of UV–Vis irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of four grape musts from different varieties. *Food and Bioprocess Technology*. 6 (8), 2223–2229.
 - Falguera, V.; Pagán, J.; Ibarz, A. (2011). Effect of UVC irradiation on enzymatic activities physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT - Food Science and Technology*. 44, 115-119.
 - FAOSTAT. (2001, 2005). FAO Statistical Databases. Food and Agriculture Organization, Rome. Available from: <http://www.fao.org>.
 - Ferguson, I.B.; Ben-Yoshua, S.; Mitcham, E.J.; Mc Donald, R.E.; Lurie, S. (2000). Postharvest heat treatments: introduction and workshop summary. *Postharvest Biology and Technology*. 21, 1-6.
 - Fernandez, L; Castellero, C.; Aguilera, J.M. (2005). An Application of Image Analysis to Dehydration of Apple Discs. *Journal of Food Engineering*. 67, 185–193.
 - Friedberg, E.C.; Walker, G.C.; Siede, W.; Wood, R.D.; Schultz, R.A.; Ellenberger, T. (2006). DNA repair and mutagenesis. 2nd ed. ASM Press, Washington, DC.

- Garcia-Palazon, A.; Suthanthangjai, W.; Kajda, P.; Zabetakis, I. (2004). The effects of high hydrostatic pressure on β -glucosidase, peroxidase and polyphenoloxidase in red raspberry (*Rubus idaeus*) and strawberry (*Fragaria x ananassa*). *Food Chemistry*. 88, 7-10.
- Gayán, E.; Monfort, S.; Álvarez, I.; Condón, S. (2011). UV-C inactivation of *Escherichia coli* at different temperatures. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 12 (4), 531-541.
- Gayán, E.; Serrano, M.J.; Raso, J.; Álvarez, I.; Condón, S. (2012a). Inactivation of *Salmonella enterica* by UV-C light and by its combinations with mild temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*. 78, 8353–8361.
- Gayán, E.; Serrano, M.J.; Monfort, S.; Álvarez, I., Condón, S., (2012b). Pasteurization of apple juice contaminated with *Escherichia coli* by a combined UV-mild temperature treatment. *Food and Bioprocess Technology*. 7, 1-11.
- Gayán, E.; Mañas, P.; Álvarez, I.; Condón, S. (2013). Mechanism of the synergistic inactivation of *Escherichia coli* by UV-C light at mild temperatures. *Applied and Environmental Microbiology*. 79 (14), 4465-4473.
- Gayán, E.; García-Gonzalo, D.; Álvarez, I.; Condón, S. (2014). Resistance of *Staphylococcus aureus* to UV–C light and combined UV–heat treatments at mild temperatures. *International Journal of Food Microbiology*. 172, 30–39.
- Gayán, E.; Serrano, M. J.; Pagán, R.; Álvarez, I.; Condón, S. (2015). Environmental and biological factors influencing the UV-C resistance of *Listeria monocytogenes*. *Food Microbiology*. 46, 246-253.
- Gayán, E.; Serrano, M. J.; Álvarez, I.; Condón, S. (2016). Modeling optimal process conditions for UV-heat inactivation of foodborne pathogens in liquid foods. *Food Microbiology*. 60, 13-20.
- Geveke, D.J. (2005). UV inactivation of bacteria in apple cider. *Journal of Food Protection*. 68 (8), 1739–1742.
- Gil, A.; Duarte, L.; Delgadillo, I.; Colquhoun, I.; Casuscelli, F.; Humpfer, E.; Spraul, M. (2000). Study of the compositional changes of mango during ripening by use of nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48, 1524-1536.

- Gil, M.I.; Tomás-Barberán, F.A. (2005). Uso de ozono en la conservación. En: Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados. Gonzalez-Aguilar, G.A.; Gardea, A.; Cumea-Navarro (Eds.), (pp. 408). Mexico.
- Gil, M.I.; Aguayo, E.; Kader, A.A. (2006). Quality changes and nutrient retention in fresh-cut versus whole fruits during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54, 4284-4296.
- Giménez, A; Ares, F.; Ares, G. (2012). Sensory shelf-life estimation: A review of current methodological approaches. *Food Research International*. 49 (1), 311–325.
- Godoy, H.T.; Rodríguez-Amaya, D. B. (1987). Changes in individual carotenoids on processing and storage of mango (*Mangifera indica*) slices and purée. *International Journal of Food Science and Technology*. 22, 451-460.
- Gómez, R.A. (2013). Evaluación sensorial de láminas de mango (*Mangifera indica* L. cv. Keitt) fortificadas con cloruro de calcio mediante deshidratación osmótica con pulsos de vacío. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4 (2), 157-69. ISSN: 2218-4384.
- Gómez, P.L.; Welte-Chanes, J.; Alzamora, S.M. (2011). Hurdle technology in fruit processing. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2, 447–465.
- González-Aguilar, G.A.; Villegas-Ochoa, M.A.; Cumea-Navarro, F.; Ayala-Zavala, J.F. (2006). Efecto de la Irradiación sobre la Calidad de Mango Fresco Cortado en: Aseguramiento de la Calidad Microbiológica. González-Aguilar, G.A. y Cumea-Navarro, F. (Eds.). 59-64. México. ISBN 968-5862-08-7.
- González- Aguilar, G.A.; Zavaleta-Gatica, R.; Tiznado-Hernández, M.E. (2007). Improving postharvest quality of mango “Haden” by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*. 45, 108–116.
- Gouma, M.; Gayán, E; Raso, J.; Condón, S.; Álvarez, I. (2015). Inactivation of spoilage yeasts in apple juice by UV–C light and in combination with mild heat. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 32, 146–155.
- Granato, D.; Araújo Calado, V.M. de. (2014). The use and importance of design of experiments (DOE) in process modelling in food science and technology. En: *Mathematical and statistical methods in food science and technology*. 3-18. ISBN 978-1-118-43368-3.

- Greenberg, R. S.; Culver, C.; Kretchman, N. S.; Diccio, J. (2008). Non-enzymatic browning in orange juice and mango puree. *American Chemical Society*. 983, 212-226. ISSN: 0097-6156.
- Guerrero-Beltrán, J.A.; Swanson, B.G.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2005). Inhibition of polyphenoloxidase in mango puree with 4-hexylresorcinol, cysteine and ascorbic acid. *LWT-Food Science and Technology*. 38, 625-630.
- Guerrero-Beltrán, J.A.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2006). Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* and Polyphenoloxidase in mango nectar treated with UV light. *Journal of Food Protection*. 69 (2), 362–368.
- Haddouche, L.; Phalak, A.; Tikekar, R. V. (2015). Inactivation of polyphenoloxidase using 254 nm ultraviolet light in a model system. *LWT - Food Science and Technology*. 62 (1), 97–103. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.039>.
- Hasan, M.; Kabir, S. (2014). Study on shelf life of non-preservative containing mango drinks produced in Dhaka, Bangladesh. *Stamford Journal of Microbiology*. 4 (1), 24-27. ISSN: 2074-5346.
- Henry, B. C. J. K. (1997). New food processing technologies: From foraging to farming to food technology. *Proceedings of the Nutrition Society*. 56, 855–863. Leído en: Müller, A.; Noack, L.; Greiner, R.; Stahl, M.R.; Posten, C. 2014. Effect of UV-C and UV-B treatment on polyphenol oxidase activity and shelf life of apple and grape juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 26, 498–504.
- Hernández, Y.; Lobo, G.; González, M. (2005). Aptitud al procesado mínimo de cuatro cultivares de mango (*Mangifera indica* L.). En: *Avances de la Ciencia y Tecnología de los Alimentos en los inicios del siglo XXI*. 445-448. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Burgos. Burgos, España. ISBN 84-96394-23-9.
- Hernández, Y.; Lobo, M.G., González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods. *Food chemistry*. 96, 654-664.
- Hirschler, R. (2012). Whiteness, yellowness, and browning in food colorimetry: a critical review. En: Caivano, J. L.; Buera, M. P. (2012). *Color in food. Technological and psychophysical aspects*. CRC Press. Boca Raton, Florida, U.S.A. ISBN: 978-1-4398-7693-0.
- Hoover, D. G. (1997). *Minimally processed fruits and vegetables: Reducing microbial*

- load by nonthermal physical treatments. *Food Technology*. 51(6), 66–69. Leído en: Ndiaye, C.; Xu, S.; Wang, Z. 2009. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry*. 113, 92–95.
- Huang, W.; Bi, X.; Zhang, X.; Liao, X.; Hu, X.; Wu, J. (2013). Comparative study of enzymes, phenolics, carotenoids and color of apricot nectars treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 18, 74–82.
 - Huxsoll, C.C.; Bolin, H.R. (1989). Processing and distribution alternative for minimally processed fruits and vegetables. *Food Technology*. 43 (2), 132-138.
 - Ibarz, A.; Pagán, J.; Panadés, R.; Garza, S. (2005). Photochemical destruction of colour compounds in fruit juices. *Journal of Food Engineering*. 69 (2), 155–160.
 - ICMSF. *Microorganismos de los Alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico*. Vol. 1. Segunda edición. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 1982. ISBN: 84-200-0517-7.
 - Marsh, K.; Bugusu, B. (2007). Food Packaging. Roles, Materials, and Environmental Issues. *Journal of Food Science*. 72 (3), 39-55. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00301.x.
 - Keyser, M.; Müller, I.; Cilliers, F.; Nel, W.; Gouws, P. (2008). Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9, 348–354.
 - Kim, D.; Chun, O.; Kim, Y.; Moon, H.; Lee, C. (2003). Quantification of Polyphenolics and Their Antioxidant Capacity in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51, 6509-6515.
 - Kim, H.; Moon, J.; Kim, H.; Lee, D.; Cho, M.; Choi, H.; Kim, Y.; Mosaddik, A.; Cho, S. (2010). Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry*. 121, 429–436.
 - Koutchma, T.; Fourney, L.; Moraru, C. (2009). Ultraviolet light in food technology. Principles and applications. Contemporary food engineering series. CRC Press. ISBN: 978-1-4200-5950-2.
 - Ledeker, C.N.; Suwonsichon, S.; Chambers, D. H.; Adhikari, K. (2014). Comparison of sensory attributes in fresh mangoes and heat-treated mango purées prepared from

- Thai cultivars. *LWT - Food Science and Technology*. 56, 138-144.
- Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*. 5 (1-3), 181-186.
 - Liu, F.; Fu, S.; Bi, X.; Chen, F.; Liao, X.; Hu, X.; Wu, J. (2013). Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food Chemistry*. 138, 396–405.
 - Liu, F.; Wang, Y.; Li, R.; Bi, X.; Liao, X. (2014). Effects of high hydrostatic pressure and high temperature short time on antioxidant activity, antioxidant compounds and color of mango nectars. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 21, 35–43.
 - Lizada, C. (1993). Mango. En: *Biochemistry of fruit ripening*. 255-271. Ed. Chapman y Hall.
 - Loong, M.; Goh, H. (2004). Colour degradation of acidified vegetable juice. *International Journal of Food Science and Technology*. 39, 437-441.
 - Lowry, O. H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A. L.; Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193, 265-275.
 - Luh, B. S.; Hsu, E. T.; Stachowicz, K. (1967). Polyphenolic Compounds in Canned Cling Peaches *Journal of Food Science*. 32, 251-258.
 - Machado Rocha Ribeiro, S.; de Queiroz, J.H.; Lopes Ribeiro de Queiroz, M.E.; Campos, F.M.; Pinheiro Sant’Ana, H. M. (2007). Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*. 62, 13–17.
 - Manas, P.; Pagan, R. 2005. Microbial inactivation by new technologies of food preservation. *Journal of Applied Microbiology*, 98 (6), 1387-1399. Leído en: Müller, A.; Noack, L.; Greiner, R.; Stahl, M.R.; Posten, C. 2014. Effect of UV-C and UV-B treatment on polyphenol oxidase activity and shelf life of apple and grape juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 26, 498–504.
 - Maidana, S. B.; Vullioud, M.B.; Salvatori, D.M. (2012). Color of dried pears as affected by prior blanching and sugar infusión. En: Caivano, J. L.; Buera, M. P. (2012). *Color in food. Technological and psychophysical aspects*. CRC Press. Boca Raton, Florida, U.S.A. ISBN: 978-1-4398-7693-0.
 - Marquenie, D.; Michieles, C. W.; Geeraerd, A. H.; Schenk, A.; Soontjens, C.; Van Impe,

- J.F.; Nicolai, B. M. (2002). Using Survival Analysis to Investigate the Effect of UV-C and Heat Treatment on Storage of Strawberry and Sweet Cherry. *International Journal of Food Microbiology*. 72, 187-196.
- Manayai Sánchez, D.; Ibarz Ribas, A.; Castillo Martínez, W.; Palacios Ambrosio, L. 2014. Cinética de la evolución de hidroximetilfurfural (HMF) en el proceso térmico de pulpa concentrada de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Haden y Kent. 9º Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (CIBIA). Valencia, España. 160 - 167. ISBN: 978-84-9048-168-4.
 - Massaguer, P. R.; Silva, A. R. (2006). Polynimial modelling of lag time of *Aspergillus niger* in Brazilian mango nectar as a function of temperature and pH. En: *FOODMICRO*, 20, Bologna. Anais. Italy. Leído en: Tribst, A.; Franchi, M.; Cristianini, M.; De Massague, P. (2009). Inactivation of *Aspergillus niger* in Mango Nectar by High-Pressure Homogenization Combined with Heat Shock. *Journal of Food Science*. 74 (9), 509–514.
 - Mayer, A. M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry*, 67, 2318–2331. Leído en: Cheema, S.; Sommerhalter, M. (2015). Characterization of polyphenol oxidase activity in Ataulfo mango. *Food Chemistry*. 171, 382–387.
 - Meléndez-Martínez, A J.; Vicario, I. M.; Heredia, F. J. (2004). Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 54 (2), 209-215. ISSN 0004-0622.
 - Mercadante, A.; Rodríguez-Amaya, D.; Britton, G. (1997). HPLC and Mass Spectrometric analysis of carotenoids from mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 120-123.
 - Mercadante, A.; Rodriguez-Amaya, D. (1998). Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46, 128-130.
 - Mercado-Silva, E.; Aquino Bolaños, E.N. (2005). Enzimas involucradas en el deterioro. En: *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados*. Gonzalez-Aguilar, G.A.; Gardea, A.; Cumea-Navarro (Eds.), (pp. 177). México.
 - Moraes, I.C.F.; Sampaio, R.M.; Queiroz, N.M.; De Salles, S.M.; Pashoaleti C.C.; Parez.

- V.H. (2010). Mango Pulp (*Mangifera Indica* L.) Preserved by Hurdle technology: Physicochemical, microbiological and rheological characterization. *J. Food Proc. and Preserv.* 35: 610-614. Leído en: Benhura, C.; Rukuni, T.; Kadema, C.; Mubvakure, B.; Nazare, R.; Gombiro, P.E.; Tokwe, B.; Matangi, E.; Madzima, A. (2012). Preservation of mango pulp of fruit from Rusitu Valley, Chimanimani in Zimbabwe. *Pakistan Journal of Food Sciences.* 22 (4), 191-196.
- Müller, A.; Noack, L.; Greiner, R.; Stahl, M.R.; Posten, C. 2014. Effect of UV-C and UV-B treatment on polyphenol oxidase activity and shelf life of apple and grape juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 26, 498–504.
 - Ndiaye, C.; Xu, S.; Wang, Z. 2009. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry.* 113, 92–95.
 - Neves, F.; Vieira, M.; Silva, C. 2012. Inactivation kinetics of peroxidase in zucchini (*Cucurbita pepo* L.) by heat and UV-C radiation. *Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 13, 158–162.
 - Nicoli, M. C.; Elizalde, B. E.; Pitotti, A.; Lericci, C. R. (1991). Effect of sugars and Maillards reaction products on polyphenol oxidase and peroxidase activity in food. *Journal of Food Biochemistry.* 15, 169–184. Leído en: Ndiaye, C.; Xu, S.; Wang, Z. 2009. Steam blanching effect on polyphenoloxidase, peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. *Food Chemistry.* 113, 92–95.
 - Odriozola-Serrano, I.; Hernandez-Jover, T.; Martín-Belloso, O. (2007). Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine Vitamin C in fruits. *Food Chemistry.* 105 (3), 1151-1158.
 - Ornelas-Paz, J. J.; Yahia, E.M.; Gardea-Bejar, A. (2007). Identification and quantification of xanthophyll esters, carotenes, and tocopherols in the fruit of seven mexican mango cultivars by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-time-of-flight mass spectrometry [LC-(APCl+)-MS]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 55, 6628-6635.
 - Oteiza, J. M.; Peltzer, M; Gannuzzi, L; Zaritzky, N. (2005). Antimicrobial Efficacy of UV Radiation on *Escherichia coli* O157:H7 (EDL 933) in Fruit Juices of Different Absorptivities. *Journal of Food Protection.* 1, 49-58.

- Oteiza, J. M.; Giannuzzi, L.; Zaritzky, N. (2010). Ultraviolet Treatment of Orange Juice to Inactivate *E. coli* O157:H7 as Affected by Native Microflora. *Food Bioprocess Technology*. 3, 603–614.
- Palou, E.; López-Malo, A.; Barbosa-Cánovas, G. V.; Welti-Chanes, J.; Swanson. B. G. (1999). Polyphenoloxidase activity and color of blanched and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science*. 64 (1), 42-45.
- Park, Y. K.; Sato, H. H.; Almeida, T. D.; Moretti, R. H. (1980). Polyphenol oxidase of mango (*Mangifera indica* var. Haden). *Journal of Food Science*. 45, 1619-1621.
- Envasado y empaquetado de productos alimentarios. inad0108 - operaciones auxiliares de elaboración de la industria alimentaria
- Rodríguez Peula, M. (2013). Envasado y empaquetado de productos alimentarios. inad0108 - operaciones auxiliares de elaboración de la industria alimentaria. IC Editorial. ISBN: 8415848943.
- Piagentini, A.; Martín, L.; Bernardi, C.; Güemes, D.; Pirovani, M. (2012). Color changes in fresh-cut fruits as affected by cultivar, chemical treatment, and storage time and temperature. En: *Color in food. Technological and psychophysical aspects*. 263-270. CRC Press. ISBN: 978-1-4398-7693-0.
- Plotto, A.; Bai, J.; Narciso, J.A.; Brecht, J.K.; Baldwin, E.A. (2006). Ethanol vapor prior to processing extends fresh-cut mango storage by decreasing spoilage, but does not always delay ripening. *Postharvest Biology and Technology*. 39, 134-145.
- Polydera, A.C.; Stoforos, N.G.; Taoukis, P.S. (2005). Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh Navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 6 (1), 1-9.
- Pott, I.; Breithaupt, D. E.; Carle, R. (2003). Detection of unusual carotenoid esters in fresh mango (*Mangifera indica* L. cv. "Kent"). *Phytochemistry*. 64, 825–829. Leído en: Vazquez-Caicedo, A.L.; Schilling, S.; Carle, R.; Neidhart, S. (2007) Effects of thermal processing and fruit matrix on β -carotene stability and enzyme inactivation during transformation of mangoes into purée and nectar. *Food Chemistry*. 102. 1172-1186.
- Prabha, T. N.; Patwardhan, M. V. (1986). Endogenously oxidizable polyphenols of mango, sapota and banana. *Acta Alimentaria* 15, 123]128. Leído en: Schieber, A.;

- Ullrich, W.; Carle R. (2000). Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1, 161-166.
- Ramos Parra, P.A. (2006). Factores que afectan la estabilidad de mango (*Mangifera indica* L.) procesado por alta presión hidrostática (Tesis de Maestría). Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Campus Monterrey. División De Ingeniería y Arquitectura. Programa de Graduados en Ingeniería. México.
 - Raso, J.; Barbosa-Canovas, G. V. 2003. Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43 (3), 265-285. Leído en: Müller, A.; Noack, L.; Greiner, R.; Stahl, M.R.; Posten, C. 2014. Effect of UV-C and UV-B treatment on polyphenol oxidase activity and shelf life of apple and grape juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 26, 498–504.
 - Raybaudi-Massilia, R. M.; Mosqueda-Melgar, J.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. (2009). Control of Pathogenic and Spoilage Microorganisms in Fresh-cut Fruits and Fruit Juices by Traditional and Alternative Natural Antimicrobials. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 8, 157-180.
 - Rawson, A.; Patras, A.; Tiwari, B.K.; Noci, F.; Koutchma, T.; Brunton, N. 2011. Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*. 44 (7), 1875-1887.
 - Ribeiro, S. M. R.; Queiroz, J. H.; Queiroz, M. E. R. L.; Campos, F. M.; Pibeiro-Sant’Ana, H. M. (2007). Antioxidants in mango (*Mangifera indica* L.) pulp. *Plant Food for Human Nutrition*. 62, 13–17.
 - Ribeiro, C.; Canada, J.; Alvarenga, B. (2012). Prospects of UV radiation for application in postharvest technology. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 24 (6), 586-597. doi: 10.9755/ejfa.v24i6.14677.
 - Rizzolo, A.; Brambilla, A.; Valsecchi, S.; Eccher-Zerbini, P. (2002). Evaluation of sampling and extraction procedures for the analysis of ascorbic acid from pear fruit tissue. *Food chemistry*. 77, 257-262.
 - Robles-Sánchez, R. M.; Rojas-Graü, M. A.; Odriozola-Serrano, I.; González-Aguilar, G.

- A.; Martín-Belloso, O. (2009). Effect of minimal processing on bioactive compounds and antioxidant activity of fresh-cut “Kent” mango (*Mangifera indica* L.). *Postharvest Biology and Technology*. 51, 384–390.
- Rodríguez-Amaya, D. (2001). A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI PRESS. International Life Sciences Institute. ISBN 1-57881-072-8.
 - Sampedro, F.; Fan, X. (2014). Inactivation kinetics and photoreactivation of vegetable oxidative enzymes after combined UV-C and thermal processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 23, 107–113.
 - Sánchez-Moreno, C.; Larrauri, J.A.; Saura-Calixto, F. (1998). A Procedure to Measure the Anti-radical Efficiency of Polyphenols. *J. Sci. Food Agric*. 76, 270-276.
 - Santa Cruz, M.; Martínez, C.; Varela, P. (2005). Principios básicos de análisis sensorial en: Estimación de la Vida Útil Sensorial. Ed. Hough, G. y Fiszman, S. CYTED. Madrid, España. p. 31-35.
 - Santhirasegaram, V.; Razali, Z.; Somasundram, C. (2014). Effects of sonication and ultraviolet-C treatment as a hurdle concept on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Food Science and Technology International*. 21 (3), 232–241. DOI: 10.1177/1082013214528188.
 - Santhirasegaram, V.; Razali, Z., Soloman George, D.; Somasundram, C. (2015). Comparison of UV-C treatment and thermal pasteurization on quality of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Food and Bioproducts Processing*. 94, 313–321.
 - Schieber, A.; Ullrich, W.; Carle R. (2000). Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 1, 161-166.
 - Sew, C. C.; Ghazali, H. M.; Martín-Belloso, O.; Noranizan, M. A. (2014). Effects of combining ultraviolet and mild heat treatments on enzymatic activities and total phenolic contents in pineapple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 26, 511–516.
 - Sgroppo, S.C.; Pereyra, M.V.; Avalos Llano, K. (2007). Composición nutricional y cambios sensoriales en choclos frescos cortados. Eds: Gonzalez-Aguilar- Cumea Navarro. 27-32. ISBN 968-5862-11-7.
 - Sgroppo, S.C.; Pereyra, M.V. (2009). Using mild heat treatment to improve the

bioactive related compounds on fresh-cut green bell peppers. *International Journal of Food Science and Technology*. 44, 1793–1801.

- Shaidi, F. (2004). Phenolic compounds in fruits and vegetables. En: *Phenolics in food nutraceuticals*. (p.197-200). CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Shin, S.; Bhowmik, S.R. (1995). Thermal Kinetics of Colour Changes in Pea Puree. *Journal of Food Engineering*. 24 (1), 77-86.
- Silva Cadena, R.; Gomes Cruz, A.; Rolim Netto, R.; Freitas Castro, W.; Fonseca Faria, J.; André Bolini, H.M. (2013). Sensory profile and physicochemical characteristics of mango néctar sweetened with high intensity sweeteners throughout storage time. *Food Research International*. 54, 1670–1679.
- Silva Ramirez, M.; Castro Silupu, W.; Oblitas Cruz, J. (2010). Influencia de la turbidez en el efecto antimicrobiano de la luz ultravioleta y de los pulsos luminosos de luz blanca en néctar de naranja (*Citrus sinensis*). *Scientia Agropecuaria*. 1, 139 – 145.
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Jr. (1965). *American Journal of Enology and Viticulture*. Vol. 16, 3, 144-158.
- Sivakumar, D.; Jiang, Y.; Yahia, E.M. (2011). Maintaining mango (*Mangifera indica* L.) fruit quality during the export chain. *Food Research International*. 44, 1254-1263.
- Smith, J.P.; Zagory, D.; Ramaswamy, H.S. (2005). *Packaging of Fruits and Vegetables*. In: *Processing fruits*. 2da. edición. Ed. Barret, D.; Somogyi, L.; Ramaswamy, H. CRC Press. ISBN: 0-8493-1478-X.
- Soliva-Fortuny, R.; Biosca-Biosca, N.; Griglemo-Miguel, N.; Martín-Belloso, O. (2002). Browning, polyphenol oxidase activity and headspace gas composition during storage of minimally processed pears using modified atmosphere packaging. *J.Sci.Food Agric*. 82(13), 1490-1496.
- Southgate, D.A.T. (1974). *Determination of Food Carbohydrates*. London, Applied Science Publishers. 105-106. I.S.B.N.: 0853346933. p. 105; 111.
- Sugai, A. Y.; Tadini, C. C. (2006). Thermal inactivation of mango (*Mangifera indica* L. variety Palmer) puree peroxidase. 2006 CIGR Section VI International Symposium on Future of Food Engineering. Warsaw: Food Engineering Laboratory, Chemical Engineering Department, Escola Politecnica, Sao Paulo University. Leído en: Ndiaye,C.; Xu, S.; Wang, Z. (2009). Steam blanching effect on polyphenoloxidase,

- peroxidase and colour of mango (*Mangifera indica* L.) slices. Food Chemistry. 113, 92–95.
- Tapia, M.; Alzamora, S.; Welti, J. (1996). Minimally Processed High Moisture Fruit Products by Combined Methods: Results of a Multinational Project (en Fito, P.; Ortega, E.; Barbosa, G. (Eds). Food Engineering 2000. Ed. Chapman & Hall. 161-180.
 - Tiwari, B. K.; O'Donnell, C. P.; Muthukumarappan, K.; Culllen, P. J. (2009). Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurised juice. LWT-Food Science and Technology. 42, 700–704. Leído en: Santhirasegaram, V.; Razali, Z., Soloman George, D.; Somasundram, C. (2015). Comparison of UV-C treatment and thermal pasteurization on quality of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. Food and bioproducts processing. 94, 313–321.
 - Tomás-Barberán, F.A.; Espín, J.C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81, 853-876. DOI: 10.1002/jsfa.855.
 - Tran, M.; Farid, M. (2004). Ultraviolet treatment of orange juice. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 5 (4), 495-502.
 - Tribst, A.; Franchi, M.; Cristianini, M.; De Massague, P. (2009). Inactivation of *Aspergillus niger* in mango nectar by high-pressure homogenization combined with heat shock. Journal of Food Science. 74 (9), 509–514.
 - Tumi Fresh: <http://slideplayer.es/slide/27593/> - 24 de Julio de 2016.
 - US Food and Drug Administration, 2004. Guidance for industry: Juice HACCP hazards and controls guidance first edition; final guidance. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Juice/ucm072557.htm>. Último acceso 24 de noviembre de 2017.
 - Vasanthaiah, H.K.N.; Ravishankar, K.V.; Mukunda, G.K. (2007). Mango. In: Genome mapping and molecular breeding in plants, Volume 4. Fruits and nuts. p. 303-323. Ed. C. Kole. Springer.
 - Vásquez-Caicedo, A. L.; Sruamsiri, P.; Carle, R.; Neidhart, S. (2005). Accumulation of all-trans- α -carotene and its 9-cis and 13-cis stereoisomers during postharvest ripening of nine Thai mango cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53,

4827-4835.

- Vásquez-Caicedo, A.L.; Sruamsiri, P.; Carle, R.; Neidhart, S. (2007a). Impact of packaging and storage conditions on colour and β -carotene retention of pasteurised mango pureé. *European Food Research and Technology*. Doi: 10.1007/S00217-006-0339-4.
- Vásquez-Caicedo, A.L.; Schilling, S.; Carle, R.; Neidhart, S. (2007b) Effects of thermal processing and fruit matrix on β -carotene stability and enzyme inactivation during transformation of mangoes into purée and nectar. *Food Chemistry*. 102. 1172-1186.
- Vera Candiotti, L.; De Zan, M. M.; Cámara, M. S.; Goicoechea, H. C. (2014). Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta*. 124, 123–138.
- Wang, T.; McGregor S.J.; Anderson J.G.; Woolsey, G.A. (2005). Pulsed Ultra-violet Inactivation Spectrum of *Escherichia coli*. *Water Research*. 39, 2921–2925.
- Wen, Q.; Ma, R.; Dong, Q.; Xin, Y. (2006). Studies on postharvest physiology and the storage technology of mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of food processing and preservation*. 30, 670-683.
- Whitley, R. (1994). Introduction to minimally processed refrigerated fruits and vegetables en: *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Ed. Wiley, R. Chapman & Hall. New-York. p. 10-13.
- Wu, J.S.B.; Wu, M.C.; Wei, Y.P. (2005). Tropical fruits. In: *Processing fruits*. 2da. edición. Ed. Barret, D.; Somogyi, L.; Ramaswamy, H. CRC Press. ISBN: 0-8493-1478-X.
- Yam, K. L.; Papadakis, S.E. (2004). A Simple Digital Imaging Method for Measuring and Analyzing Colour of Food Surfaces. *Journal of Food Engineering*. 61, 137-142.
- Yemenicioğlu, A.; Özkan, M; Cemeroğlu, B. (1999). Some Characteristics of Polyphenol Oxidase and Peroxidase from Taro (*Colocasia antiquorum*). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 23, 425-430.
- Younis, M.S.; Butt, M. S.; Sharif, M. K.; Sulera, H. A. R.; Hameed, F. (2011). Effect of preservatives on physicochemical, microbial and sensory attributes of mangoes. *Internet Journal of Food Safety*. 13, 246-263.
- Zambrano, J.; Valera, A.; Maffei, M.; Materano, W.; Quintero, I. (2008). Efecto del escaldado y la adición de preservativos sobre la calidad de la pulpa de mango tipo

“bocado” almacenada bajo refrigeración. *Agronomía Tropical*. 58(3), 257-265.

- <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00044358.htm>. Último acceso: Junio 2016.
- <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. FAO, 2016. Último acceso: Junio 2016.
- http://intainforma.inta.gov.ar/wp-content/uploads/2012/07/153_FRUTAS.pdf. Último acceso: Junio 2016.