

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DESARROLLO Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE
UNA MERMELADA DE FRESA (*Fragaria vesca* L.)
ADICIONADA CON INULINA”**

TESIS INDIVIDUAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

LUZ MIREYA MACÍAS SÁMANO

DIRIGIDA POR

Dra. MA. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“DESARROLLO Y EVALUACIÓN SENSORIAL DE
UNA MERMELADA DE FRESA (*Fragaria vesca* L.)
ADICIONADA CON INULINA”**

TESIS INDIVIDUAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

LUZ MIREYA MACÍAS SÁMANO

DIRIGIDA POR

Dra. Ma. Estela Vázquez Barrios

SINODALES

Dra. MA. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS
DIRECTOR

Dr. EDMUNDO MERCADO SILVA
SINODAL

Dra. MARÍA SOFIA ARVIZU MEDRANO
SINODAL

Dra. MARCELA GAYTÁN MARTÍNEZ
SINODAL

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, que sin ellos no podría haber logrado llegar a este punto, que siempre han estado incondicionalmente dando lo mejor de sí, siempre escuchando y con mil palabras de aliento, recordándome lo importante del día. Por la paciencia en los múltiples intentos por practicar alguna presentación, en fin, por ser quienes son e impulsarme a hacer lo que realmente me haga feliz. Nunca terminare de agradecerles por todo lo que han hecho por mí y lo que siguen haciendo.

A mi hermano menor por ser tan comprensivo, por siempre tener una opinión sincera y de motivación, sencillamente por estar ahí para mí.

A mis abuelitos que constituyen un aparte muy importante de mi formación. A mi hermano mayor, a mis tíos que de una u otra manera estuvieron presentes apoyándome en este camino.

A mis amigos de la facultad y fuera de ella, que formaron parte de todo este proceso no solo en lo académico sino en lo personal. Haciendo cada día de estudio más llevadero con las risas y ocurrencias del día a día, explicándome cuando no entendía algún tema y compartiendo frustraciones y alegrías. Y que incondicionalmente estuvieron y continúan compartiendo experiencias y aprendizajes.

A la Doctora Estela por creer en mi en este y otros proyectos, siempre alentándonos a ser mejores y amar lo que cada uno de nosotros hace. Gracias por su paciencia, su tiempo y compartir el aprendizaje tanto profesional como personal.

A las Doctoras Marcela y Sofía por brindarme su apoyo, orientación y paciencia desde el inicio hasta el final de este proyecto.

Al doctor Mercado por sus recomendaciones, y por la confianza brindada de trabajar en su laboratorio.

A mis profesores de los cuales de algunos de ellos sigo aprendiendo y compartiendo buenos momentos

En fin, a todas aquellas personas que he conocido en el ámbito laboral y fuera de, que estuvieron siempre atentos al avance de este trabajo.

Contenido

| | Página |
|---|--------|
| ÍNDICE GENERAL | i |
| ÍNDICE DE CUADROS | iv |
| ÍNDICE DE FIGURAS | v |
| RESUMEN | i |
| 1 ANTECEDENTES | 1 |
| 1.1 Componentes de una mermelada | 2 |
| 1.1.1 Fresa | 3 |
| 1.1.2 Azúcar | 7 |
| 1.1.3 Ácido cítrico | 8 |
| 1.1.4 Pectina | 9 |
| 1.2 Formación de un gel de pectina | 11 |
| 1.3 Parámetros de calidad en la mermelada | 13 |
| 1.3.1 Grados Brix (°Bx) | 13 |
| 1.3.2 Acidez titulable | 14 |
| 1.3.3 pH | 14 |
| 1.3.4 Actividad de agua (Aa) | 15 |
| 1.3.5 Calidad microbiológica | 18 |
| 1.3.6 Defectos de las mermeladas | 20 |
| 1.4 Modificaciones a la formulación de mermelada de fresa | 22 |
| 1.4.1 Inulina | 22 |
| 1.5 Análisis sensorial | 26 |
| 1.5.1 Pruebas descriptivas | 27 |
| 1.5.2 Pruebas discriminativas | 28 |
| 1.5.3 Pruebas afectivas | 28 |
| 1.6 Generalidades de la vida útil o de anaquel de los alimentos | 30 |
| 1.6.1 Tipos y mecanismos de deterioro | 33 |

| | | |
|-------|---|----|
| 1.6.2 | Estudios de almacenamiento | 34 |
| 1.6.3 | Estudios de almacenamiento acelerado | 34 |
| 1.7 | Diseños aplicables a los estudios de vida útil | 35 |
| 1.7.1 | Diseño básico | 35 |
| 1.7.2 | Diseño reversa | 35 |
| 1.7.3 | Almacenamiento acelerado | 35 |
| 2. | HIPÓTESIS | 40 |
| 3. | OBJETIVOS | 41 |
| 3.1 | Objetivo general | 41 |
| 3.2 | Objetivos específicos | 41 |
| 4. | METODOLOGÍA | 42 |
| 4.1 | Estrategia experimental | 42 |
| 4.2 | Materiales | 45 |
| 4.2.1 | Material biológico | 45 |
| 4.2.2 | Ingredientes | 45 |
| 4.2.3 | Reactivos | 45 |
| 4.3 | Elaboración de mermeladas | 45 |
| 4.3.1 | Elaboración de la mermelada tradicional | 45 |
| 4.3.2 | Elaboración de mermelada de fresa adicionada con inulina | 46 |
| 4.4 | Análisis estadístico de la evaluación sensorial | 47 |
| 4.5 | Diseño de la prueba de vida de anaquel de mermeladas de fresa: tradicional y adicionada con inulina | 49 |
| 4.5.1 | Determinación de la carga microbiana | 49 |
| 4.5.2 | Determinación del valor de actividad de agua | 50 |
| 4.5.3 | Determinación de potencial de hidrógeno (pH) | 50 |
| 4.5.4 | Determinación de acidez titulable | 50 |
| 4.5.5 | Determinación de solidos totales (°Bx) | 51 |
| 4.6 | Determinación de fructanos | 51 |
| 4.7 | Determinación del contenido calórico de los productos | 54 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.8 | Análisis estadístico | 56 |
| 5. | RESULTADOS Y DISCUSION | 57 |
| 5.1 | Elaboración de mermelada de fresa adicionada con inulina | 57 |
| 5.1.1 | Equivalencia de °BX de inulina y sacarosa | 57 |
| 5.1.2 | Etapa y forma de adición de inulina | 58 |
| 5.2. | Evaluación sensorial de mermeladas de fresa adicionada con Inulina. | 59 |
| 5.3 | Evaluación de vida útil | 61 |
| 5.3.1 | Análisis microbiológicos | 61 |
| 5.3.2 | pH | 65 |
| 5.3.3 | Aw | 67 |
| 5.3.4 | Acidez titulable | 69 |
| 5.3.5 | Cuantificación de °Bx y de Fructanos | 71 |
| 5.3.6 | Cuantificación de calorías | 72 |
| 6. | CONCLUSIONES | |
| 7. | REFERENCIAS | 75 |
| 8. | ANEXOS | 76 |
| | | 83 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadro | | Página |
|--------|---|--------|
| 1 | Características de la mermelada | 3 |
| 2 | Composición nutricional del fruto de fresa | 6 |
| 3 | Relación de pH y ácido cítrico a añadir en una formulación de una mermelada | 15 |
| 4 | Límites máximos de microorganismos permitidos en mermeladas, purés, jaleas y ate de frutas | 20 |
| 5 | Especificaciones microbiológicas para mermelada de fresa | 20 |
| 6 | Grados Brix de las soluciones de inulina | 57 |
| 7 | Parámetros finales de ambos tipos de mermeladas | 59 |
| 8 | Resultados de la evaluación sensorial de mermeladas de fresa. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa a $p < 0.5$, Kruskal-Wallis | 60 |
| 9 | Recuento de hongos y levaduras en mermelada de fresa con y sin inulina y almacenada a 25, 35 y 45 °C | 64 |
| 10 | Valores de °Bx y contenido de fructanos en mermelada de fresa con y sin inulina después de 126 días a temperatura ambiente (25 °C) | 71 |
| 11 | Valor de calorías en mermelada de fresa con y sin inulina después de 126 días a temperatura ambiente (25 °C). | 73 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| Figura | | Página |
|--------|---|--------|
| 1 | Fruto de fresa (1a) y planta de fresa en campo con frutos en diferentes estados de madurez (1b) | 6 |
| 2 | Estados de madurez de frutos de fresa | 7 |
| 3 | Cambios que ocurren en los alimentos en función de la actividad de agua | 16 |
| 4 | Influencia del valor de Aa y del pH en la estabilidad de los alimentos | 17 |
| 5 | Estructura química de la inulina del Agave | 24 |
| 6 | Ejemplo de una escala hedónica de 9 puntos | 30 |
| 7 | Ejemplo de un diseño básico de mayonesa almacenada a 20°C | 36 |
| 8 | Ejemplo de un diseño reversa para pan | 37 |
| 9 | Diagrama de elaboración de mermelada de fresa tradicional y adicionada con Inulina | 43 |
| 10 | Esquema de estudio de vida de anaquel | 44 |
| 11 | Formato de evaluación para la prueba sensorial de mermelada de fresa | 48 |
| 12 | Aplicación de una prueba sensorial para mermelada de fresa | 48 |
| 13 | Tratamiento de mermelada tradicional e inulina para calorimetría | 55 |
| 14 | Grado de satisfacción de parámetros de calidad en mermeladas de fresa | 61 |

| | | |
|----|---|----|
| 15 | BMA en mermelada de fresa a 25 (a), 35 (b) y 45°C (c). Línea azul corresponde a mermelada tradicional, línea roja a mermelada con inulina, línea verde a límite de detección y línea morada al límite de la NOM-111-SSA1-1994 | 63 |
| 16 | Valores de actividad de agua en mermelada tradicional y con inulina almacenada a 25, 35 y 45°C. Línea azul corresponde a la mermelada tradicional, línea roja mermelada inulina | 66 |
| 17 | Comparativo %Acidez titulable de mermelada tradicional en inulina a 25, 35 y 45°C. Línea azul corresponde a la mermelada tradicional, línea rojo corresponde a mermelada con inulina | 68 |
| 18 | Acidez titulable de mermelada tradicional (línea azul) y con inulina (línea roja) a 25, 35 y 45°C | 70 |

RESUMEN

La mermelada de fresa se obtiene por cocción y concentración de fruta y una solución de sacarosa, adición de pectina y ácido cítrico, hasta obtener una consistencia de gel característica. Tecnológicamente hablando, es recomendable que tenga un mínimo de 65% de sólidos solubles (65°Bx) para asegurar su conservación. La inulina es un fructo-oligosacárido (FOS) que se ha reportado presenta excelentes propiedades funcionales para la industria de alimentos como espesante, emulsificante, gelificante, sustituto de azúcares y de grasas, humectante, depresor del punto de congelación. En este trabajo se elaboraron mermeladas de fresa con sustitución parcial de sacarosa por inulina (1, 5 y 10%) y; a través de una evaluación sensorial se determinó la formulación de mayor agrado. Dichas mermeladas que se compararon con una mermelada control sin inulina; las mermeladas se almacenaron a 25, 35 y 45°C, para evaluar parámetros de calidad; fisicoquímicos (pH, actividad de agua y acidez titulable) y análisis microbiológicos (BMA y hongos y levaduras). Al final del almacenamiento se determinó los °Brix, el contenido de inulina con un Kit enzimático y el valor calórico de las mermeladas. La sustitución de sacarosa por inulina mejoró las propiedades sensoriales (color, textura y sabor) y fisicoquímicas de mermelada de fresa. El valor calórico fue similar según los resultados obtenidos en la calorimetría; además la mermelada de fresa con inulina puede proporcionar un efecto prebiótico al momento de su consumo. El 5% de sustitución de sacarosa por inulina de agave mejora la aceptabilidad de mermelada de fresa sin comprometer la calidad microbiológica, y sin cambios en el valor calórico. No se pudo identificar el factor crítico de deterioro entre la mermelada control y la adicionada; sin embargo se puede decir que la vida de anaquel de estas es de al menos 4.5 meses a temperatura ambiente.

1. ANTECEDENTES

La mermelada es una conserva de fruta cocida en azúcar que provee de energía suficiente al consumidor para empezar el día. La cantidad de azúcar que tiene la mermelada tradicional (50% de la formulación) es una de las razones de mayor peso para dejar de consumirla; sin embargo, desde el punto de vista de la formulación este ingrediente provoca la deshidratación de la pectina que en combinación con la acidez de la fruta genera el fenómeno de gelificación necesario en este producto; además de otorgar estabilidad al producto ya que disminuye considerablemente el valor de actividad de agua (0.80 – 0.85) con lo cual se inhibe el desarrollo bacteriano, pero no el de mohos y levaduras, razón por la cual algunas formulaciones incluyen conservadores (Zhao, 2012). A pesar de estos beneficios, la población actualmente está cambiando su consumo por mermeladas bajas en azúcar o sin azúcar añadida; en los últimos cinco años los nuevos productos sin azúcar añadido han aumentado un 21%.

La mermelada de fresa es mayormente consumida dentro de la población (Ortega y Parra, 2012), reportándose que un 75% de la misma consume mermelada.

Las mermeladas tradicionales se preparan con frutas que contienen suficiente pectina y ácido cítrico, a fin de obtener una consistencia sólida o semisólida a las mismas. Las propiedades que deben tener estos productos en particular para ser un buen producto alimenticio, incluyen entre otras: contenido de calorías (154 Kcal / 100g), sabor asociado a la fruta, acidez media (óptimo de 5%), consistencia y aspecto agradable, color acorde a la fruta y aroma característico a la fruta (Zhao, 2012)

El mercado de las mermeladas es bastante competitivo, no obstante, el producto se puede diferenciar por la calidad de sus materias primas, su elaboración y el uso mínimo o nulo de conservadores lo cual debe estar reportado en su etiqueta (NOM-051-SCFI/SSA1-2010).

Como ya se ha planteado, se entiende por mermelada un producto formulado a base de fruta y azúcar, fundamentalmente. En algunos casos es recomendable ajustar el

pH de la mezcla agregando algún acidificante como el ácido cítrico. Eventualmente será necesario aumentar el contenido de pectina de la mezcla, agregando pectina cítrica con el fin de lograr un gel adecuado (Thakur, y col., 1997).

La mermelada sin frutos cítricos es elaborada por tratamiento térmico de frutas en trozos, enteras o en combinación, agregando productos alimenticios que proporcionan dulzura a la mezcla, estos pudiendo ser sacarosa, jarabe de fructosa o miel. El producto final deberá de ser líquido viscoso, en una mezcla final no menos del 30% en peso de fruta y teniendo en cuenta que los sólidos solubles deben oscilar entre el 40% y el 65% del peso final (Morales, 2010).

La mermelada debe de tener el color y el sabor apropiado para la fruta que fue utilizada. Además, el nombre comercial del producto final debe de indicar el producto del cual consiste, en el caso de una mermelada sin frutos cítricos, el nombre del producto se determina como “mermelada” más el tipo de fruta que se ha utilizado en la elaboración, por la tanto se denomina “mermelada de fresa” (Codex Stan-296, 2009). Algunas de sus características se muestran en el Cuadro 1.

1.1 Componentes de la mermelada

Las mermeladas son productos que tienen como ingredientes principales la fruta y azúcares y se obtienen por la cocción de estos hasta conseguir la viscosidad deseada. Son consideradas como productos de humedad intermedia (Boatella y col., 2004). Existen cuatro ingredientes esenciales en la elaboración de mermeladas: la fruta, el azúcar, la pectina y el ácido cítrico (Zhao, 2012).

Cuadro 1. Características de la mermelada. (Zhao, 2012)

| Característica | Mermelada |
|----------------|-----------|
|----------------|-----------|

| | |
|--|--|
| Textura | Espesa |
| Contenido de fruta: <ul style="list-style-type: none"> • Extra • Estándar | Mínimo 50% Mínimo 30% |
| Forma de presentación de la fruta <ul style="list-style-type: none"> • Extra • Estándar | Triturada Triturada o puré |
| Contenido de azúcares <ul style="list-style-type: none"> • Según • Norma en el mercado • Light en mercado | Mínimo 40% 46 a 50% 30 a 42% |
| Características fisicoquímicos <ul style="list-style-type: none"> • °Brix • pH | Entre 40 y 60 3.2 – 4.0 |
| Características microbiológicas | Estabilidad microbiológica después de 10 días a 35°C |
| Características organolépticas: <ul style="list-style-type: none"> • Color sometido al proceso de cocción • Olor • Sabor • Textura | Normal de la fruta madura sometida al proceso de cocción Características de la fruta Dulce, propio de la fruta Espesa o de gel blando |

1.1.1 Fresa

La fresa es una planta que pertenece a la familia de las Rosáceas, subfamilia Rosoideas y género *Fragaria*, que se origina del latín fragancia. Existían en el pasado más de 45 especies dentro del género *Fragaria*; hoy en día, según Folques, se reconocen 11 especies (Baraona, 1992).

Las variedades de fresa se clasifican en variedades de día corto y neutrales. Las primeras forman sus brotes en invierno, cuando los días se hacen cortos y las temperaturas bajan.

Las variedades de día corto florecen en primavera y empiezan a producir fruta en esta época. Por su parte, las variedades neutrales son insensibles a la longitud del día y producen fruta en la temporada en que las temperaturas bajan de noche a 15.5 °C.

La mayoría de materiales de fresa que se cultivan en México y en muchas regiones del mundo provienen de Estados Unidos. En México se cultivan variedades como Carisma, Camino Real, Albión, Diamante, Aromas, Oso Grande y Camarosa (Santoyo y Martínez, 2010).

La fresa aporta pocas calorías y sus componentes más abundantes después del agua son los carbohidratos. Además posee alto contenido de ácido cítrico y vitamina C, y en menores concentraciones vitamina E y vitamina B₅. El color rojo característico lo proporcionan las antocianinas que son pigmentos hidrosolubles. Los compuestos volátiles que proporcionan el aroma característico típico de esta fruta provienen de esteroides, alcoholes, ácidos, terpenos, carbonilos y furanos; principalmente furanol y mesifurano (Morales, 2010).

El 52.21% de la producción nacional de fresa se destina al mercado externo, por lo que esta fruta es un producto exitoso en el comercio internacional. México es el tercer proveedor de fresa fresca al mercado internacional con 14.83% del valor de las exportaciones mundiales. En particular, las exportaciones mexicanas representaron 87.79% de las importaciones de Estados Unidos (SAGARPA, 2017)

Es uno de los frutos altamente apreciados en el mundo por su sabor y riqueza de vitamina C y minerales (hierro, ácido fólico y ácido salicílico); además es un producto que tiene una amplia posibilidad de utilización industrial en la obtención de diferentes productos, como mermeladas, purés, concentrados o helados.

Esta fruta contiene propiedades diuréticas y antirreumáticas; ayuda contra el ácido úrico, gota y artritis; resulta ideal para disminuir el nivel de colesterol en la sangre, es antiinflamatoria y astringente (contra la diarrea); sus hojas se emplean para erradicar llagas de la boca (Santoyo, 2010). La fruta también es mineralizante, y posee virtudes antianémicas y reconstituyentes. Durante el desarrollo de las personas, el consumo de fresa es muy adecuado. Su ingesta es recomendable para personas diabéticas y

en durante la menopausia. Un uso que se le da a las hojas de la fresa es machacarlas y aplicarlas sobre la piel, como remedio para evitar arrugas; además, las hojas tiernas también se pueden consumir como verdura (Santoyo, 2010).

La fresa es muy apreciada para la elaboración de ensaladas de fruta, helados, jaleas y reposterías, debido a sus cualidades de color, aroma, y acidez. Sus azúcares son sacarosa, fructosa, glucosa y en menor cantidad maltosa (Shanmugam y col., 2017). Poseen ácido cítrico y málico, tartárico, salicílico y péctico (Baraona, 1992, Kallio y col., 2000).

El contenido nutritivo del fruto cambia según la variedad, volumen del fruto, fertilidad del suelo y condiciones climáticas. Los principales nutrientes se muestran en el Cuadro 2.

La fresa es una planta rastrera perenne: posee un tallo pequeño semi-subterráneo o rizoma y un tallo modificado denominado “la corona central” en el que se encuentran las yemas auxiliares que puedan dar origen a flores, a estolones o a las coronas secundarias, que son las que le dan forma de roseta a la planta. Una vez que la planta obtiene cierto desarrollo, aparecen los estolones o ramificaciones de la planta que producen hojas y raíces que llegan a convertirse en nuevas plantas.

Los estolones tienen capacidad de intercambiar agua y nutrientes entre la planta madre y sus hijos, lo que les permite sobrevivir en situaciones de poca humedad o daños radiculares. Una corona puede producir de 10 a 12 estolones: estos a su vez, tienen la capacidad de producir raíces, y estolones secundarios, lo que permite una producción de 4 a 6 plantas por estolón (Barona, 1992)

| Nutriente | Valor por cada 100 g |
|---------------|----------------------|
| Agua | 90.95 g |
| Carbohidratos | 7.68 g |

Cuadro 2.
nutricional del
(Ropero y col.,

| | |
|-----------------|---------|
| Azúcares | 4.89 g |
| Fibra total | 2.0 g |
| Proteína | 0.67 |
| Lípidos | 0.30 |
| Potasio | 153 mg |
| Ácido ascórbico | 58.8 mg |
| Fósforo | 24 mg |
| Calcio | 16 mg |

Composición
fruto de fresa.
2017)

El fruto es una infrutescencia, cuya parte carnosa corresponde al receptáculo, y los verdaderos frutos son los aqueninos conocidos como semillas que los recubren y se llaman aquenios Figura 1a. En la misma inflorescencia se pueden encontrar frutos primarios, secundarios y terciarios; el tamaño del fruto y el número de aquenios varía según el orden de aparición de frutos Figura 1b (Baraona, 1992).



Figura 1. Fruto de fresa (1a) y planta de fresa en campo con frutos en diferentes estados de madurez (1b).

Las fresas con destino al mercado fresco, deben cosecharse cuando el 75 por ciento de su superficie se ha puesto roja y el fruto está todavía firme, Figura 2 (Mitcham y col., UC Davis California). No obstante, para la industria se cosechan con mayor cobertura de color rojo.

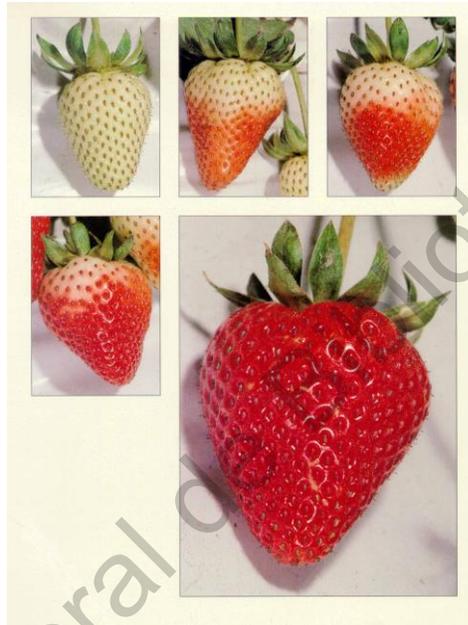


Figura 2. Estados de madurez de frutos de fresa (Don Edwards, UC Davis).

La fresa es muy perecedera y se deteriora dentro de los 2 o 3 días de la cosecha a temperatura ambiente. La temperatura es un factor muy importante en la duración de los frutos de fresa. A medida que la temperatura sube, estas berries se ablandan muy rápido y presentan desarrollo de hongos. Para que duren más tiempo, las fresas deben ser cosechadas cuando sale el sol, transportadas al lugar de procesamiento lo más rápido posible, y mantenidas a la sombra en un lugar fresco hasta su procesamiento (Alzamora, 2004; Mitcham, 2020).

1.1.2 Azúcar

El azúcar es un ingrediente esencial en estos productos. Desempeña un papel vital en la gelificación de la mermelada al combinarse con la pectina. Es importante señalar que la concentración de azúcar (sacarosa) en la mermelada debe impedir tanto la fermentación como la cristalización durante el almacenamiento. Resultan bastante estrechos los límites entre la probabilidad de que fermente una mermelada porque contiene poca cantidad de azúcar y aquellos en que puede cristalizar porque contiene demasiada azúcar (Zhao, 2012).

En las mermeladas en general la mejor combinación para mantener la calidad y conseguir una gelificación correcta y un buen sabor suele obtenerse cuando el 60% del peso final de la mermelada procede del azúcar añadido. La mermelada resultante contendrá un porcentaje de azúcar superior debido a los azúcares naturales presente en la fruta. Cuando la cantidad de azúcar añadida es inferior al 60% puede fermentar la mermelada y por ende se propicia el desarrollo de hongos y si es superior al 68% existe el riesgo de que cristalice parte del azúcar durante el almacenamiento (Cardona, 2014) El azúcar a utilizarse debe ser de preferencia azúcar blanca, porque permite mantener las características propias de color y sabor de la fruta. También puede utilizarse azúcar estándar especialmente para frutas de color oscuro como es el caso del sauco y las moras.

Cuando el azúcar es sometida a cocción en medio ácido, se produce la inversión de la sacarosa para obtener fructosa y glucosa que retardan o impiden la cristalización de la sacarosa en la mermelada, resultando por ello esencial para la buena conservación del producto el mantener un equilibrio entre la sacarosa y el azúcar invertido. Una baja inversión puede provocar la cristalización del azúcar de caña, y una elevada o total inversión, la granulación de la dextrosa. Por tanto el porcentaje óptimo de azúcar invertido está comprendido entre el 35 y 40% del azúcar total en la mermelada (Coronado, 2001).

1.1.3 Ácido cítrico

Si todas las frutas tuviesen idéntico contenido de pectina y ácido cítrico, la preparación de mermeladas sería una tarea simple, con poco riesgo de incurrir en fallas, sin embargo el contenido de ácido y de pectina varía entre las distintas clases de frutas.

El ácido cítrico es importante no solamente para la gelificación de la mermelada, azúcar-pectina, sino también para conferir brillo al color de la mermelada, mejora el sabor, ayuda a evitar la cristalización del azúcar y prolonga su tiempo de vida útil (Barret y col., 2004).

El ácido cítrico se añadirá antes de cocer la fruta ya que ayuda a extraer la pectina de la fruta. El ácido cítrico se vende en forma comercial bajo la forma granulada y tiene un aspecto parecido a la azúcar blanca, aunque también se puede utilizar el jugo de limón como fuente de ácido cítrico. La cantidad que se emplea de ácido cítrico varía entre 0.15 y 0.2% del peso total de la mermelada dependiendo del valor de pH inicial de la fruta (Coronado, 2001).

1.1.4 Pectina

Las frutas contienen en las paredes de sus células una sustancia natural gelificante que se denomina pectina. La cantidad y calidad de pectina presente, depende del tipo de fruta y de su estado de madurez. En la preparación de mermeladas la primera fase consiste en reblandecer la fruta de forma que se rompan las paredes de las células y extraer así la pectina (Flores, 2012).

La materia prima para la obtención de pectina proviene principalmente de la industria de frutas cítricas; es un subproducto extraído de las cáscaras y cortezas de naranjas, pomelos, limones y toronjas. Se encuentra en el albedo (parte blanca y esponjosa de la cáscara); también se obtiene pectina a partir del bagazo de la manzana y el membrillo (Coronado, 2001).

La fruta verde contiene la máxima cantidad de pectina; la fruta madura contiene algo menos. La pectina se extrae más fácilmente cuando la fruta se encuentra ligeramente verde y este proceso se ve favorecido en un medio ácido. Las proporciones correctas de pectina, ácido cítrico y azúcar son esenciales para tener éxito en la preparación de mermeladas (Thakur, 1997).

La composición, estructura y propiedades de las pectinas dependen de su fuente de origen y de las condiciones de obtención. Durante su proceso de obtención pueden ser transformadas en fracciones con diferentes características estructurales y funcionales (Muñoz, 2015).

Las pectinas industriales se clasifican en dos grandes grupos principales, dependiendo del mecanismo de gelificación: las pectinas altamente metoxiladas (HMP) que forman geles sólo si el contenido en sólidos solubles totales es superior al 55% (60-65% idealmente) y dentro de un intervalo restringido de pH (2.8 a 3.2), de estas se emplean de 0.8% a 1%; las pectinas de grado de metoxilación bajo (LMP) que poseen un grado de esterificación inferior al 50% y gelifican en intervalos más amplios de sólidos solubles y pH, en presencia de calcio (Nunez, 2007, Thakur, 2009). El método de estandarización de las pectinas de alto índice de metoxilo propuesto por el Institute of Food Technologists es el utilizado para definir el grado de gelificación de una pectina. Las pectinas comerciales de alto índice de metoxilo están estandarizadas y se pueden encontrar de grado 100 a 150 grados SAG (Boatella, 2004).

Están compuestas por distintos elementos estructurales; el homogalacturonano (HG) y el ramnogalacturonano I (RGI) constituyen la columna vertebral de la pectina junto con algunos azúcares frecuentes; mientras que el ramnogalacturonano II (RGII) representa complejas cadenas laterales unidas a HG.

El constituyente mayoritario de la pectina es HG (65%), el cual está formado por residuos de ácido galacturónico, unidos mediante enlaces α (1-4) y cuyos grupos

carboxilo están parcialmente metilesterificados en la posición 6. Además, este dominio puede encontrarse acetilado en la posición 2 ó 3 dependiendo de la procedencia de la pectina.

En el caso de RGI (20-30%), la columna vertebral está integrada por repetidos disacáridos constituidos por ramnosa y ácido galacturónico que también puede encontrarse acetilado en la posición 2 ó 3. En muchos casos, a través de los residuos de ramnosa se disponen las cadenas laterales, integradas por distintos azúcares neutros tales como galactosa y arabinosa (Muñoz, 2015).

El valor comercial de la pectina está dado por su capacidad para formar geles y su calidad se expresa en grados SAG que indican la cantidad de azúcar que esta pectina puede gelificar en condiciones óptimas. Los grados SAG son la cantidad en gramos de sacarosa que son gelificaos por 1 gramo de pectina en una solución acuosa de 65°Bx y valor de pH 3.2, aproximadamente, obteniéndose un gel de una consistencia determinada . Los grados SAG de la pectina extraída de la fruta varían con el grado de madurez, el proceso de extracción y las condiciones de almacenamiento de la pectina.

1.2 Formación de un gel de pectina

Una de las propiedades de la pectina de mucho interés en la industria de alimentos es su capacidad de formar geles en determinadas condiciones, cambios físicos o químicos que disminuyen la solubilidad de las moléculas de pectinas. El mecanismo de gelificación y las propiedades de los geles dependen directamente de factores como el pH, la temperatura y el grado de esterificación. Generalmente, las pectinas de elevada metilación tienden a formar geles en medios ácidos y en presencia de cantidades adecuadas de azúcar, mientras que las pectinas de bajo grado de esterificación forman geles en presencia de elementos alcalinos y calcio, (Thakur, 1997; Ochoa, 2013).

El grado de metilación o esterificación constituye un factor importante para la caracterización y determinación de la aplicación de la pectina. Se puede definir como,

el número de moles de metanol por 100 moles de ácido galacturónico. Las pectinas constituyen aquellas sustancias pecticas de composición variable, cuyo componente principal son los ácidos pectínicos solubles en agua, de contenido de metoxilo y grado de neutralización variables. Poseen la capacidad de formar geles con azúcares y ácidos en condiciones adecuadas (Ochoa, 2013).

Las pectinas de bajo metoxilo pueden formar geles en presencia de calcio, mientras que las de alto metoxilo gelifican a pH ácido (de modo que la repulsión electrostática entre los grupos ácido sea mínima) y en presencia de una concentración elevada de azúcar (que contribuye a deshidratar la solución). Estos geles son de uso frecuente en mermeladas, confituras y conservas de frutos (Ochoa, 2013).

Los factores más importantes que influyen en la formación del gel son:

Longitud de la molécula condiciona la rigidez o firmeza del gel. A valores de longitud muy bajos una pectina no forma geles, cualquiera que sea la dosis empleada y las restantes condiciones del medio (Thakur, 1997; Camacho, 2000).

Grado de metilación. Contribuye por un lado a regular la velocidad de gelificación y también es responsable de algunas propiedades organolépticas de los geles pectina-azúcar ácido que forman las pectinas de alto metoxilo (Camacho, 2000).

Proporción entre grupos hidrofóbicos e hidrofílicos. En la molécula de pectina determina la solubilidad de ésta. El grupo éster es menos hidrofílicos que el grupo ácido y en consecuencia una pectina de alto metoxilo con un alto grado de esterificación gelifica a temperaturas más altas que otra con menor grado de esterificación.

Esta diferencia se refleja en la clasificación de las pectinas en pectinas de gelificación rápida, normal o lenta.

Temperatura. Cuando se enfría una solución caliente que contiene pectina las energías térmicas de las moléculas decrecen y su tendencia a gelificar aumenta. Cualquier sistema que contenga pectina, tiene un límite superior de temperatura por

encima de la cual la gelificación nunca ocurrirá. Por debajo de esta temperatura crítica, las pectinas de bajo metoxilo gelifican casi instantáneamente mientras que la gelificación de las de alto metoxilo depende del tiempo. En contraste con las pectinas de bajo metoxilo, las de alto no son termorreversibles (Camacho, 2000).

pH. La pectina es un ácido con pH de aproximadamente 3,5. Un porcentaje alto de grupos ácido disociados respecto a no disociados hace la pectina más hidrofílica. Por lo tanto, la tendencia a gelificar aumenta considerablemente al bajar el pH. Esto se hace especialmente evidente en pectinas de alto metoxilo las cuales requieren normalmente un pH por debajo de 3,5 para gelificar (Camacho, 2000).

Azúcar y otros solutos similares. Estos hidratos de carbono, tienden generalmente a deshidratar las moléculas de pectina en solución. Cuantos más sólidos en solución hay, menos agua disponible para actuar como disolvente de la pectina y por lo tanto la tendencia a gelificar se favorece.

Las pectinas de bajo metoxilo puede gelificar a cualquier valor de sólidos solubles. La temperatura de gelificación disminuye al disminuir el contenido en sólidos solubles (Camacho, 2000).

1.3 Parámetros de calidad en la mermelada

Los parámetros de calidad de las mermeladas son la dulzura ($^{\circ}\text{Bx}$), ligera acidez (acidez titulable y pH), la consistencia pastosa y el sabor característico (sensorial) y parámetros microbiológicos (NMX-F-131-1982).

1.3.1 Grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$)

El parámetro de $^{\circ}\text{Bx}$ implica sacarosa en solución; es decir 1 $^{\circ}\text{Bx}$ es 1 gramo de sacarosa en una solución de 100 ml (Badui, 2012). Como las frutas contiene muchos compuestos solubles en agua, como por ejemplo, azúcares simples, ácidos orgánicos, vitamina C, aminoácidos o péptidos pequeños; los cuales conforman el contenido de sólidos solubles totales; se puede asumir, dado que la cantidad de

azúcares es lo que predomina, que los SST se pueden determinar a través de los °Bx.

El refractómetro en realidad mide el índice de refracción de una solución, algunos modelos poseen escalas calibradas que pueden obtenerse lecturas para peso específico, índice de refracción o ° Bx directamente. El índice de refracción es la relación entre la velocidad de la luz en una solución y el grado de desviación o refracción que es proporcional al peso específico de la solución (Dadzie y Orchard 1997). La mermelada tradicional de fresa debe contener como mínimo 64% de sólidos solubles totales o °Bx (NMX-F-131-1982).

1.3.2 Acidez titulable

Los ácidos orgánicos (cítrico, málico, oxálico, tartárico) son el otro importante componente del sabor de las frutas frescas y generalmente el ácido más usado para la preparación de mermeladas es el cítrico. La acidez titulable es la forma de expresar la acidez y se reporta en porcentaje (López, 2003).

Este parámetro se determina por la titulación de un volumen específico de muestra con NaOH 0.1N a pH=8.1 (método potenciométrico) o utilizando fenolftaleína como indicador ácido-base (método por titulación). Cuando se le añade indicador a la muestra a titular ésta permanece incolora y toma una coloración rosada cuando llega al punto de equivalencia o neutralidad (NMX-F-102-S-1978; Sierra, 2007).

1.3.3 pH

La mermelada debe llegar hasta un pH de 3.0 - 3.5, esto garantiza la conservación del producto (NMX-F-131-1982; Zhao, 2012). El ácido mayormente usado para las mermeladas es el ácido cítrico; con la finalidad de facilitar el cálculo para la adición este ácido se emplea el Cuadro 3.

En teoría el pH se lo define como el logaritmo negativo de la actividad (que es la concentración en la cual se ha hecho la corrección por fuerzas interiónicas) del ion hidrógeno: $\text{pH} = -\log_{10}[\text{H}^+]$.

Cuadro 3. Relación de pH y ácido cítrico a añadir en una formulación de una mermelada. (Barona, 2007)

| pH de la Pulpa | Cantidad de ácido cítrico a añadir |
|----------------|------------------------------------|
| 3.5 a 3.6 | 1 a 2 g/kg de pulpa |
| 3.6 a 4.0 | 3 a 4 g/kg de pulpa |
| 4.0 a 4.5 | 5 g/kg de pulpa |
| Más de 4.5 | Más de 5 g/kg de pulpa |

1.3.4 Actividad de agua (A_a)

La actividad de agua se define como la relación entre la presión de vapor de agua de un producto y la presión de vapor del agua pura, a la misma temperatura, por tanto, la actividad de agua se usa para caracterizar el estado de equilibrio (PVR) del agua en la atmosfera circúndate. Para alcanzar el equilibrio, habrá una transferencias de masa de agua del alimento al entorno o viceversa hasta llegar a dicho equilibrio, donde los valores de actividad de agua deben ser iguales en ambas fases a temperatura y presión constante (Ross, 2001).

Es con base en este valor empírico es que se puede predecir la estabilidad y la vida útil de un producto, y no con su contenido de humedad (Figura 3); además el valor de actividad de agua refleja el grado de interacción con los demás constituyentes, además de que se relaciona con la formulación, el control de los procesos de deshidratación y de rehidratación, la migración de la humedad en el almacenamiento y muchos otros factores.

Los diversos métodos de conservación se basan en el control de una o más de las variables que influyen en la estabilidad, es decir, actividad del agua, temperatura, pH, disponibilidad de nutrimentos y de reactivos, potencial de oxido-reducción, presión y presencia de conservadores.

En este sentido, la A_a es de fundamental importancia, y con base en ella se puede conocer el comportamiento de un producto. En la Figura 4 aparece su relación con el pH; la ubicación del alimento en este sencillo diagrama da una indicación clara de su estabilidad y contribuye a determinar la necesidad de tratamientos térmicos, de adición de conservadores, etcétera, para prolongar la vida de anaquel.

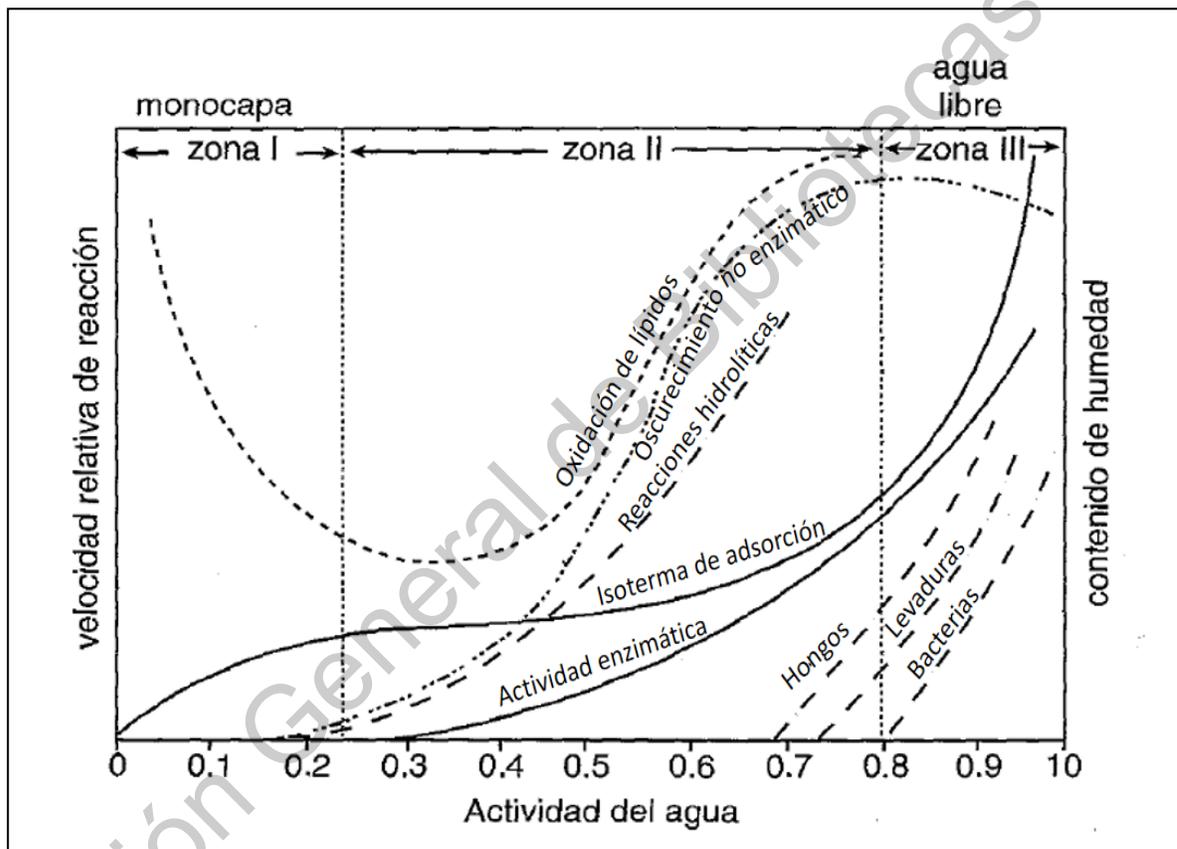


Figura 3. Cambios que ocurren en los alimentos en función de la actividad de agua (Badui, 2012).

Además de conocer el contenido de humedad de un producto, es imprescindible conocer si ésta está disponible para ciertas reacciones químicas, enzimáticas microbianas, o interactuando con otros solutos presentes en el alimento, como son, proteínas, carbohidratos, lípidos y vitaminas. Así, la actividad de agua (a_w) es quien dará la pauta para describir los cambios en el alimento.

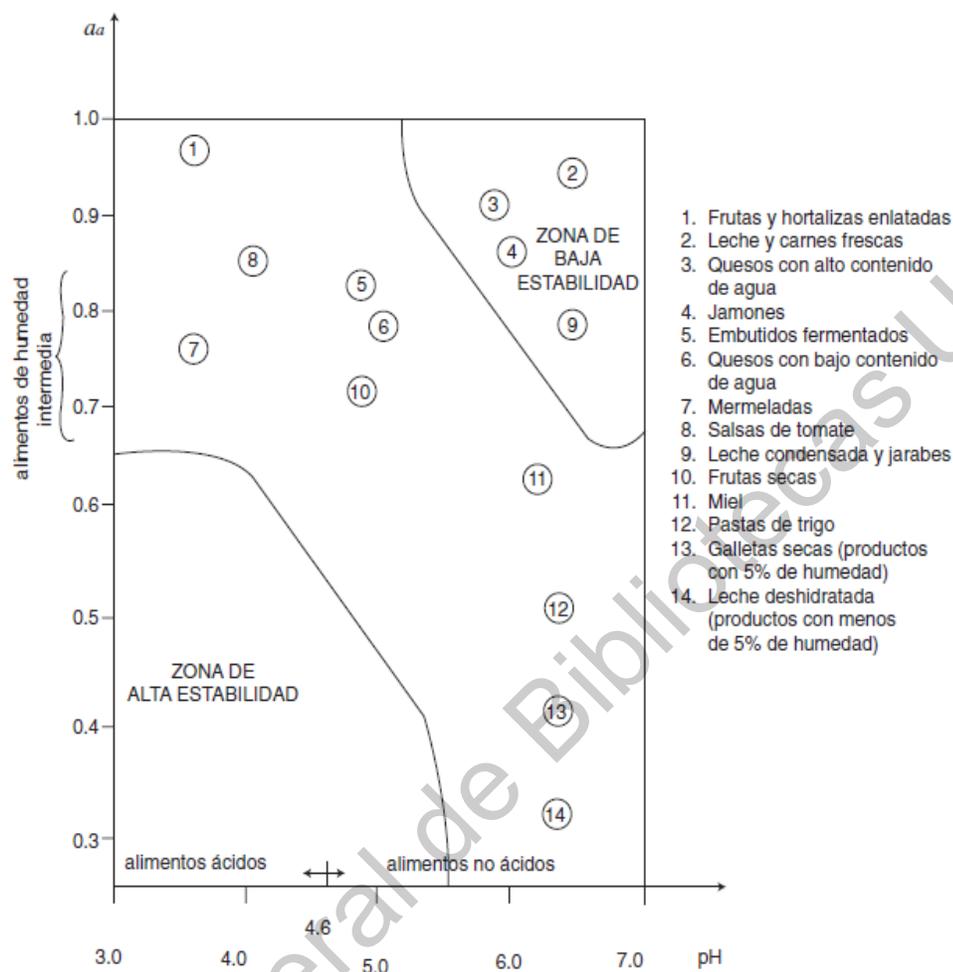


Figura 4. Influencia del valor de la A_w y del pH en la estabilidad de los alimentos (Badui, 2012)

En general, si un alimento tiene más alto el valor de A_w y más se acerca a 1.0, (valor del agua pura), mayor será su inestabilidad, por ejemplo, en carnes, frutas y vegetales frescos por lo cual estos alimentos requieren ser refrigerados durante su almacenamiento. Por el contrario, los alimentos estables a temperatura ambiente (excepto los tratados térmicamente y comercialmente estériles, como los enlatados), son bajos en su valor de A_w , entre ellos se encuentran los alimentos de humedad intermedia en los que el crecimiento microbiano es retardado (Labuza, 1980).

Según el estándar de identidad 21CFR, parte 113 del FDA (Food and Drug Administration, USA), un producto de baja acidez debe de contener un pH menor a 4.6 y una actividad de agua menor a 0.86. La mermelada siendo un producto de baja acidez tiene características físico-químicas que favorecen al retardo de crecimiento de la mayoría de microorganismos, menos hongos y levaduras, los cuales crecen en un rango de pH de 2.0 a 9.0 y condiciones con actividad de agua menor a 0.85 (Morales, 2010).

1.3.5 Calidad microbiológica

Los microorganismos que deterioran los alimentos están en función de las condiciones del medio ambiente que las rodea, y puede ser considerablemente influenciado por el pH y el contenido de humedad y actividad de agua del alimento. Adicionalmente, la velocidad del crecimiento de los microorganismos responsables del deterioro depende de la temperatura, de la humedad relativa atmosférica y de la composición de la atmósfera, especialmente del contenido de dióxido de carbono y oxígeno (Morales, 2007).

El recuento de bacterias, mohos y levaduras reflejan la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación, las condiciones higiénicas de la materia prima. Un recuento bajo de aerobios mesófilos no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena (Nore, 2008).

Los microorganismos aerobios mesófilos son la flora total compuesta por bacterias, hongos filamentosos y levaduras, aerobios estrictos o facultativos que presentan unas características térmicas intermedias. El análisis de esta grupo de microorganismos refleja la calidad sanitaria e higiénica de la elaboración del alimentos (Morales, 2007).

La presencia espontanea de hongos en los alimentos se les asocia con una exposición a fuentes de contaminación objetables. Cifras elevadas son propias

además, de alimentos faltos de frescura. Estos señalamientos tienen mayor validez en los alimentos de que han sido sometidos a algún proceso industrial. Las levaduras que desarrollan preferentemente a baja actividad de agua ($a_w > 0.7$) condicionada por la presencia de azúcares se califican osmófilas; en el caso de los hongos, se habla de xerófilos. Con frecuencia se usa ésta última para referirse a unos y otros. El límite particular de a_w que define a un microorganismo como xerófilo es 0.85. Los hongos xerófilos los podemos recuperar de diversos alimentos. Deterioran productos con A_a menor a 0.85 (nueces, granos, harinas, jarabes frutas concentradas, carne y pescado salado o parcialmente desecado, ciertos dulces y chocolates) en los que se encuentran muy limitada la competencia con otros microorganismos (Fernandez-Escartín, 2008).

La A_a tiene un efecto especial en la biología de los hongos. Las conidiosporas de *Aspergillus flavus* germinan pero no desarrollan a 0.75; eventualmente pierden su viabilidad. Si la a_w es menor, no germinan, pero se mantiene viables (Fernandez-Escartín, 2008). El Agar papa dextrosa es un medio simple general para hongos y levaduras con amplia aplicación en la microbiología de los alimentos. La inhibición de las bacterias se logra acidificando con ácido tartárico hasta pH 3.5.

La expresión del desarrollo de las levaduras en los alimentos se distingue del observado en los hongos. Mientras las primeras pueden proliferar en la masa interna del alimento (sólidos como quesos, o líquidos como jugos de frutas), los hongos se limitan ordinariamente a la superficie, visiblemente distintivos sin necesidad de aumento alguno. La mayoría de las levaduras desarrollan bien en aerobiosis; los procesos fermentativos ocurren en anaerobiosis. El desarrollo de las levaduras suele acompañarse de hinchamiento de los envases, lo que es impropio de los hongos. Muestran capacidad para crecer en niveles de pH muy ácidos. Aunque la mayoría tiene su crecimiento cuando la A_a está cercana a 0.88, algunas levaduras osmófilas tienen un límite de 0.78. (Fernández-Escartín, 2008).

Según la NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias, indica que para mermeladas, purés, jaleas y ate los límites máximos de microorganismo se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Límites máximos de microorganismos permitidos en mermeladas, purés, jaleas y ate de frutas.

| Microorganismo | Limite UFC/g |
|----------------------|--------------|
| Mesofílicos aerobios | 50 |
| Coliformes totales | Menos de 10 |
| Mohos y levaduras | Menos de 10 |

Según la NMX-F-131-1982, la mermelada de fresa debe cumplir con las especificaciones microbiológicas anotadas en el Cuadro 5.

Cuadro 5 Especificaciones microbiológicas para mermelada de fresa.

| Especificaciones | UFC/g Máx. |
|-----------------------------|------------|
| Mesofílicos aerobios | 50 |
| Organismos coliformes | 10 |
| Hongos y levaduras | 20 |
| Salmonella (en 25 g) | Negativo |
| Escherichia coli (en 0.1 g) | Negativo |

1.3.6 Defectos de las mermeladas

Durante el almacenamiento las mermeladas pueden presentar una serie de defectos los cuales pueden asociarse a diferentes factores; entre ellos se señalan los siguientes (Barona, 2007).

La consistencia de la mermelada no es pastosa-firma lo que deriva en una mermelada floja, este defecto puede deberse a:

- Una cocción prolongada que origina la hidrólisis de la pectina,

- Acidez demasiado elevada que rompe el sistema de redes, provocando la sinéresis del gel,
- Acidez demasiado baja que evita la buena gelificación de la pectina,
- Carencia de pectina en la fruta,
- Elevada cantidad de azúcar en relación a la cantidad de pectina,
- Gelificación por enfriamiento antes del envasado, origina una rotura de gel en el posterior envasado.

La sinéresis es cuando una mermelada exuda agua que debería estar atrapada por el gel, esto debido a un debilitamiento de las interacciones entre la pectina y el azúcar. Esto se puede dar debido a las siguientes causas, (Colquichagua, 2005):

- Acidez levada,
- Deficiencia o mala calidad de pectina,
- Exceso de agua en la fruta,
- Exceso de azúcar invertido.

La cristalización de la sacarosa durante el almacenamiento puede ser debido a:

- Elevada cantidad de azúcar,
- Acidez demasiado baja que origina la cristalización de la sacarosa,
- Exceso de cocción que una inversión excesiva de la sacarosa,
- La permanencia de la mermelada en las pailas de cocción u ollas, después del haberse hervido también da lugar a una inversión excesiva.

Los cambios en el color de la mermelada puede deberse a las siguientes causas:

- Cocción prolongada, da lugar a la caramelización del azúcar,
- Deficiente enfriamiento después del envasado,
- Contaminación con metales: el estaño, y el hierro y sales pueden originas un color oscuro. Los fosfatos de Magnesio y potasio, los oxalatos y otras sales de estos metales producen enturbiamiento.

El desarrollo hongos y levaduras en las mermeladas durante el almacenamiento puede deberse a las siguientes causas:

- Humedad excesiva en el almacenamiento,
- Contaminación anterior al cierre de los envases,
- Envases poco herméticos,
- Bajo contenido de sólidos solubles del producto, debajo de 63%,
- Contaminación debido a la mala esterilización de envases y de las tapas utilizadas,
- Sinéresis de la mermelada,
- Llenado de los envases a temperatura demasiado baja, menor a 85°C,
- Llenado de los envases a temperatura demasiado alta, mayor a 90°C.

1.4 Modificaciones a la formulación de mermelada de fresa

La mermelada de fresa es un producto en el que puede sustituir el azúcar por edulcorantes particularmente con mayor poder edulcorante y no calóricos; a su vez puede incorporarse fibra soluble para proporcionar un mejor beneficio a la salud.

1.4.1 Inulina

La inulina es un fructooligosacárido (FOS) considerado como un ingrediente alimentario natural y seguro. En Estados Unidos de América la inulina como sus derivados fueron aceptados como ingredientes GRAS (generalmente reconocido como seguro) por el FDA desde 1992, lo cual indica que pueden usarse sin restricciones en formulaciones alimenticias incluso en las destinadas para infantes (Coussement, 1999; Kaur, Gupta 2002).

Ésta se ha encontrado en unas 36,000 diferentes especies de plantas alrededor del mundo, después del almidón, es uno de los principales carbohidratos presentes en forma natural. La inulina tiene una historia muy amplia sobre su consumo a través de

granos, frutas y vegetales, así como los plátanos, tomates, cebollas, alcachofas, esparrago, cebada, trigo y centeno (Solís, 2008). Se ha demostrado que la inulina ayuda en muchas de las funciones metabólicas del ser humano, es considerada como prebiótico; es decir que su ingestión afecta beneficiosamente al huésped mediante la estimulación selectiva del crecimiento y / o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon.

La inulina nativa es una mezcla de cadenas de oligómeros y polímeros con un número variable de moléculas de fructosa, unidas por enlaces β (2 \rightarrow 1) que suele incluir en su extremo, una molécula de glucosa (Figura 5, Jacques-Hernández, 2008). Precisamente, la configuración β de este enlace es la que le confiere su carácter de fibra dietética (Flamm y col., 2001) ya que es la responsable de que la inulina sea resistente a la hidrólisis en el intestino delgado porque los enzimas digestivos que actúan en el mismo son específicos para los enlaces α -glicosídicos.

El grado de polimerización de las cadenas que la integran oscila entre 2 y 60 unidades, y suele caracterizarse por el grado de polimerización medio que en la inulina nativa es, aproximadamente, de 12. Mediante la hidrólisis enzimática parcial de la inulina nativa con una endo-inulinasa, se obtiene la oligofructosa, con un grado de polimerización que oscila entre 2 y 7 y cuyo valor medio es de 4. La inulina y sus derivados (oligofructosa, fructooligosacáridos) son generalmente llamados fructanos, que están constituidos básicamente por cadenas lineales de fructosa (Madrigal y Sangronis, 2007).

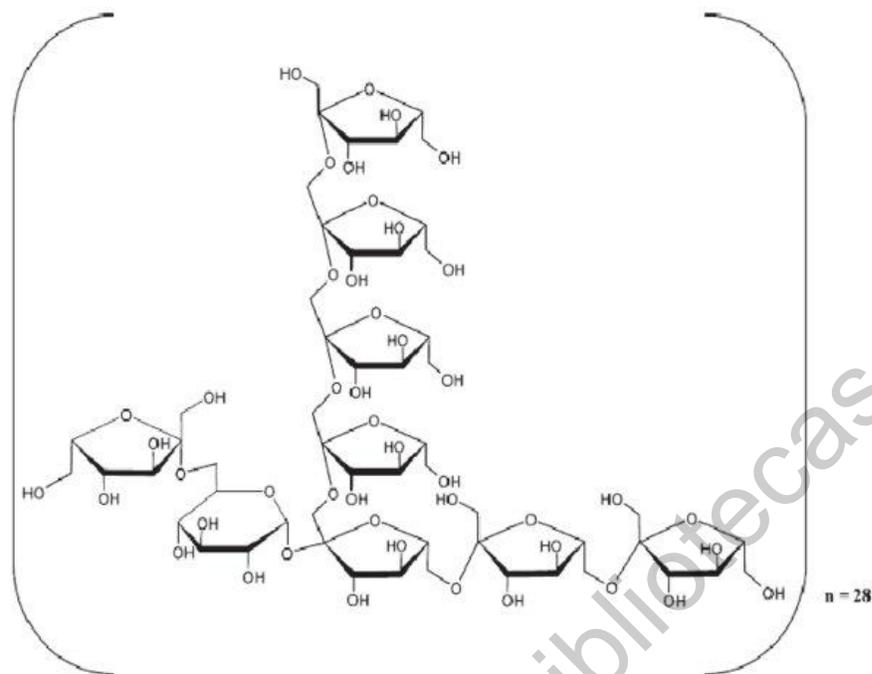


Figura 5. Estructura química de la inulina del Agave. Jacques-Hernández, 2008.

La inulina y los FOS son oligosacáricos (fibra soluble) que no son digeribles por las enzimas intestinales presentes en la superficie luminal del intestino delgado, α -amilasa, sacarasa y α -glucosidasa: por lo tanto, alcanzan la porción final del intestino, que, a partir del íleon inferior, contiene bacterias. La microbiota intestinal presente es capaz de metabolizar preferentemente de forma anaerobia los FOS, dando lugar a productos de degradación, como ácidos grasos de cadena corta y dióxido de carbono. En general, este metabolismo microbiano puede producir secreción fluida, aumento de la motilidad intestinal y calambres, como consecuencia del aumento de la presión osmótica intraluminal, distensión del intestino o irritación de la mucosa intestinal. Estudios experimentales *in vitro* han demostrado que, en el caso de los FOS, son metabolizados selectivamente por bifidobacterias (Roberfroid y col., 1999; Gil, 2010), y que ésta fermentación selectiva induce una disminución del pH del medio, debido a la producción de grandes cantidades de lactato y acetato, que inhiben el crecimiento de *E. coli* y *Clostridium* y de otras bacterias patógenas, como *Listeria*, *Shigella* o *Salmonella*. La fermentación selectiva de la inulina y los FOS por

las bifidobacteria también se ha demostrado en vivo mediante pruebas con voluntarios. La alimentación continua con inulina de 9 a 15 g/ día en tres dosis diarias produce un aumento de 6 a 22% en la población de bifidobacterias, así como la disminución de *E. coli* de 4 a 25% y de *Clostridium* de 0.2 a 1%. La población bacteriana total se mantiene constante, variando la correlación porcentual de las diferentes especies (Gil, 2010).

Aunque hay pocos trabajos en los que se comparen los efectos fisiológicos de las inulinas de distinto grado de polimerización, lo que sí es evidente es que aunque todos estos macronutrientes son fermentados por las bifidobacterias en el colon, la velocidad de fermentación depende de su grado de polimerización. La de los oligómeros con grado de polimerización inferior a 10 es, aproximadamente, el doble que la de las moléculas más largas por lo que, en función de la longitud de las cadenas, la fermentación se produce en zonas distintas del colon, la actividad metabólica tiene distinta duración y se pueden producir variaciones en su efecto fisiológico. Ello parece indicar que la utilización de inulinas de distinto grado de polimerización podría dar lugar a alimentos con diferentes efectos fisiológicos (Villegas, 2008).

Las propiedades físicas y químicas de las inulinas depende de su grado de polimerización, peso molecular y estructura; son compuestos solubles en agua y por lo tanto osmóticamente activas; su solubilidad en agua fría depende de su peso molecular, pues a menor peso molecular su solubilidad se incrementa y viceversa; son muy solubles en agua caliente y en alcohol diluido; pero insolubles en alcohol absoluto frío. Debido a su poder edulcorante relativamente bajo (0.4 a 0.6 veces el dulzor de la sacarosa) y a su bajo aporte calórico (1.5 Kcal/g) (Tungland y Meyer, 2002), los FOS se han convertido en importantes ingredientes para la elaboración de alimentos con menor cantidad de calorías, así como en la elaboración de alimentos dirigidos a personas con problemas de diabetes.

Los FOS tienen un sabor característico similar al azúcar, sin tener en cuenta sus características a bajas temperaturas. La capacidad de retención de agua es mayor que la del azúcar y similar a la del sorbitol (Molina, 2007).

1.5 Análisis sensorial

El análisis sensorial es la rama de la ciencia utilizada para obtener, medir, analizar e interpretar las reacciones a determinadas características de los alimentos y materiales, tal como son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído (Ibáñez, 2001).

El análisis sensorial se puede emplear para distintos objetivos:

- Distinción entre lotes o proveedores de un mismo producto,
- Caracterización de los cambios sensoriales en los alimentos o materias primas atribuibles a procesados o a variaciones naturales,
- Clasificar los productos de acuerdo con la calidad establecida,
- Establecer relaciones entre los datos objetivos y la aceptación por parte del consumidor,
- Obtener información sobre la capacidad de discriminación o aceptación de diferentes grupos sociales de consumidores frente a variaciones o nuevos tipos de producto acabado. (Sancho, 1999).

Debido a que los evaluadores son personas, hay varios factores que pueden influir en la evaluación sensorial, por ejemplo:

- Factores de actitud o personalidad, ya que existen distintos tipos de individuos de diferentes personalidades: analíticos, activos, cautelosos, etc.
- Motivación, muchas veces este factor puede hacer al individuo mucho más efectivo o sensible. Por ejemplo, personas con hambre reaccionan de diferentes maneras frente a un mismo producto.
- Errores psicológicos, tales como errores de posición, memoria, concentración, entre otros.

- Relaciones estímulo/percepción, esto se produce cuando el juez conoce como ha sido preparado el test y las muestras, y por lo tanto existe una influencia en su evaluación.
- Adaptación, cuando un estímulo actúa durante un período prolongado sobre el receptor, la respuesta sensorial puede disminuir, ya que tiene que ver con el umbral sensorial.

Si se desea obtener resultados confiables y válidos en los estudios sensoriales, el panel debe ser tratado como un instrumento científico. Toda prueba que incluya paneles sensoriales debe llevarse a cabo en condiciones controladas, utilizando diseños experimentales, métodos de prueba y análisis estadísticos apropiados. Solamente de esta manera el análisis sensorial podrá producir resultados consistentes y reproducibles (Watts, 1992).

Existen tres tipos de pruebas sensoriales; las pruebas afectivas y las pruebas analíticas; estas últimas se dividen en pruebas de diferencia y pruebas descriptivas (Meilgaard y col. 2016).

1.5.1 Pruebas descriptivas

En las pruebas descriptivas se trata de definir las propiedades del alimento y medidas de la manera más objetiva posible. Aquí no son importantes las preferencias o aversiones de los jueces, y no es tan importante saber si las diferencias entre las muestras son detectadas, sino cuál es la magnitud o intensidad de los atributos del alimento. Las pruebas descriptivas, por lo tanto, proporcionan mucha más información acerca del producto que las otras pruebas; sin embargo, son más difíciles de realizar, el entrenamiento de los jueces debe ser más intenso y monitorizado, y la interpretación de los resultados es ligeramente más laboriosa que en los otros tipos de pruebas (Anzaldúa, 1994). Consiste de 8 pasos generales: (1) reclutar a los panelistas, (2) desarrollar los términos descriptivos, (3) entrenar a los panelistas, (4) evaluar su desempeño, (5) realizar la prueba descriptiva, (6) analizar

los datos, (7) interpretar los resultados y (8) comunicar el resultado (Meilgaard y col. 2016).

1.5.2 Pruebas discriminativas

Las pruebas discriminativas son aquéllas en las que no se requiere conocer la sensación subjetiva que produce un alimento a una persona, sino que se desea establecer si hay diferencia o no entre dos o más muestras y, en algunos casos, la magnitud o importancia de esa diferencia. Estas pruebas son muy usadas en control de calidad para evaluar si las muestras de un lote están siendo producidas con una calidad uniforme, si son comparables a estándares, entre otros. Asimismo, por medio de ellas se puede determinar el efecto de modificaciones en las condiciones del proceso sobre la calidad sensorial del producto, las alteraciones introducidas por la sustitución de un ingrediente por otro (especialmente saborizantes y otros aditivos).

1.5.3 Pruebas afectivas

Las pruebas afectivas son aquéllas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o si lo prefiere a otro. Estas pruebas son las que presentan mayor variabilidad en los resultados y éstos son más difíciles de interpretar, ya que se trata de apreciaciones completamente personales. Es necesario, en primer lugar, determinar si se desea evaluar simplemente preferencia o grado de satisfacción (gusto o disgusto), o si también se quiere saber cuál es la aceptación que tiene el producto entre los consumidores, ya que en este último caso los cuestionarios deberán contener no solo preguntas acerca de la apreciación sensorial del alimento, sino también otras destinadas a conocer si la persona desearía o no adquirir el producto.

Para las pruebas afectivas es necesario contar con un mínimo de 50 jueces no entrenados, de preferencia ser consumidores habituales o potenciales y compradores del tipo de alimento en cuestión.

La prueba de preferencia es muy sencilla y consiste en pedirle al juez, que mencione cuál de las dos muestras prefiere. Es importante incluir en el cuestionario una sección para comentarios para que el paneslista pueda indicar por qué prefirió esa muestra en particular. Lo que se desea conocer es si los jueces prefieren una muestra sobre otra. Esta prueba es similar a una prueba discriminatoria de comparación apareada simple, pero con la diferencia de que en una prueba de preferencia no se busca determinar si los jueces pueden distinguir entre dos muestras, donde no importan sus gustos personales, sino que se evalúa si realmente prefieren determinada muestra.

Cuando se deben evaluar más de dos muestras a la vez, o cuando se desea obtener mayor información acerca de un producto, puede recurrirse a las pruebas de medición del grado de satisfacción. Estas son intentos para manejar más objetivamente datos tan subjetivos como son las respuestas de los jueces acerca de cuánto les gusta o les disgusta un alimento.

Para llevar a cabo estas pruebas se utilizan las escalas hedónicas. La palabra hedónico proviene del griego $\epsilon\delta\omicron\nu$, que significa placer. Por lo tanto, las escalas hedónicas son instrumentos de medición de las sensaciones placenteras o desagradables producidas por un alimento a quienes lo prueban.

Las escalas hedónicas pueden ser verbales o gráficas, y la elección del tipo de escala depende de la edad de los jueces y del número de muestras a evaluar. Las escalas hedónicas verbales son las que presentan a los jueces una descripción verbal de la sensación que les produce la muestra. Deben contener siempre un número no (impar) de puntos, y se debe incluir siempre el punto central <ni me gusta ni me disgusta>. A este punto se le asigna generalmente la calificación de cero. A los puntos de la escala por encima de este valor se les otorgan valores numéricos positivos, indicando que las muestras son agradables; en cambio, a los puntos por debajo del valor de indiferencia se les asignan valores negativos, correspondiendo a calificaciones de disgusto. Esta forma de asignar el valor numérico tiene la ventaja

de que facilita mucho los cálculos y es posible reconocer al primer vistazo si una muestra es agradable o desagradable.

Existen escalas hedónicas de tres puntos, que es la más sencilla posible. Dado el número tan pequeño de puntos, puede usarse solamente cuando la prueba se aplique a la evaluación de *una o dos muestras* a lo sumo. En el cuestionario no se indican los valores numéricos, sino sólo las descripciones, y el director de la prueba asignará los valores en la forma que se mencionó anteriormente al hacer la interpretación de los resultados.

Cuando se tienen más de dos muestras, o cuando es muy probable que dos o más muestras sean agradables (o las dos sean desagradables) para los jueces, es necesario utilizar escalas de más de tres puntos. Así la escala puede ampliarse a cinco, siete o nueve puntos, simplemente añadiendo diversos grados de gusto o disgusto, como por ejemplo Figura 6:

| | | | | | | | | |
|---------------------|-------------------|----------------------|---------------------|----------------------------|------------------|-------------------|----------------|------------------|
| Me disgusta extremo | Me disgusta mucho | Me disgusta moderado | Me disgusta un poco | Ni me gusta ni me disgusta | Me gusta un poco | Me gusta moderado | Me gusta mucho | Me gusta extremo |
|---------------------|-------------------|----------------------|---------------------|----------------------------|------------------|-------------------|----------------|------------------|

Figura 6. Ejemplo de una escala hedónica de 9 puntos.

1.6 Generalidades de la vida útil o de anaquel de los alimentos

Esencialmente la vida útil o de anaquel de un alimento, se define como el tiempo en el cual desde su elaboración un alimento conservará sus propiedades fisicoquímicas, organolépticas y nutricionales hasta que el producto se vuelve inaceptable para el consumidor o la normatividad (Hough y Fiszman, 2005); esta última se refiere a los límites de calidad previamente establecidos.

La vida útil abarca varias facetas del valor nutritivo incluyendo seguridad, valor alimenticio y características sensoriales. Cuando se afecta este valor nutritivo, esto

influye notablemente en las decisiones de compra del consumidor (Robertson, 1999).

Para las compañías de alimentos, la capacidad de un producto de conservar su calidad total durante la línea de proceso, distribución, comercialización y finalmente al consumidor, es el resultado de los intensos estudios para predecir su vida útil. Crear un producto con una vida útil fiable exige varios procesos y controles por el fabricante del alimento (Chica y Osorio, 2003).

Factores fundamentales que influyen en la vida de anaquel de un alimento:

- Formulación
- Procesamiento
- Empaque
- Condiciones de Almacenamiento

Formulación: Involucra la selección de las materias primas más apropiadas e ingredientes funcionales que asegurarán la integridad del alimento para la vida útil requerida. Con base en la naturaleza de los cambios que pueden ocurrir durante el almacenamiento, los alimentos se pueden dividir en: perecederos, semi perecederos o estables a temperatura ambiente, lo que se traduce en productos con corta vida útil, vida útil intermedia y larga vida útil (Robertson, 1999). Las características intrínsecas de los productos que afectan su vida útil son: contenido de humedad, actividad de agua (Aa), el pH, potencial de oxido-reducción, el contenido de oxígeno y la formulación del producto (adición de conservadores antimicrobianos y antioxidantes).

Procesamiento: Depende de las materias primas e ingredientes para disminuir condiciones desfavorables o deteriorativas indeseables, promoviendo cambios físicos y químicos deseables, concediendo así al producto alimenticio la forma y características finales.

Empaque y condiciones de almacenamiento: Los alimentos tienen diferentes requerimientos de empaque de acuerdo con su naturaleza y el tipo de protección requerida. Según la estructura del empaque se pueden obtener diferentes tipos de barreras al oxígeno, la luz, el vapor de agua (Humedad relativa) y los gases (Nicoli, 2012). Los diferentes materiales para el empaque de alimentos son: vidrio, metal, plástico y papel; cada uno con diferentes propiedades protectoras. El metal y el vidrio son materiales en esencia impermeables al paso de gases, olores y vapor de agua. Los materiales a base de papel son permeables y por esta razón se recubren por lo general con polímeros de plástico para asegurar una adecuada barrera. Los empaques plásticos proveen varios grados de protección dependiendo de la naturaleza del polímero empleado en su producción (Robertson, 2010; Nicoli, 2012).

Las condiciones de almacenamiento de los productos empacados puede favorecer el deterioro de los mismos a través de la transferencia de masa y calor que puede ocurrir a través del empaque. Por su parte, la temperatura a la cual se ve expuesto el producto durante su vida es de los mayores factores determinantes de su vida útil. Casi todos los alimentos se exponen a ambientes con temperaturas fluctuantes y es de gran importancia, para predecir de forma adecuada la vida útil del alimento, conocer la naturales de dichas variaciones (Robertson, 1999). Es importante entender estas variables para llegar a obtener un producto alimenticio constantemente de alta calidad y seguro.

El principal aspecto que limita la vida útil de un alimento es su calidad sanitaria; ningún alimento debe comprometer la salud de sus consumidores; y el segundo es el aspecto nutricional el cual se basa en el aporte de vitaminas y minerales como en las formulas infantiles las cuales deben conservar los niveles indicados durante todo su periodo de vida útil. Una vez logradas estas barreras el límite de la vida útil es el aspecto sensorial, el cual tiene un gran impacto sobre la opinión del consumidor (Hough y Fiszman, 2005).

Durante el almacenamiento de los alimentos se puede determinar la vida útil o su estabilidad. En un estudio de vida útil el principal interés es definir el periodo que tarda el producto en deteriorarse; mientras que en los estudios de estabilidad lo principal es la evolución de determinada característica a lo largo del tiempo (Robertson, 2010).

1.6.1 Tipos y mecanismos de deterioro

Los alimentos son sistemas complejos desde el punto de vista de su composición química, biológica y física. Por su parte, las mermeladas dependiendo de su composición pueden verse afectadas por diferentes mecanismos y estos se definirán a través del conocimiento de la naturaleza de sus ingredientes. Mientras que, la mayor parte de las investigaciones realizadas sobre reacciones químicas han sido hechas en modelos simples de uno, dos o pocos reactantes, la situación en los alimentos es mucho más compleja y difícil de elucidar, ya que muchas reacciones son interactivas e interdependientes. La tecnología de alimentos no es otra cosa que hacer esfuerzos para que el deterioro se detenga o disminuya; es decir, lo que conocemos como conservación de alimentos. Sin embargo, es importante reconocer que la conservación de alimentos tiene límites y que el deterioro continúa causando daños económicos. En general, los tipos de deterioro de los alimentos se clasifican en cuatro grandes categorías: biológicos, químicos, físicos y nutricionales (Hough y Fiszman, 2005):

- Biológicos. Causados por agentes biológicos exógenos.
- Químicos. Incluyen reacciones como oxidación, rancidez, hidrólisis, cambios enzimáticos, pardeamiento no enzimático, polimerizaciones y condensaciones.
- Físicos. Cambios de humedad, endurecimiento, ablandamiento, apelmazamiento, migración de grasas, cristalización, retrogradación de almidones (físico-químico), cambios de color (asociado a cambios químicos), sinéresis, coalescencia de emulsiones y otros.

- Nutricionales. Reducción de la concentración de vitaminas (oxidación, reducción de funcionalidad, hidrólisis), formación de complejos antinutricionales, formación de subproductos de reacción dañinos.

Para una mayor comprensión de los mecanismos del deterioro se deben considerar dos aspectos: la velocidad de las reacciones de deterioro y los aspectos organolépticos y afectivos del deterioro de los alimentos. Por ejemplo, en un producto que en su composición contiene mayoritariamente almidón, el mecanismo de deterioro que se esperaría que siguiera el producto a lo largo del tiempo, sería la retrogradación del almidón, generando un problema en la calidad y en su vida de anaquel (Fennema, 2010).

1.6.2 Estudios de almacenamiento

Los estudios de almacenamiento se realizan para productos cuya vida útil es inferior a 6 meses (Morales 2014). De acuerdo con Robertson (2010) es importante definir los criterios para evaluar el final de la vida útil del producto y los límites aceptables de dichos criterios o variables. De manera similar se debe definir la duración del estudio, ya sea haciendo uso de datos existentes o realizando pruebas preliminares. La elección de muestras representativas, que reflejen la variabilidad de la producción es importante considerarla; así como la cantidad de ellas. Para el caso de análisis no destructivos la misma muestra puede emplearse a lo largo del todo el estudio. Por el contrario, cuando se realizan análisis destructivos se debe emplear un mayor número de muestras que vengan del mismo lote y que sean lo más homogénea posible. Es importante definir la frecuencia del muestreo considerando el período donde se estime es más probable que el producto falle.

1.6.3 Estudios de almacenamiento acelerado

Cuando se trate de productos cuya vida útil supera los 6 meses se emplean los estudios de almacenamiento acelerado. Se basa en someter el producto a condiciones de almacenamiento que aceleren las reacciones de deterioro, las que se

denominan abusivas, que pueden ser temperaturas, exposición a la luz blanca, a presiones parciales de oxígeno y contenidos de humedad altos (Hough, 2010). El objetivo de este método es almacenar producto/empaque terminados, bajo condiciones de abuso, examinar el producto periódicamente hasta que ocurra el final de la vida de anaquel, y entonces usar estos resultados para proyectar la vida de anaquel bajo condiciones de verdadera distribución (Chica y Osorio, 2003). Es importante considerar que en estas pruebas aceleradas pueden ocurrir reacciones que no ocurrirían en condiciones normales.

1.7 Diseños aplicables a los estudios de vida útil

1.7.1 Diseño básico

Consiste en almacenar el lote de muestras bajo las condiciones previamente fijadas e ir realizando los muestreos a las frecuencias determinadas. En cada muestreo se realizan los análisis correspondientes (Figura 7). Esto implica el almacenamiento de todas las muestras el día cero (Hough y Fiszman, 2005). Una ventaja de este diseño es que se realiza una única tanda de producción, pero la principal desventaja es que los análisis deben hacerse en cada muestreo.

En el diseño básico a su vez existen el diseño parcialmente escalonado y el escalonado. El parcialmente escalonado las muestras se almacenan en la condición de temperatura a evaluar y cada periodo de tiempo se toma una muestra representativa y se analiza sensorial y fisicoquímicamente; la desventaja de dicho método es que se tienen que hacer los análisis en cada periodo de muestreo. Por su parte el método escalonado se almacenan muestras a la temperatura de estudio y el muestreo se incrementa cuando se presenta el deterioro en las muestras (Giraldo, 1999).

1.7.2 Diseño reversa

En el diseño reversa se almacenan la muestra en la condición de abuso y cada periodo de tiempo se saca una muestra y se conserva a una temperatura de no

deterioro; es decir, donde se detenga el deterioro; de manera que, al final de la etapa de almacenamiento se tenga muestras con diferente tiempo de almacenamiento en la condición de deterioro (Figura 8).

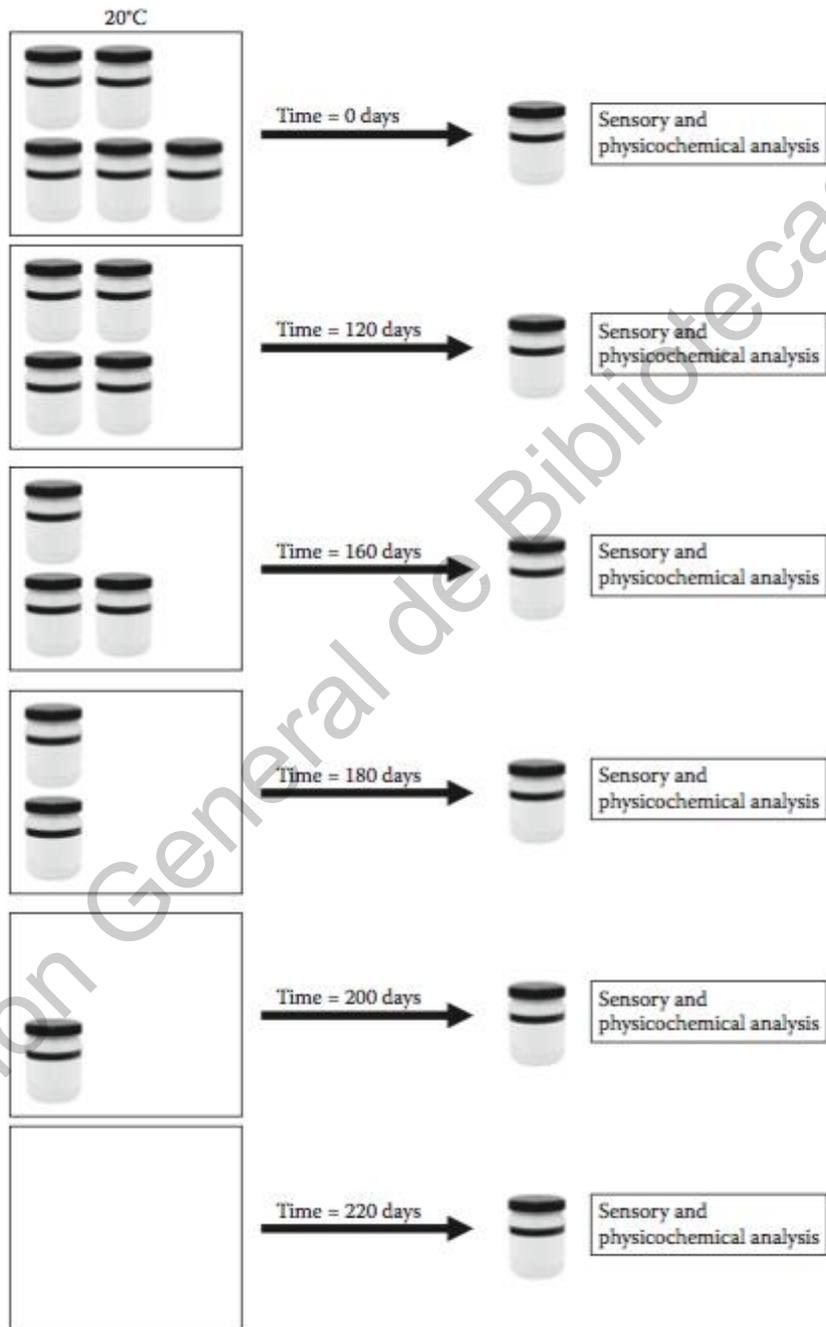


Figura 7. Ejemplo de un diseño básico de mayonesa almacenada a 20°C, (tomada de Hough y Fiszman, 2005).



Figura 8. Ejemplo de un diseño reversa para pan, (tomada de Hough y Fiszman, 2005).

La ventaja de este método es que se analizan las muestras en una misma ocasión; la desventaja es que requiere una condición de almacenamiento para guardar la muestra hasta que termine el periodo evaluado.

1.7.3 Almacenamiento acelerado

En el otro enfoque se asume que ciertos principios de cinética química se aplican con respecto a una dependencia de temperatura, como la relación de Arrhenius, y se utiliza un diseño más elaborado. Este segundo método es definitivamente más complejo y más costoso, pero logrará mejores resultados. El factor de aceleración está definido como el incremento en la velocidad de la reacción al incrementarse la temperatura en 10 °C, este valor puede ser calculado a partir de la información proveniente de los ensayos de almacenamiento realizados a dos o más temperaturas. Sin embargo es importante definir si el alimento si presenta velocidades cinéticas de deterioro para poder aplicar dichos métodos (Chica y Osorio, 2003).

Las mermeladas son productos muy estables en el tiempo, en la literatura se reportan tiempos de vida útil de entre 6 meses y dos años para mermeladas, tanto de frutas como de vegetales (Belmares y col., 2009, Aroca, 2010). Las características que proveen esta larga vida útil a las mermeladas son (Robertson, 2010; Zhao, 2012):

- Contenido de sólidos solubles de aproximadamente el 65%: este contenido de sólidos incrementa la presión osmótica del líquido disminuyendo el agua disponible para los microorganismos.
- Actividad de agua entre 0,80 y 0,86: el a_w es lo suficientemente bajo como para inhibir el crecimiento de bacterias y levaduras, aunque no para prevenir el ataque de mohos.
- El proceso de concentración elimina microorganismos patógenos en el producto terminado debido a que involucra temperaturas de ebullición.
- El pH que se encuentra entre 3,2 y 3,5 previene el crecimiento de la mayoría de

microorganismos al crear un medio ácido.

Por lo anterior, resulta importante conocer el efecto de la sustitución parcial de sacarosa por inulina en una mermelada de fresa en la vida de anaquel. Por lo que en este trabajo, una vez establecidas las formulaciones, las mermeladas se evaluaron a lo largo del almacenamiento en condiciones de temperaturas controladas en los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para determinar su vida de anaquel.

Dirección General de Bibliotecas UNQ

2. HIPÓTESIS

La disminución de sacarosa por adición de inulina en una mermelada de fresa no afecta su vida de anaquel.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General

Elaborar una mermelada de fresa adicionada con inulina, evaluar su aceptación y determinar su vida de anaquel.

3.2 Objetivos Específicos

3.2.1 Desarrollar una formulación tradicional a base de mermelada de fresa.

3.2.2 Determinar el nivel de agrado de una mermelada con sustitución de sacarosa por inulina a través de un análisis sensorial.

3.2.3 Evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas de las mermeladas durante el almacenamiento en condiciones controladas (25, 35 y 45°C).

3.2.3 Estimar la vida de anaquel de las mermeladas.

4. METODOLOGÍA

El trabajo se realizó en la planta piloto de alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos y los análisis fisicoquímicos en el laboratorio de Bioquímica y Fisiología Poscosecha de Frutas y Hortalizas del Departamento de Investigación y Posgrado en Alimentos de la misma facultad.

4.1 Estrategia experimental

Las Figuras 9 y 10 muestran la estrategia experimental seguida en el presente trabajo. Se elaboró la mermelada tradicional con azúcar estándar. El porcentaje de sustitución de azúcar por inulina se determinó a través de una evaluación sensorial, sustituyendo el 1, 5 y 10 % del azúcar necesaria (Figura 9) para lograr obtener una mermelada que cumpla los parámetros de calidad para su consumo. El estudio de vida de anaquel de las mermeladas se muestra en la Figura 10. La mermelada con inulina mejor aceptada así como la mermelada tradicional se almacenaron a 25, 35 y 45 °C para ser evaluadas periódicamente en sus parámetros de calidad (actividad de agua, pH, acidez titulable y calidad microbiológica; hongos, levaduras y mesófilos aerobios); el valor de °Bx y el contenido de fructanos se determinaron al inicio y al final del periodo de almacenamiento. El valor calórico de las mermeladas se determinó al final del almacenamiento por calorimetría diferencial de barrido. Con los datos obtenidos se evaluó los factores de deterioro para poder determinar su vida de anaquel; la unidad experimental fue de 3 frascos de mermelada y las mediciones se realizaron por triplicado; y por duplicado para la calorimetría que. El análisis estadístico de los datos se realizó usando el paquete estadístico JMP versión 8 .

Fresa festival

42

Selección Lavado/Sanitizado

Dirección General de Bibliotecas UAQ

Figura 9. Diagrama de elaboración de mermelada de fresa tradicional y adicionada con Inulina.

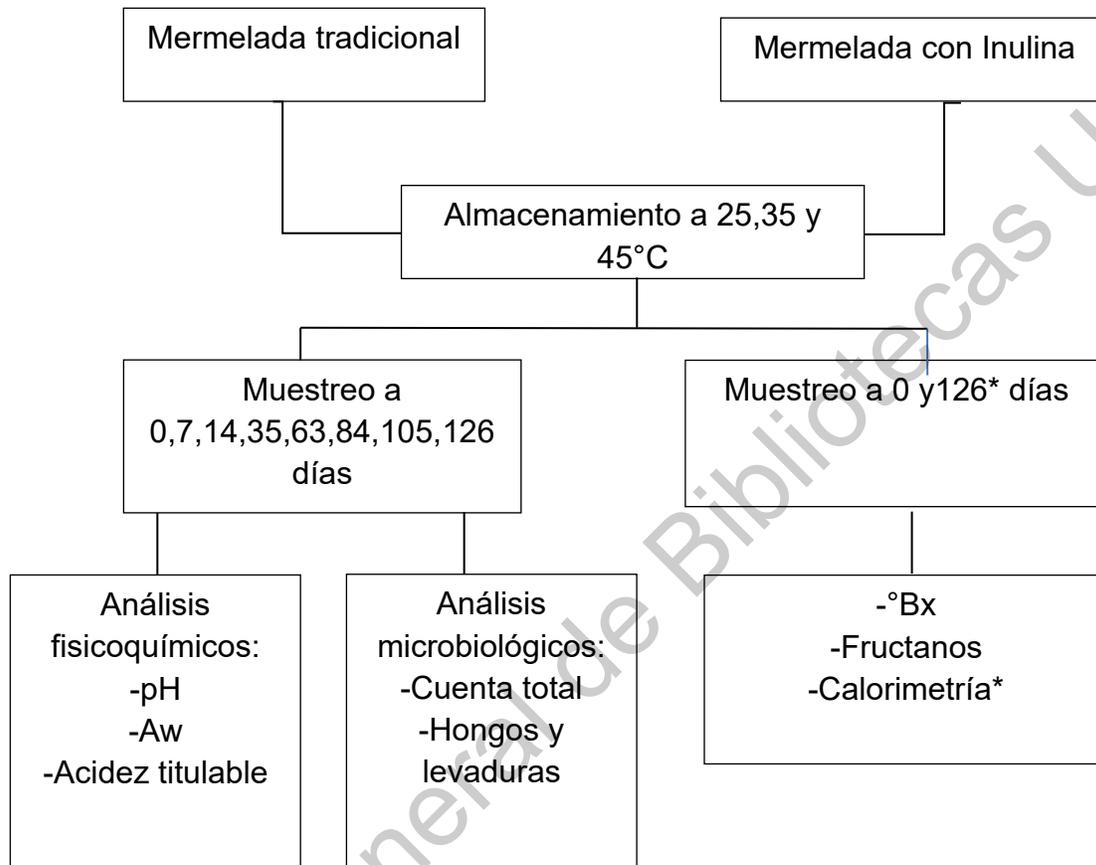


Figura 10. Estrategia para el estudio de vida de anaquel

4.2.1 Material biológico

La fresa de la variedad Festival, adquirida en el año 2014, se obtuvo de la central de bastos de la ciudad de Querétaro, Qro., la cual estaba libre de defectos y/o pudriciones.

4.2.2 Ingredientes

Los ingredientes necesarios para las formulaciones de mermelada fueron obtenidos de comercializadoras de materias primas locales; en particular se usó pectina cítrica o de 150 SAG, azúcar estándar, ácido cítrico. La inulina utilizada fue de agave de la marca Preventy ®.

4.2.3 Reactivos

Para los análisis microbiológicos se usó agar papa dextrosa, agar cuenta estándar, diluyente de peptona, agua destilada, ácido tartárico, rosa de bengala e hidróxido de sodio NaOH 0.1 N, los cuales se adquirieron de casas comerciales locales.

4.3 Elaboración de mermeladas

4.3.1 Elaboración de la mermelada tradicional

La elaboración de la mermelada tradicional es aquella donde el dulzor es proporcionado por la sacarosa adicionada y algo que aporta la fruta. Para su elaboración se seleccionó la fruta eliminando aquella que estuviera dañada o podrida. Después de pesar la fruta entera, ésta se lavó con agua corriente y posteriormente se desinfectó con una solución de cloro a una concentración de 0.05%, por un tiempo de 5 min. Se enjuagó la fruta con abundante agua para eliminar el exceso de cloro. Una vez sanitizada, se eliminaron las hojas de los sépalos y se dejó libre el receptáculo, se volvió a pesar para determinar la cantidad de los demás ingredientes. Para la formulación se tomó como referencia el planteamiento de la FAO (2004), el cual indica que una mermelada debe tener 50% de fruta y 50% de azúcar añadida. De tal manera que la formulación que se empleó fue la siguiente:

- 9 kg de fresa
- 9 kg de azúcar (sacarosa)
- 40 g de ácido cítrico
- 90 g de pectina

Una vez determinados los ingredientes, la fruta y 2/3 de la sacarosa se llevaron a la marmita y se inició el proceso de cocción. Una vez disuelta el azúcar se dejó concentrar hirviendo suavemente (a 85°C) hasta reducir a un 1/3 de su volumen. Este proceso duró aproximadamente de 25 min. Se ajustó el pH entre 3.0-3.5 adicionando el ácido cítrico. Una vez logrado 55-60°Bx y pH de 3.0 a 3.5 se añadió el azúcar restante mezclado en seco con la pectina en forma de lluvia, para facilitar su disolución, el proceso térmico continuó hasta concentrarse a 65-68°Bx.

Una vez alcanzado el punto de gelificación (104°C) se retiró de inmediato la mermelada de la fuente de calor. Se vació la mermelada a frascos de boca ancha limpios, sanitizados (250 ppm de hipoclorito de sodio por 10 min) y secos. Como la mermelada se colocó en los frascos a 85°C; esta temperatura nos permitió esterilizar la tapa con la misma, para esto se dejaron los frascos perfectamente cerrados boca abajo durante 5 minutos, posteriormente se regresaron a la posición vertical para permitir el enfriamiento y la formación del gel característico dentro del envase.

4.3.2 Elaboración de mermelada de fresa adicionada con inulina

Para obtener la formulación de la mermelada de fresa adicionada con inulina, el proceso se dividió en tres etapas.

En la primera se prepararon soluciones de inulina para determinar el valor de grados Brix que éstas proporcionan. Aunque se sabe que un grado brix (°Bx) se refiere a 1% de sacarosa en solución (Badui, 2012) y que este parámetro se usa como criterio del proceso (FAO, 2004) fue necesario determinar si la inulina tenía la capacidad de refractar la luz de manera que su concentración pueda observarse por el incremento en el valor de °Bx. Para esto se prepararon soluciones con 0, 1, 5 y 10% de inulina en agua destilada. En el refractómetro Hanna Instruments HI 96801 a 20 °C se

determinó el valor de °Brix. Estos resultados nos permitieron seleccionar la cantidad de sacarosa que pudimos disminuir y sustituirla por la inulina comercial.

En la segunda parte se evaluó la etapa del proceso en donde se adiciona la inulina y la manera de adición; es decir en solución o en polvo, probándose desde el inicio del proceso, cuando se adiciona las 2/3 partes del azúcar o en el momento de adición del 1/3 de azúcar junto con la pectina.

Una vez obtenidas las condiciones, se elaboraron mermeladas con concentraciones de 1, 5 y 10% con las cuales se realizó una prueba sensorial afectiva del nivel de agrado (o satisfacción) con consumidores no entrenados.

4.4 Evaluación sensorial de mermelada de fresa tradicional y adicionada con inulina

La evaluación sensorial afectiva de satisfacción de las mermeladas desarrolladas se realizó a 50 panelistas no entrenados que evaluaron los atributos de color, la apariencia, la textura y el sabor de cada una de las muestras de manera independiente (Figura 11). Se utilizaron 10 gramos de producto. Las muestras se codificaron aleatoriamente al igual que el orden de presentación de las mismas sobre la base de un diseño estadístico con una distribución completamente al azar. Previo a la prueba sensorial se realizó un análisis microbiológico a las mermeladas para asegurar la inocuidad de la muestra.

Las pruebas se realizaron en la planta piloto de alimentos de la Facultad de Química, (Figura 12). Para cada mermelada se entregó una hoja de evaluación con una escala hedónica de 9 puntos, siendo 1 el menor grado de satisfacción (me disgusta muchísimo) y 9 el mayor (me gusta muchísimo); los resultados se promediaron y se determinó el grado de aceptación para cada tipo. Se realizó un análisis estadístico para evidenciar si existe diferencia significativa entre las muestras y a la formulación más aceptada se evaluó su vida de anaquel.

Análisis sensorial de mermelada de fresa

Código _____ Género _____ Edad _____

Evalúa en el orden mostrado, cada una de las características de las siguientes muestras. Marca con una X tu respuesta.

| | Color | Sabor | Textura | Apariencia |
|----------------------------|-------|-------|---------|------------|
| Muestra | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me gusta muchísimo | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me gusta mucho | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me gusta | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me gusta poco | ----- | ----- | ----- | ----- |
| No me gusta ni me disgusta | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me disgusta poco | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me disgusta | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me disgusta mucho | ----- | ----- | ----- | ----- |
| Me disgusta muchísimo | ----- | ----- | ----- | ----- |

Comentarios u observaciones _____

Figura 11. Formato de evaluación para la prueba sensorial de mermelada de fresa.



Figura 12. Aplicación de una prueba sensorial para mermelada de fresa.

4.5 Diseño de la prueba de vida de anaquel de mermeladas de fresa: tradicional y adicionada con inulina

Dado que las mermeladas deben ser seguras y tener una calidad aceptable cuando se consuman, el tiempo de vida es un aspecto esencial del diseño del producto y para su control se requiere de buenas prácticas de manufactura. El estudio de la vida de anaquel se realizó con el método parcialmente escalonado (Giraldo, 1999) durante 4.5 meses de almacenamiento a diferentes temperaturas. Dicho método se utilizó para estudiar el cambio de la propiedad que determinará la vida útil de las mermeladas. Las temperaturas a las cuales se sometieron las mermeladas fueron de 25, 35 y 45°C. En esta evaluación se analizaron diferentes parámetros. Primeramente se analizó la carga microbiana de cada muestra, una vez tomada la muestra para el análisis microbiológico se determinaron los siguientes parámetros fisicoquímicos, actividad de agua, pH, y acidez titulable. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. La determinación de sólidos solubles y el contenido de fructanos se realizaron al inicio y al final del periodo de almacenamiento y el valor de calorimetría solo al final.

4.5.1 Determinación de la carga microbiana

En el Laboratorio de Inocuidad Microbiana de los Alimentos del Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos de la Facultad de Química en la Universidad Autónoma de Querétaro, se realizaron recuentos de grupos microbianos relevantes como: bacterias mesófilas aerobias (BMA) y hongos y levaduras (H/L) usando el método de diluciones seriadas 10^{-1} y vaciado en placa (NOM-092-SSA1-1994; NOM-111-SSA1-1994). Para el muestreo, de cada temperatura (25, 35 y 45°C) y de cada tratamiento (inulina y control) se pesaron en una bolsa de plástico 10 g de mermelada a los cuales se le adicionaron 90 mL de diluyente de peptona, la muestra se llevó al stomacher por 1 min velocidad normal; se tomó una alícuota de 1 mL el cual fue vaciado en un tubo de ensaye que contenía 9 mL de diluyente de peptona para realizar la dilución; otro mililitro se colocó en una caja Petri por duplicado; una para BMA y otra para H/L. Posteriormente el tubo anterior se colocó en un vortex donde se agitó aproximadamente 30 segundos.

Se tomaron dos mililitros de éste y se colocaron 1 ml en cada una de dos cajas Petri; y así sucesivamente hasta la dilución deseada. Una vez colocada la muestra en las cajas Petri se vació el agar de cuenta estándar para determinar BMA y en otras cajas agar para dextrosa (APD) adicionando ácido tartárico (pH 3.5) y rosa de bengala para el recuento de H/L. El recuento de BMA se realizó después de 24 a 48 hrs de incubación a 35°C (NOM-092-SSA1-1994) y el recuento de H/L se realizó 3-5 días después de la incubación a 22°C (NOM-111-SSA1-1994).

4.5.2 Determinación del valor de actividad de agua (a_a)

La actividad de agua (a_a) fue determinada en el equipo Aqualab® modelo Series 3TE (Decagon, Pullman, Estados Unidos). Para determinar el valor de a_a , el método usado por el equipo es el punto de rocío. El equipo se conectó a la corriente eléctrica por 30 min previamente a su uso y se calibró usando agua tri-distilada ($A_a = 1.0$). La muestra se colocó en la celda especialmente adaptada al equipo Aqualab® cuidando de no poner más de $\frac{3}{4}$ del volumen de la misma.

4.5.3 Determinación de potencial de hidrógeno (pH)

La determinación de pH se realizó directamente en la mermelada usando un potenciómetro digital marca Oakton (Eutech Instruments), previamente calibrado con soluciones buffer a pH = 4.0, 7.0 y 10.0.

4.5.4 Determinación de acidez titulable

Para la cuantificación de la acidez se siguió el método 942.15 descrito en la AOAC con algunas modificaciones. Tradicionalmente este parámetro se realiza con el uso del indicador fenolftaleína que vira de incoloro a un rosado característico a pH neutro. Sin embargo la muestra de mermelada presenta color rosado que no permite

observar el punto final de la titulación; de manera que este valor se determinó usando el potenciómetro el cual registró el cambio de pH al momento de adicionar NaOH 0.1 N. La acidez titulable se realizó pesando 5.0 g de mermelada, agregándole 30mL de agua destilada, se dejó reposar y se filtró y posteriormente se tomó una alícuota de 5 mL en un matraz Erlen-Meyer de 250 mL, se adicionó NaOH 0.1 N mientras se monitoreaba el pH hasta llega a un pH=8.2. Se registró el volumen de hidróxido de sodio gastado para determinar el % de acidez titulable, usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{acidez titulable} = \left[\frac{(\text{mL gastados NaOH})(N_{\text{NaOH}})(\text{meq}_{\text{ácido}})}{(\text{peso muestra (g)})} \right] * 100$$

N_{NaOH} es el valor de normalidad de la solución de NaOH usado para el análisis.

$\text{meq}_{\text{ácido}}$ es el valor de miliequivalentes del ácido de referencia; en este caso se tomará al ácido cítrico (0.064).

4.5.5 Determinación de sólidos solubles totales (°Bx)

La determinación de sólidos solubles totales o grados Brix se realizó siguiendo el método 932.14 descrito en la AOAC. Se utilizó un refractómetro Hanna Instruments HI 96801 a 20 °C con una precisión de 0.01 °Bx. El resultado se expresó como como °Brix.

4.6 Determinación de fructanos

El contenido de fructanos totales se realizó con ayuda de un kit comercial “Fructan HK Assay” de Megazyme®, siguiendo el método enzimático y espectrofotométrico 999.03 de la AOAC (McCleary y Murphy, 2000).

El principio del método se basa en que la sacarosa, maltosa, maltodextrinas y almidón presentes en la muestra son hidrolizados a D-glucosa y D-fructosa, por acción de las enzimas Sacarasa/Maltasa, los azúcares reductores formados en

presencia de borohidruro de sodio se reducen a sus correspondientes alcoholes; D-sorbitol y D-manitol. Los fructanos nativos y los FOS son azúcares no reductores y no se ven afectados por esta reacción; de manera que la acción de la fructanasa (*exo*-inulinasa y *endo*-inulinasa) sobre los fructanos y FOS libera los residuos de D-fructosa y D-glucosa que son cuantificados por la reacción de reducción usando el método de PAHBAH (hidrazida del ácido *p*-hidroxibenzoico, Sigma cat. no. H-9882). El PAHBAH reacciona con los azúcares reductores presentes en las muestras evidenciándose por el desarrollo de color amarillo que puede determinarse su absorbancia a 410 nm. Este método no requiere de realizar una curva estándar ya que el uso de varios reactivos los cuales se describen en el Anexo 1.

Extracción de fructanos: Para cada muestra se pesaron 0.05 g y se mezclaron con 40 mL de agua destilada en un vaso de precipitado, la mezcla se mantuvo con agitación constante y en calentamiento (80 °C) durante 15 minutos. Una vez fría a temperatura ambiente, la mezcla se completó a un volumen de 100 mL.

Eliminación de sacarosa, almidón y azúcares reductores: En un tubo de ensaye se colocaron 200 µL de la enzima A (solución de sacarasa/amilasa) y 200 µL de la muestra en cuestión, se incubaron a 40°C durante 30 minutos, para lograr una completa hidrólisis enzimática del almidón y la sacarosa presentes en la muestra. Luego se agregaron 200 µL de borohidruro alcalino y se continuó con la incubación a 40°C durante 30 minutos más, esto se realizó con la finalidad de completar la reducción de los azúcares reductores a azúcares alcohol. Después se agregaron 500 µL de ácido acético 2.0 M y se ajustó el pH a 4.5, se agitó en vortex para remover el exceso de borohidruro.

Hidrólisis y medición: Una vez eliminado tanto el almidón, la sacarosa y los azúcares reductores, en la muestra solo quedaron los fructanos los cuales se hidrolizaron para poderlos cuantificar como azúcares reductores. Para cada muestra a analizar, se colocaron 200 µL de la solución anterior en 3 tubos, a los 2 primeros se les agregó 1µL de la enzima B (fructanasa) para hidrolizar el fructano contenido en las muestras

a azúcares reductores (glucosa y fructosa), y al tercero 200 µL de buffer 2 (buffer acetato de sodio 0.1 M), este tubo se consideró como el blanco de muestra; es decir sin la acción de la enzima fructanasa.

Se usaron 5 tubos más; uno para el blanco de reactivos y 4 para la muestra estándar de fructosa. Para el blanco de reactivos se agregaron 300 µL de buffer 2 (buffer acetato de sodio 0.1 M). Se preparó el estándar de D-fructosa, primeramente se tomarán 200 µL de la solución estándar de D-fructosa que viene en el Kit (1.5 mg/ml) a los cuales se le añadió 900 mL de Buffer 2 (acetato de sodio 100 mM, pH 4,5), se mezcló perfectamente y se tomaron alícuotas de 200 µL de esta solución (la concentración final en cada tubo fue de 54,5 g de D-fructosa) las cuales se colocaron por cuadruplicado en tubos de ensaye a los cuales se les adicionó 100 µL del buffer 2.

Desarrollo de la reacción para la cuantificación: A todos los tubos; tanto a las muestras, como blanco y estándar, se les agregaron 5 mL de PAHBAH, se incubaron en baño de agua a 100°C por 6 minutos y posteriormente se colocaron en agua a 18 - 20°C por 5 minutos. Al finalizar el tiempo, se midió la absorbancia a 410 nm en el espectrómetro Perkin Elmer Instruments Lambda 40 UV/VIS (Norwalk, USA).

Cálculos: Para determinar el porcentaje del fructanos (contenido de fructanos) en la muestra se utilizó la siguiente fórmula.

$$\%fructanos(p/p) = \Delta_A \times F \times 5 \times V \times \frac{1.1}{0.2} \times \frac{100}{W} \times \frac{1}{1000} \times \frac{162}{180}$$

$$\%fructanos(p/p) = \Delta_A \times F \times \frac{V}{W} \times 2.48$$

Donde:

$\Delta_A =$ [promedio de la absorbancia de la muestra (tubos 1 y 2)] – [absorbancia del blanco (tubo 3)].

F = Factor para convertir valores de absorbancia a μg de D-fructosa (McCleary y Murphy, 2000).

F=(54.5 μg D – fructosa)/(absorbancia para 54.5 μg D – fructosa).

5 = Factor para convertir de 0.2 mL analizados a 1.0 mL.

V = volumen (mL) de extracto usado.

W = Peso (mg) de muestra extraída.

100/W = Factor para expresar los fructanos como porcentaje de peso de la muestra.

1/1000 = Factor de conversión de μg a mg.

162/180 = Factor para convertir de D-fructosa libre, como fue determinado, a anhidrofructosa e anhidroglucosa como ocurre en fructanos (McCleary y Murphy, 2000).

4.7 Determinación del contenido calórico de los productos

El método usado para determinar el aporte calórico de las mermeladas fue usando un Calorímetro Automático Isoperibólico 6400 basados en el método descrito por Ramos 2007. La determinación se realizó en el Centro Nacional de Investigación Disciplinaria (CENID) de Fisiología y mejoramiento animal del INIFAP; Colón, Querétaro.

Las muestras de mermelada tradicional e inulina se colocaron independientemente en vasos previamente puestos a peso constante y se sometieron a congelación (-20°C) (Figura 13a). Una vez congeladas se pesó aproximadamente un gramo de cada muestra en la celda previamente a peso constante (Figura 13b). La celda fue colocada en el balde o soporte que es donde se lleva a cabo la combustión dentro del equipo (Figura 13c). Posterior a esto se enlazó la muestra a un hilo de ignición, procurando que dicho hilo solo tuviera contacto con la muestra, finalmente se introdujo el soporte que contenía la muestra a la bomba y se activó la ignición. Los análisis se realizaron por duplicado.

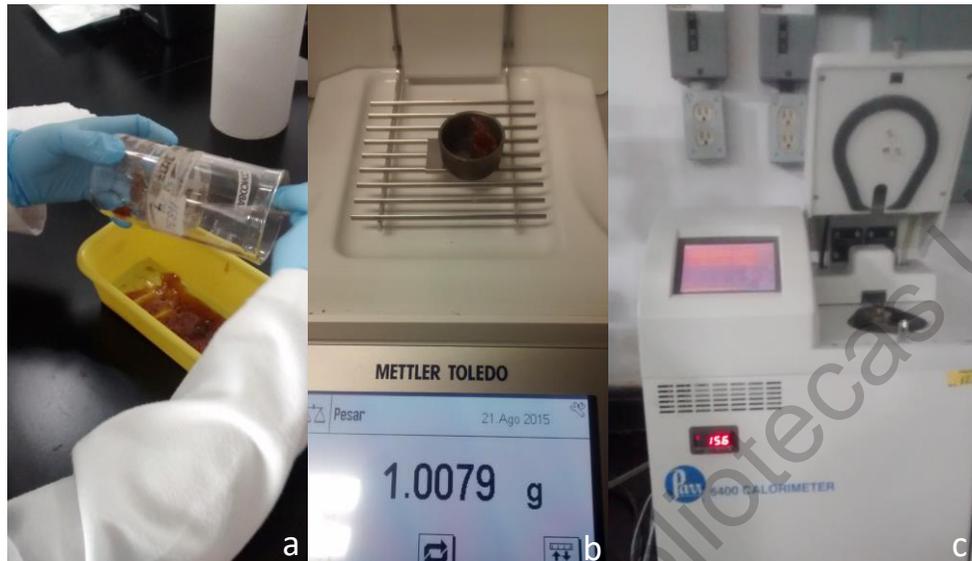


Figura 13. Calorímetro Isoperibólico usando para determinar el aporte calórico de las mermeladas Ramos 2007.

4.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la prueba sensorial se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis en el paquete estadístico JMP versión 8 (Siegel, 1988). Los resultados de los análisis fisicoquímicos se analizaron en el paquete estadístico JMP versión 8, cuando se presentaron diferencias en las medias, éstas se compararon por Tukey a una probabilidad de 0.5.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Elaboración de mermelada de fresa adicionada con inulina

5.1.1 Equivalencia de °BX de inulina y sacarosa

El valor de °Bx para una mermelada debe estar a 65°Bx (Zhao, 2012). Como se pretendía sustituir una parte de la sacarosa por la inulina fue necesario determinar si ésta aportaba valor de °Bx; para esto se prepararon soluciones de inulina con agua destilada a concentraciones de 1, 5 y 10%. Para la solución de 1% se pesaron 0.25

g de inulina, para la de 5% se pesaron 1.25 g de inulina y para la de 10% se pesaron 2.5 g de inulina. Todas las soluciones se aforaron a 25 mL con agua destilada. Una vez hechas las soluciones se leyeron los grados Brix a 20 °C; los resultados se muestran en el Cuadro 6. Se puede observar que el aporte de inulina en grados Brix es similar al de la sacarosa por lo cual se consideró que aportan los mismos grados brix.

Cuadro 6. Grados Brix de las soluciones de inulina.

| Concentración de inulina (%) | °Bx |
|------------------------------|-----|
| 1 | 1 |
| 5 | 4.6 |
| 10 | 9.1 |

La recomendación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) es una ingesta de 27 a 40g de fibra dietética al día de diferentes fuentes; mientras que la FDA propone que para adultos el consumo sea de 25 g de fibra por cada 2000 kcal por día. Por otro lado Kolida y Gibson (2007) determinaron que una cantidad de 5 a 8 g de inulina diaria son suficientes para lograr un efecto favorable en la flora intestinal. Respecto a las cantidades recomendadas del consumo de inulina, existen varios estudios sobre la dosis efectiva para que esta presente efecto prebiótico. La mayoría de los estudios *in vivo* han utilizado dosis que varían desde 8 a 40g diarios. La inulina se utiliza para incrementar el contenido de fibra dietética en la formulación de alimentos, habitualmente se utiliza intervalos de 3 a 6 g por porción y en otros casos se ha reportado que se puede usar por arriba de 10g por porción (Coussementp, 1995). En este trabajo se elaboraron mermeladas sustituyendo el 1, 5 y 10 % de sacarosa por inulina.

Madrigal y Sangronis (2007), reportaron que la inulina comercial es un polvo blanco de sabor neutro, contiene 8g/100g de azúcares simples con una solubilidad en agua

alta (120g/L a 25°C) y con un dulzor de 10 con respecto al 100 de la sacarosa; y usado como ingrediente presenta sinergismo con agentes gelificantes.

5.1.2 Etapa y forma de adición de inulina

La forma de adición y la etapa en el proceso de elaboración de la mermelada fueron importante determinarlos. Durante la elaboración de la mermelada tradicional se indica que primeramente se debe agregar la fruta y 2/3 del azúcar necesaria para comenzar el proceso de cocción (Figura 9). En la última etapa del proceso se agrega el tercio faltante junto con la pectina para favorecer la dispersión de la misma después de ajustar el pH de 3.0 a 3.5.

Para determinar en qué etapa de elaboración de la mermelada se debía adicionar la inulina se realizaron pruebas preliminares. Dado que la inulina es un polisacárido de fructosas y que a pesar de que sus enlaces predominantes del tipo β -1-2 (Figura 5); estos pueden ser susceptibles a la hidrólisis ácida durante la elaboración de la mermelada; por lo cual se decidió agregar la inulina en la última parte del proceso. Sin embargo la formación de espuma característica en la mermelada de fresa en esta etapa fue mayor con la incorporación de la inulina lo que dificultó la operación de envasado del producto; este problema puede evitarse si el proceso de cocción se hubiera realizado en un marmita acondicionada con vacío. La marmita usada en la elaboración de las mermeladas fue a presión atmosférica.

En pruebas preliminares se determinó la etapa de adición de la inulina usando la concentración de 5% de sustitución de la sacarosa. Se tomaron 314 gramos de fresa y, teniendo en consideración la relación que por cada kilogramo de fruta se agrega un kilogramo de azúcar, se consideraron 314 gramos de azúcar común. Para la prueba se usaron por tanto 298 g de azúcar y 15.7 gramos de inulina, los demás ingredientes se calcularon a la formulación total; de manera que para la pectina fueron 3.33 g y 0.47 g de ácido cítrico. Las condiciones iniciales de la fresa fueron

6°Bx y un pH de 3.17. El Cuadro 7 muestra los valores de °Bx y pH al final del proceso de elaboración de mermelada con inulina en las dos diferentes etapas del proceso. Se puede observar que no hay diferencia en estos parámetros; de manera que se decidió agregar la inulina en la primera etapa de adición de azúcar con la ventaja de que no se forma un exceso de espuma que facilitó la operación de envasado.

Cuadro 7. Parámetros finales de ambos tipos de mermeladas.

| Mezcla | °Bx | pH |
|------------------------|------|------|
| Inulina-azúcar | 66.5 | 3.54 |
| Inulina-pectina-azúcar | 67.2 | 3.47 |

5.2 Evaluación sensorial de mermeladas de fresa adicionada con inulina

Se elaboraron tres formulaciones de mermelada de fresa con inulina; al 1, 5 y 10% de sustitución de la sacarosa como se describió anteriormente. Para determinar el grado de aceptación de las mermeladas con inulina se realizó una prueba sensorial con 50 panelistas no entrenados, a los cuales se les pidió que evaluaran diferentes características de las mermeladas (color, apariencia, textura, sabor y aceptación general; Figura 12), comparando con una mermelada de fresa sin adición de inulina (tradicional). Los resultados obtenidos de la prueba de aceptabilidad con escala hedónica de 9 puntos se muestran en el Cuadro 8 y la Figura 14.

Se aprecia que las mermeladas con inulina presentan mejores atributos de calidad comparadas con la mermelada tradicional; en particular la apariencia general, la textura y la aceptación son mejor en las mermeladas con inulina y a mayor concentración de esta. Madrigal y Sangronis (2007) reportaron que la inulina usada como ingrediente presenta sinergismo con agentes gelificantes, en las mermeladas se usó pectina como agente gelificante y esto muy probablemente mejoró la textura y por ende la apariencia ya que los panelistas reportaron que el desempeño de la

mermelada sobre el pan fue más agradable; es decir, más untosas y por tanto esto provoco una mejor aceptación.

Por su parte, el color de la mermelada no se ve afectado de manera significativa con la sustitución de sacarosa por inulina; sin embargo al 5% el color se reportó más brillante que la mermelada control. Por su parte el sabor de las mermeladas fue similar entre ellas independientemente de la sustitución de inulina. La mermelada con 10% de sustitución de la sacarosa presento una textura pastosa.

Cuadro 8. Resultados de la evaluación sensorial de mermeladas de fresa. Letras diferentes indican diferencias significativa a $p < 0.5$.

| Muestra | Apariencia | Color | Textura | Sabor | Aceptación |
|----------------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------------------|
| 799 (5% de inulina) | 7.64 ^a | 7.34 ^a | 7.3 ^a | 7.32 ^a | 29.6 ^a |
| 465 (10% de inulina) | 7.16 ^{ab} | 7.36 ^a | 6.66 ^{ab} | 7.14 ^a | 28.32 ^{ab} |
| 714 (1% de inulina) | 6.74 ^{bc} | 6.88 ^a | 6.22 ^{bc} | 7.12 ^a | 26.96 ^{bc} |
| 270 control | 6.36 ^c | 5.96 ^b | 5.76 ^c | 6.68 ^a | 24.76 ^c |

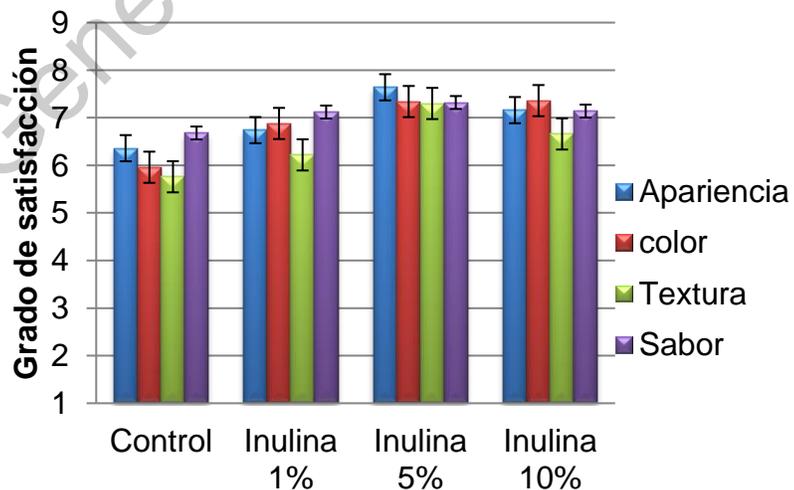


Figura 14. Grado de satisfacción de parámetros de calidad en mermeladas de fresa.

El análisis estadístico de los datos indicó que la formulación con 5% de inulina fue la de mayor grado de aceptación general; por lo tanto esta se seleccionó para determinar su vida de útil. fue la que se elaboró para evaluar su vida útil, durante 4.5 meses a temperaturas controladas de 25, 35 y 45 °C. Como se muestra en la Figura 10, los muestreos se realizaron a los 0, 7, 14, 35, 63, 84, 105 y 126 días para los parámetros microbiológicos, pH, actividad de agua y acidez titulable.

5.3 Evaluación de la vida útil

5.3.1 Análisis microbiológicos

La Figura 15 muestra los resultados del recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA) para las mermeladas control y con 5% de sustitución de inulina durante el almacenamiento a 25, 35 y 45 °C.

Los resultados muestran que las mermeladas no presentan carga microbiana al inicio del almacenamiento y hasta los 35 días en las tres condiciones de temperatura. Después de ese tiempo se evidencia la presencia de BMA en las muestras de mermeladas analizadas, en particular a 25 y 35 °C y de manera discreta a 45°C sin sobre pasar, de manera general, el límite establecido por la NOM-111-SSA1-1994.

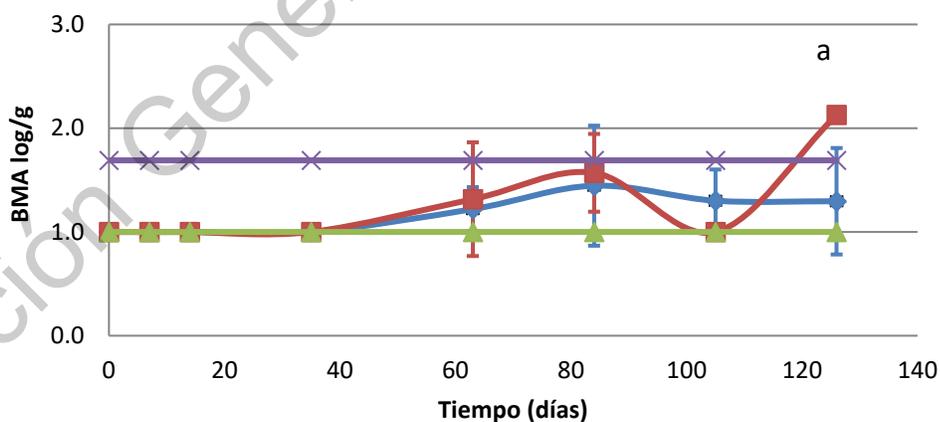
En las muestras almacenadas a 25 y 35 °C a los 63 días se pudo evidenciar desarrollo de BMA que coincide con la disminución del valor de pH en las muestras analizadas (Figura 16). Después de ese tiempo mostraron un comportamiento atípico con presencia y ausencia de BMA.

Además los valores de actividad de agua para esas condiciones de almacenamiento también presentan una discreta disminución; sin embargo no disminuyeron por debajo de 0.8 (Figura 17). Como ya se indicó, este crecimiento de BMA no supero el límite establecido por la norma (50 UFC/g = 50 Máximo) sino hasta el día 126 y solo para la muestra con inulina.

Labuza (1982) reportó que a bajos valores de pH y una concentración de 65°Bx o mayor no puede existir crecimiento microbiano, debido a la presión osmótica que este alimento puede presentar sobre las bacterias.

Los microorganismos presentan la capacidad de contaminar, sobrevivir y eventualmente desarrollar en los alimentos (Fernández-Escartín, 2008). Las mermeladas se envasaron en caliente (>80°C) pero en condiciones ambientales y posiblemente estas muestras pudieron contaminarse al momento del envasado y las bacterias sobrevivir al estrés de bajo pH y alto concentración de °Bx (68 °Bx); Durante el análisis microbiológico la muestra se diluye en agua peptonada y a pH de 7.0, estas condiciones pueden favorecer la expresión de desarrollo de las BMA que sobrevivieron durante el almacenamiento de las mermeladas.

Al comparar los recuentos microbiológicos de las muestras analizadas con la NMX-F-131-1982 y la NOM-092-SSA1-1994, se demuestra que las mermeladas tienen una aceptable calidad microbiológica desde los primeros días de almacenamiento hasta el final del estudio.



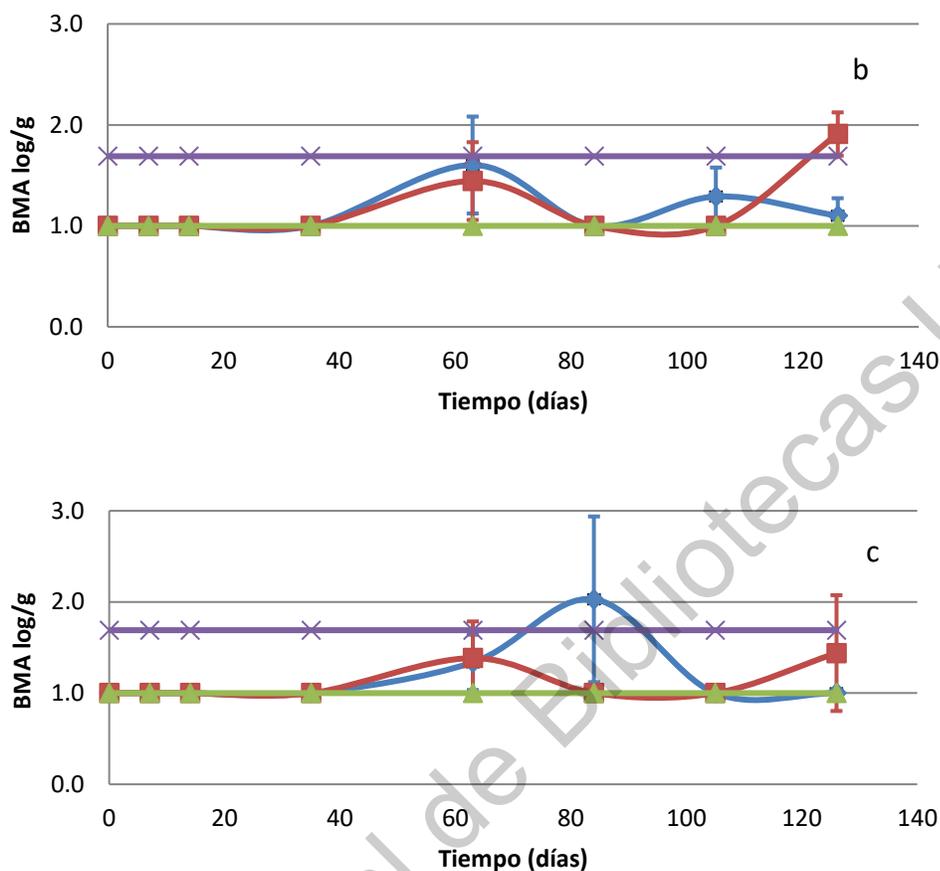


Figura 15. Bacterias mesófilas aerobias en mermelada de fresa a 25 (a), 35 (b) y 45°C (c). Línea azul corresponde a mermelada tradicional, línea roja a mermelada con inulina, línea verde a límite de detección y línea morada al límite de la NOM-092-SSA1-1994.

Esto porque en las muestras se reportó ausencia de desarrollo de hongos y levaduras (Cuadro 9); aunque para las BMA, se evidencio la presencia de posibles sobrevivientes en las mermeladas durante el almacenamiento pero que no lograron desarrollar en las muestras debido a que los conteos se encuentran muy por debajo del límite permitido en la norma y tampoco se presentaron cambios en las propiedades sensoriales de las muestras; no se encontró evidencia de fermentación ni de presencia de viscosidad.

Cuadro 9. Recuento de hongos y levaduras en mermelada de fresa con y sin inulina y almacenada a 25, 35 y 45 °C .

| Tiempo | 25°C | | 35°C | | 45°C | |
|--------|-------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
| | Tradicional | Inulina | Tradicional | Inulina | Tradicional | Inulina |
| 0 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |
| 7 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |
| 14 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |
| 35 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |
| 63 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |
| 84 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |
| 105 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |
| 126 | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g | <10 UFC/g |

Por otra parte, según Badui (2015), los microorganismos necesitan condiciones propicias de pH, de nutrimentos, de oxígeno, de presión, de temperatura y de actividad del agua para su desarrollo. Esta última tendrá que ser mayor a medida que los otros parámetros se vuelvan menos favorables.

Los microorganismos más dependientes de la actividad de agua son las bacterias (>0.91), después las levaduras (>0.88) y finalmente los hongos (>0.80) (Badui, 2015), todos los microorganismos poseen límites de a_w debajo de los cuales no pueden crecer, formar esporas o producir metabolitos tóxicos (Robertson, 2010). Los valores de actividad de agua en las mermeladas analizadas varían entre 0.8 y 0.7, los cuales están por debajo de los requerimientos de las bacterias lo cual confirma la posibilidad de que el recuento de BMA sea debido a la sobrevivencia de estas bacterias.

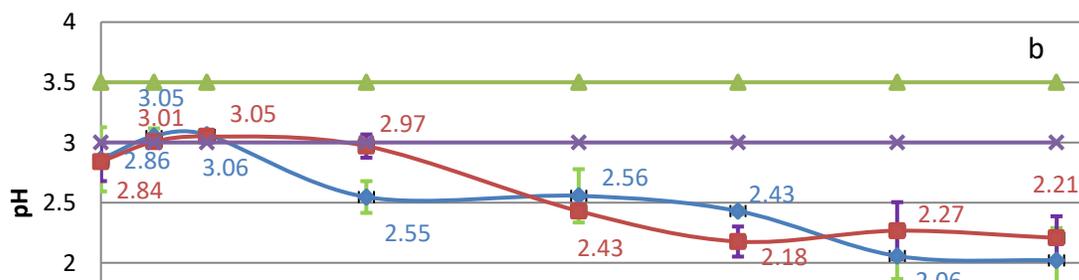
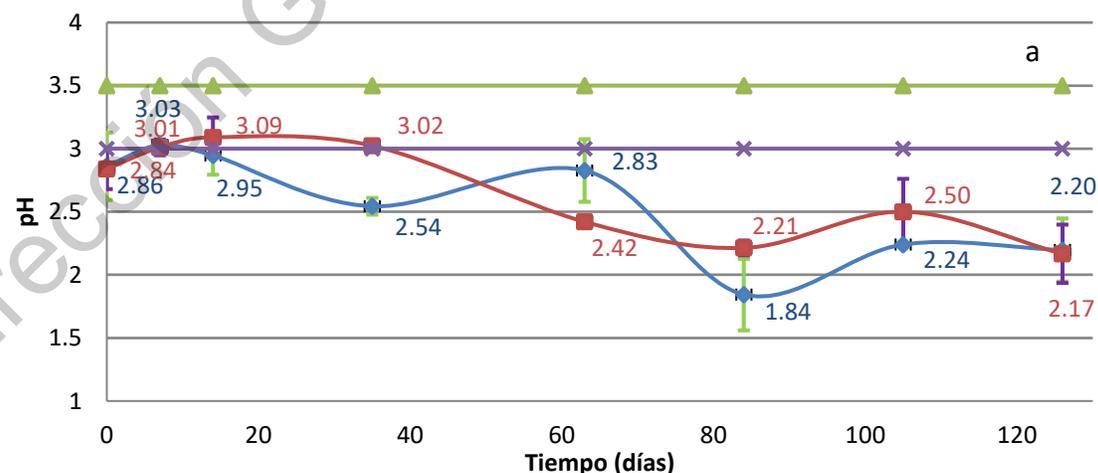
Por otro lado la carga microbiana derivada de hongos y levaduras no es importante en estas muestras ya que como se observa en el Cuadro 9 estos microorganismos no se pudo demostrar su presencia por el método de vaciado en placa.

5.3.2 pH

El pH es un importante indicador de la calidad de los alimentos y de su potencial en la estabilidad durante el almacenamiento (Badui, 2015). Los ingredientes utilizados para elaborar un mermelada, a excepción del ácido cítrico, no provocan un efecto en el valor de pH.

En la Figura 16 se puede observar que los valores del potencial de hidrógeno en las muestras al inicio del almacenamiento fue de 2.8, el cual fue ligeramente más bajo que el reportado en la NMX-F-131-1982, mínimo de 3.0 y máximo de 3.5. Durante el almacenamiento de las muestras a las 3 temperaturas estudiadas, el valor de pH tendió a disminuir a partir de los 35 días y fue más pronunciado a 35 y 45 °C (Figura 14b y 14c) que a 25°C (Figura 14a), llegando a valores de 2.0 a los 126 días de almacenamiento.

Cole, (1983) reporta que la temperatura afecta la disociación del agua y por ende los cambios en las concentraciones relativas de los iones hidronio e hidroxilo; es decir a, mayor temperatura se observa menor valor de pH. El valor de pH de 2.8 sugiere que las mermeladas están protegidas contra el ataque de microorganismos ya que están no crecen a estos valores de pH (FAO, 2004).



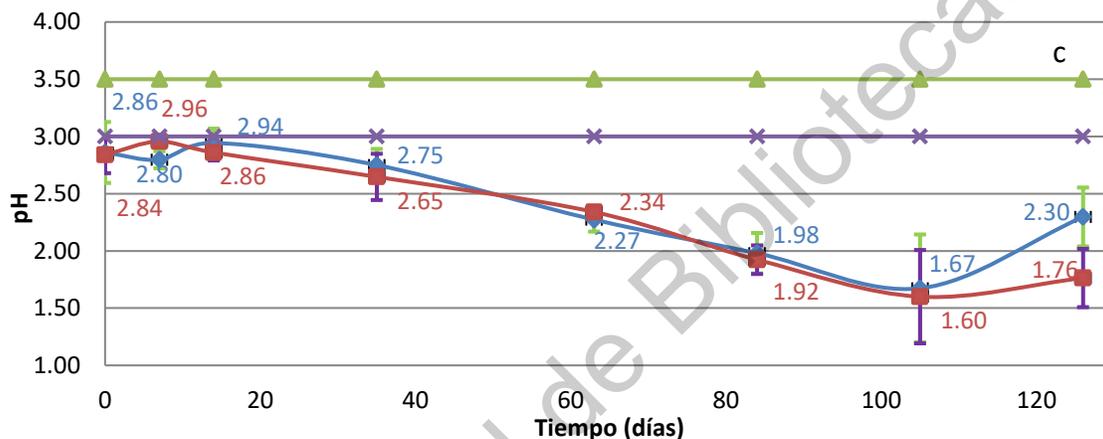


Figura 16. Comparativo pH mermelada tradicional (línea azul) en inulina (línea roja) a 25, 35 y 45°C, la línea verde corresponde al límite máximo y línea morada límite de inferior de NMX-F-131-1982.

5.3.3 Actividad de agua

La variación de las medias de los valores obtenidos de actividad de agua para las mermeladas almacenadas a 25, 35 y 45 °C se muestran en la Figura 17. El valor inicial de la Aa en la mermelada control fue de 0.82; mientras que en la mermelada con inulina fue de 0.805.

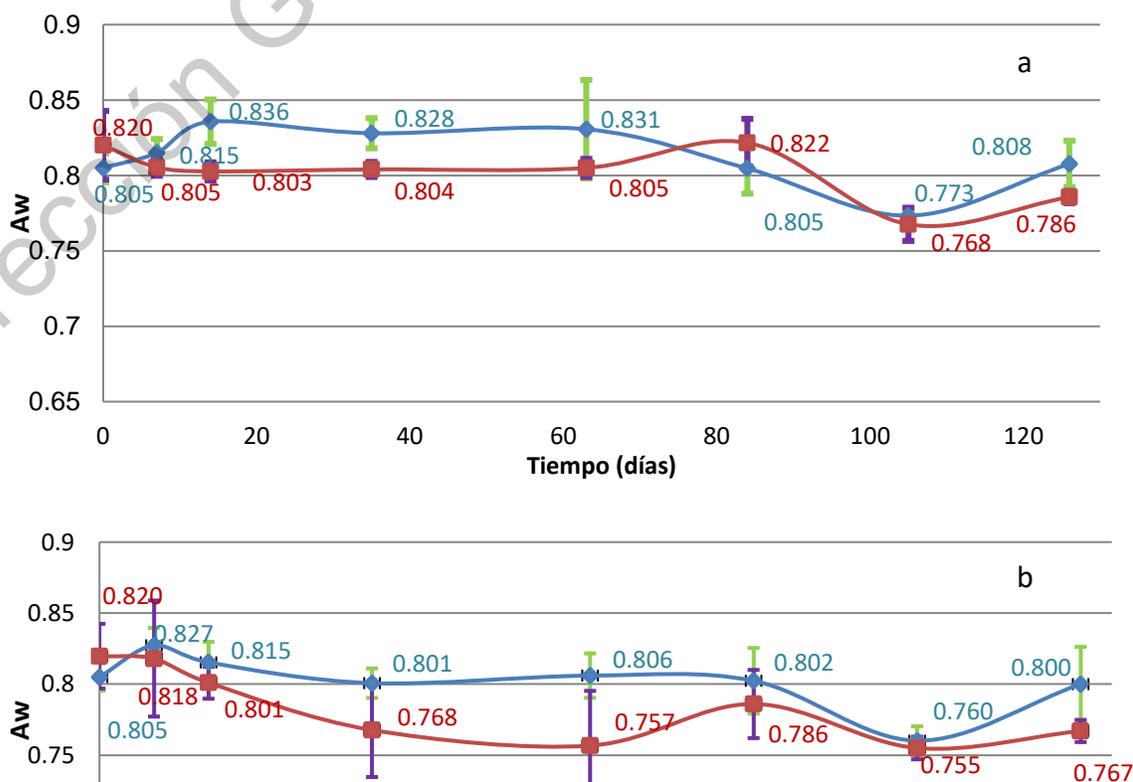
Los valores de actividad de agua reportados por Sanéz, 2012 varían entre 0.80 y 0.94 en mermeladas y jaleas. La actividad del agua se puede reducir al aumentar la concentración de solutos de los alimentos mediante la extracción del agua por métodos como la evaporación o mediante la adición de solutos como el azúcar. En la mermelada adicionada con inulina el menor valor de actividad de agua de debe a

que la inulina presenta la capacidad de retener agua para estabilizar geles y por ende disminuye el valor de a_w (Madrigal y Sangroins, 2007).

De manera general se observa una tendencia a disminuir con el tiempo de almacenamiento y en particular a los 105 d a 25 y 35 °C (Figura 15 a y 15b) alcanzando valores promedio de 0.770 y 0.757, respectivamente; al final del almacenamiento, 126 d los valores reportados fueron de 0.808 para la mermelada control y de 0.786 para la mermelada con inulina a 25°C; mientras que para 35°C fueron de 0.8 para la mermelada control y de 0.767 para la mermelada con inulina.

A 45 °C (Figura 15c) la disminución comenzó desde los 14 días de almacenamiento con valores de 0.794 para la mermelada control y de 0.752 para la mermelada con inulina, sin mayor cambio hasta el final del almacenamiento (126d) donde las mermeladas presentaban un valor de 0.752 y de 0.746 respectivamente. Se observa que la tendencia es mayor en la mermelada con inulina comparada con la mermelada control.

Dentro de las propiedades funcionales de la inulina la retención de agua es destacable y esto puede explicar la disminución del valor de actividad de agua durante el almacenamiento en la mermelada adicionada con inulina, además que que estas mermeladas no presentaron sinéresis.



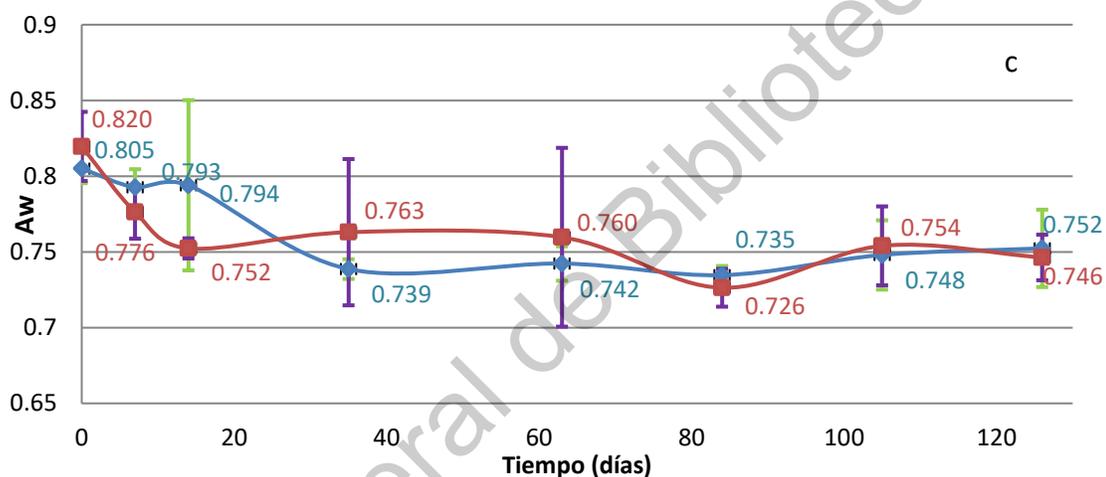


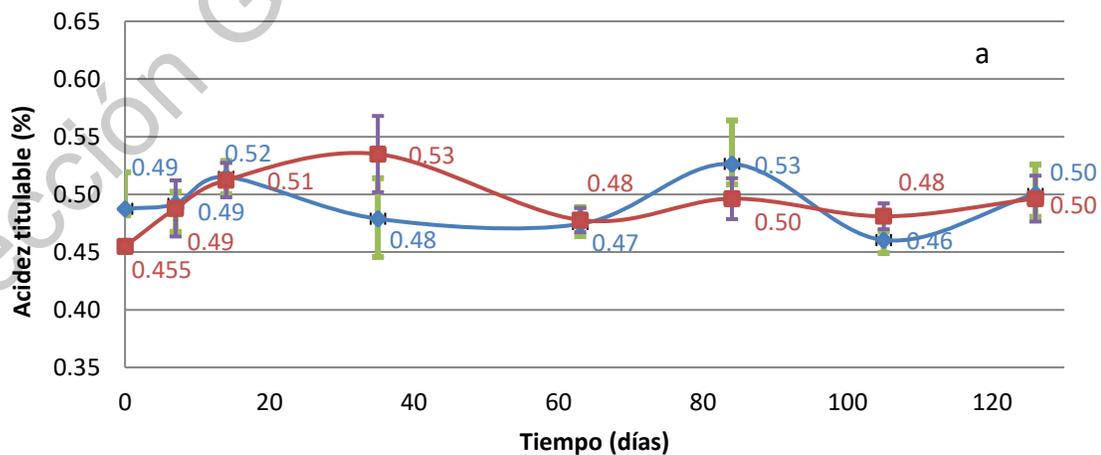
Figura 17. Valores de actividad de agua en mermelada tradicional (línea azul) y con inulina (línea roja) almacenada a 25, 35 y 45°C.

5.3.4 Acidez titulable

Los resultados de la acidez titulable de las mermeladas se muestran en la Figura 18; donde se aprecian los cambios durante el almacenamiento a 25, 35 y 45°C. Los resultados se expresan como porcentaje de ácido cítrico (%AT). A 25°C (Figura 18a) no se observó una tendencia clara en los cambios en el %AT en las mermeladas durante el almacenamiento; ya que el valor inicial fue de 0.445% y termino en 0.50% en las mermeladas con inulina; mientras que en la mermelada tradicional el cambio fue de 0.49 a 0.50%. Este comportamiento fue similar en la mermelada tradicional y almacenada a 35°C donde el valor inicial de 0.49 termino en 0.51%; mientras que la mermelada con inulina, en la misma condición, se observa que (0.455%) hay un

incremento a los 14 días de 0.53% el cual después disminuye a 0.47%. Por su parte en las mermeladas a 45°C se observa una tendencia a incrementar de 0.49 a 0.54 y de 0.45 a 0.51 en las mermeladas con inulina y la tradicional, respectivamente. El comportamiento de las muestras a 45°C se puede explicar por la disminución en el valor de pH que mostraron estas muestras (Figura 16c); es decir a mayor acidez el valor de pH es menor.

Se ha reportado que los valores de acidez en frutas frescas pueden variar desde 0.2 a 0.3 % en algunas frutas como la manzana hasta 6% en los cítricos como el limón en donde se ha reportado que el ácido cítrico puede construir hasta el 60% de los sólidos totales de la porción comestible. Durante la formulación de las mermeladas es importante determinar el valor de pH y de acidez para poder calcular la cantidad de ácido cítrico a adicionar y lograr una acidez adecuada en el producto final. Esta acidez es de suma importancia ya que como ya se ha mencionado, este parámetro participa de manera importante en la gelificación de la mermelada; además confiere brillo al color de la misma, mejora el sabor ayudando a que el dulzor se perciba menos, ayuda a evitar la cristalización del azúcar y prolongar su tiempo de vida útil.



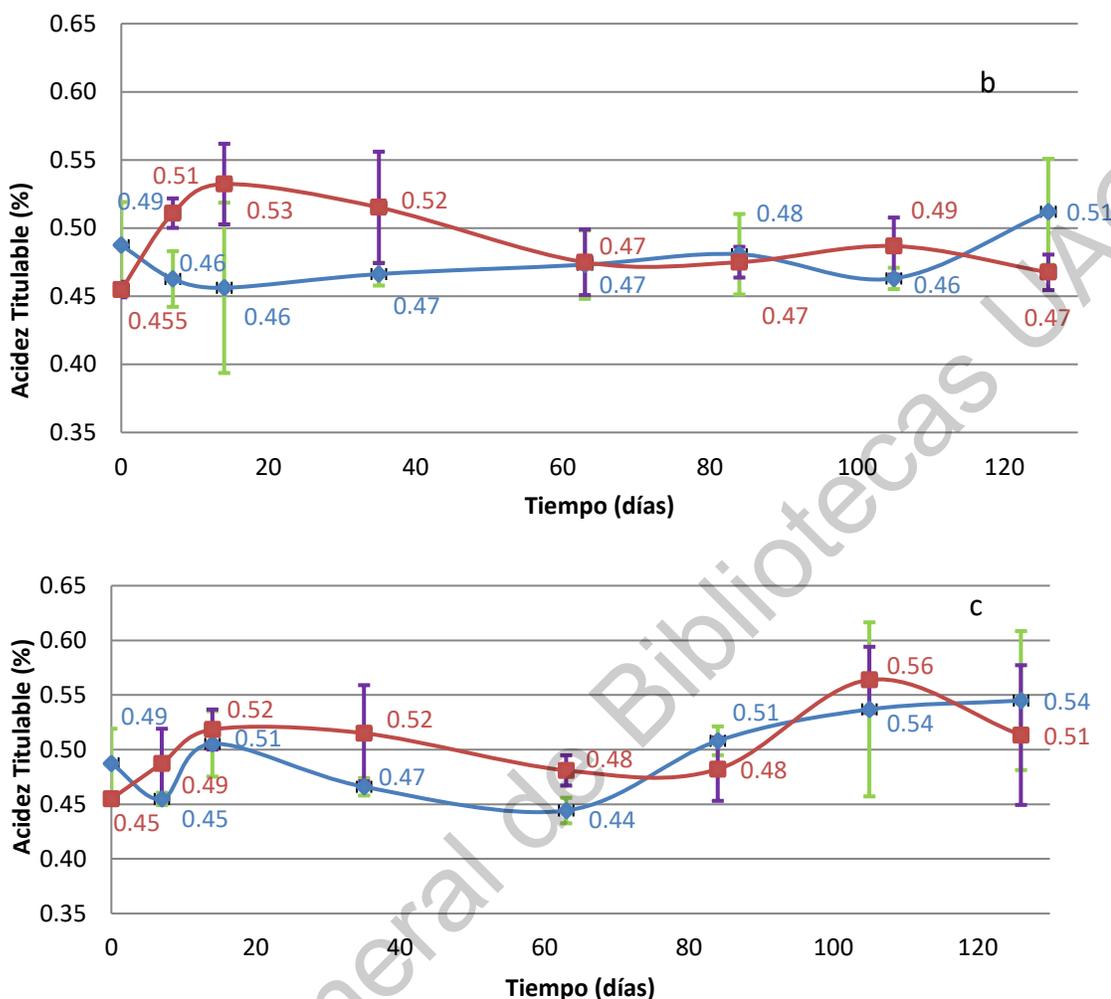


Figura 18. Acidez titulable de mermelada tradicional (línea azul) y con inulina (línea roja) a 25, 35 y 45°C.

5.3.5 Cuantificación de °Bx y de Fructanos

La cuantificación de estos parámetros solo se realizó al inicio y al final del almacenamiento y solo en las muestras almacenadas a 25°C (Cuadro 10). Los sólidos solubles totales (°Bx) se describen como la cantidad de soluto disuelto que hay en una muestra, como se puede apreciar el contenido de °Bx no varío al final del almacenamiento con respecto al valor inicial.

Cuadro 10. Valores de °Bx y contenido de fructanos en mermelada de fresa con y sin inulina después de 126 días a temperatura ambiente (25 °C).

| Mermelada | Sólidos solubles (°Bx) | | Fructanos (%) | |
|-------------|------------------------|-------|-------------------------|------------------------|
| | inicial | Final | Inicial | Final |
| Tradicional | 68.7 | 68.0 | 0 | 0 |
| Con Inulina | 68.6 | 68.2 | 7.92±0.013 ^a | 6.5±0.003 ^b |

Por su parte la sustitución del 5% de sacarosa por inulina en la formulación original sugiere que el porcentaje inicial de la inulina considerando todos los ingredientes era de 2.47 %; sin embargo, al momento de obtener la mermelada y considerando un 20% de evaporación durante el proceso de cocción, este debía ser del 3.18 % en la mermelada final. Sin embargo en la cuantificación de fructanos (inulina) usando el kit comercial “Fructan HK Assay” de Megazyme®, siguiendo el método enzimático y espectrofotométrico 999.03 de la AOAC (McCleary y Murphy, 2000), se encontró que este fue de 7.92% significativamente mayor que el añadido (dato no cuantificado); este aparente incremento puede ser debido a un error en el método de análisis. El principio del método se basa en que la sacarosa, maltosa, maltodextrinas y almidón presentes en la muestra a analizar son hidrolizados a D-glucosa y D-fructosa, por acción de las enzimas Sacarasa/Maltasa, los azúcares reductores formados en presencia de borohidruro de sodio se reducen a sus correspondientes alcoholes; D-sorbitol y D-manitol. Los fructanos nativos y los FOS son azúcares no reductores y no se ven afectados por esta reacción; de manera que la acción de la fructanasa (*exo*-inulinasa y *endo*-inulinasa) sobre los fructanos y FOS libera los residuos de D-fructosa y D-glucosa que son cuantificados por la reacción de reducción usando el método de PAHBAH (hidrazida del ácido *p*-hidroxibenzoico, Sigma cat. no. H-9882). El PAHBAH reacciona con los azúcares reductores presentes en las muestras evidenciándose por el desarrollo de color amarillo que puede determinarse su absorbancia a 410 nm. El mayor porcentaje encontrado puede ser debido a que los azúcares propios de la mermelada; sacarosa, y de la propia fresa (glucosa y fructosa) no se hayan convertido a sus correspondiente alcoholes por una deficiencia de borohidruro y que por tanto se hayan sumado a los azúcares reductores (glucosa y fructosa) obtenidos de la hidrólisis de fructanos después de ser tratados con la

enzima inulinasa los cuales posteriormente se cuantificaron como azúcares reductores y por tanto estimados como fructanos usando la fórmula correspondiente. Este mismo problema se presentó para la muestra de mermelada almacenada a 126 d a 25 °C. Sin embargo el contenido cuantificado de fructanos (inulina) a ese tiempo fue menor, 6.5%, y esto puede deberse a una hidrólisis parcial de la inulina por efecto del bajo valor de pH de la mermelada (pH = 2.2). Se ha reportado que a valores de pH menores de 4, los enlaces tipo b de las unidades de fructosa, tanto en la inulina como la oligofructosa, se hidrolizan con la consecuente formación de fructosa. Por esta razón, estos compuestos no pueden ser usados en alimentos muy ácidos (Franck, 2002).

5.3.6 Cuantificación de calorías

Como las soluciones de inulina proporcionaban valores de °Bx similares a las soluciones de sacarosa, en este trabajo se sustituyó la sacarosa en la misma proporción que la adición de inulina; sin pasar del 10% de sustitución. Los fructanos (inulina) aportan un valor calórico reducido (1,5 kcal/g) si se comparan con los carbohidratos digeribles (4 kcal/g) (Roberfroid, 1999), esto debido a la resistencia a la digestión y posterior hidrólisis y fermentación por la flora intestinal selectiva del intestino grueso (Madrigal y Sangroins, 2007).

El contenido calórico de ambas mermeladas al final del almacenamiento estuvo alrededor de 357.8 Kcal/100 g de muestra, Cuadro 11. Como era de esperarse, el contenido de carbohidratos en las mermeladas desarrolladas en este trabajo es alto debido a que la base de estas es azúcar, pectina y en las mermeladas con inulina la misma inulina. Este resultado es ligeramente superior al reportado para mermeladas comerciales elaboradas con azúcar, las cuales presentan un contenido que varía de 260 - 327 Kcal/100 g de producto comercial "Dickinson's® y La Costeña®", respectivamente (Revista del consumidor, 2016); y muy alto comparado con mermeladas bajas en azúcar (50% menos de azúcar), las cuales presentan de 129 - 149 Kcal/100 g de producto comercial "McCormick"® y "Smucker's"®, respectivamente (Revista del consumidor, 2016). Las mermeladas adicionadas con

inulina presentaron el mismo valor calórico que la mermelada tradicional y esto puede deberse a la baja cantidad usada de inulina (474.5 g) que representa el 3.18% en la mermelada final.

Cuadro 11. Calorías en mermelada de fresa con y sin inulina después de 126 días a temperatura ambiente (25 °C).

| Mermelada | Kcal/g | |
|-------------|---------|--------------|
| | inicial | Final |
| Tradicional | ND | 3.578 ±0.009 |
| Con Inulina | ND | 3.578 ±0.004 |

De acuerdo con los datos obtenidos de la evaluación sensorial, la sustitución parcial de sacarosa por inulina favorece las propiedades fisicoquímicas, principalmente la textura y particularmente con 5% de sustitución. Con base a los resultados obtenidos de la medición de las propiedades fisicoquímicas realizadas en las mermeladas almacenadas a tres temperaturas, 25, 35 y 45° C en el estudio de estabilidad, no se pudo establecer el factor crítico que delimite la calidad de las mermeladas, tradicional y con sustitución parcial de sacarosa por inulina debido a que estos parámetros permanecieron sin cambios importantes durante 126 d. No se presentaron cambios significativos en la calidad microbiológica, no se evidencio el desarrollo ni de hongos ni de levaduras y particularmente en el recuento de BMA fue menor a lo establecido por la normatividad. Se observa que las mermeladas almacenadas a 126 d a temperatura controlada de 25, 35 y 45 °C no cambiaron en su valor de acidez titulable (ácido cítrico), ni de °Bx, pero si disminuyeron ligeramente en su valor de pH y actividad de agua. El valor calórico de la mermeladas fue similar lo cual da un beneficio a la mermelada de fresa con inulina ya que en esta se encontró que a pesar del bajo pH de la muestra la mermelada conserva fructanos que pudieran proporcionar un efecto prebiótico.

Este estudio duro 126 días de almacenamiento sin cambios importantes en las mermeladas, lo que sugiere que la vida de anaquel de las mismas es de al menos 4.5 meses a temperatura ambiente; si se hubiera podido estimar el factor crítico hubiera sido posible estimar el valor de Q_{10} ya que incluso a la temperatura de 45°C las mermeladas presentaban un apariencia aceptable ya que la consistencia era más pastosa que a las otras temperaturas; y muy probablemente la vida de anaquel a temperatura ambiente puede ser mayor. Desafortunadamente no se consideró en este estudio una evaluación sensorial al final del almacenamiento. A pesar de estos inconvenientes se puede apreciar que el tiempo de 126 días a temperatura ambiente se encuentra dentro del rango de tiempo de vida útil estimados en mermeladas e indicados por otros autores. Contreras (2010) estimó un tiempo de vida útil de 6 meses para mermeladas de fresa y mora. Belmares y col., (2009) indicaron que las mermeladas poseen períodos de vida útil de 1 año y medio. Por su parte, Aroca (2010) reportó para una mermelada de zanahoria con coco una vida útil de 2 años.

6. CONCLUSIONES

La sustitución de sacarosa por inulina mejora las propiedades sensoriales y fisicoquímicas de mermelada de fresa.

El 5% de sustitución de sacarosa por inulina de agave mejora la aceptabilidad de mermelada de fresa sin comprometer la calidad microbiológica, y sin cambios en el valor calórico.

No se pudo identificar el factor crítico de deterioro de la mermelada de fresa tradicional y adicionada con inulina; sin embargo se puede decir que la vida de anaquel de estas es de al menos 4.5 meses a temperatura ambiente.

El valor calórico de la mermeladas fue similar lo cual da un beneficio a la mermelada de fresa con inulina ya que en esta se encontró que a pesar del

bajo pH de la muestra la mermelada conserva inulina que pudieran proporcionar un efecto prebiótico al momento de su consumo.

7. REFERENCIAS

Alzamora M., Guerrero S. 2004. Conservación de fresas. Conservación de Frutas y Hortalizas Mediante Tecnologías Combinadas. Manual de Capacitación. FAO.

Anzaldúa A. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Editorial Acribia. México: 67-99.

AOAC Official Method 942.15. Acidity (Titratable) of Fruit Products. Official method of Analysis of AOAC International, ed. 18, 2005, Cap. 37, p.10.

AOAC Official Method 932.14. Solids in Syrups. Official method of Analysis of AOAC International, ed. 18, 2005.

Aroca, S. 2010. Estudio del sorbato de potasio en la vida útil de mermelada de

zanahoria (*Daucus carota*) con adición de coco (*Cocos nucifera*). Tesis de licenciatura en Ingeniería en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. República de Ecuador.

Badui, D. S. 2012. La Ciencia de los Alimentos en la Práctica. 1ª Ed. Pearson México.

Badui S., (2015). Química de los Alimentos. 5ta Edición. Editorial Pearson, México, 14-16.

Barona M. 1992. Manzana, Melocotón, Fresa Y Mora. Fruticultura Especial 6. Costa Rica:85-87.

Barona S. A.M. 2007. Mermeladas. Ramirez N. J. S. Ed. Universidad del Valle. Tecnología de Alimentos.

Barrett, D., Somogyi L. and Ramaswamy, H. 2004. Processing Fruits Science and Technology. 2da edición. CRC Press, Florida.

Belmares, J., Amaya, C., Espinoza, A., Núñez, M. y Báez, J. 2009. Determinación de la vida de anaquel de productos con alto contenido de carbohidratos. Revista Salud Pública y Nutrición. 10: 2-14.

Boatella RJ, Codony SR, López AP. 2004 Química y bioquímica de los alimentos II. Universitat de Barcelona. España. Publicacions i Edicions. 107, 111-112.

Cardona, C. 2014 Tecnologías de hortalizas y frutas.
<https://es.calameo.com/books/00286023823c97e19e108>

Contreras, A. 2010. Ficha técnica de producto terminado: Mermelada de mora. Centro Agropecuario La Granja, Colombia.

Camacho, G. 2000, Obtención de Mermeladas. Universidad Nacional de Colombia, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, ICTA.

Chica, B., Osorio, S. 2003. Determinación de la vida de anaquel del chocolate de mesa sin azúcar en un película de polipropileno bioorientado. Universidad nacional de Colombia. Manizales. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero químico. 22

Codex standard for jams para las confituras, jaleas y mermeladas. (Codex stan 296-2009). <https://docplayer.es/9032148-Codex-stan-296-pagina-1-de-10.html>

Cole G.A. Textbook of Limnology. 5ta edición. Mosby San Luis, 1983.

- Colquichagua Diana. 2005.** Procesamiento de mermeladas. Lima
- Coronado M, Hilario R. Martínez-Gutiérrez. 2001.** Elaboración de mermelada. Procesamiento de alimentos para pequeñas y microempresas agroindustriales. Perú.
- Coussementp, P. 1995.** A new generation of dietary fibres. *European Dairy Maganize*. 3: 22-24.
- Coussement P. 1999.** Inulin and Oligofructosa: safe intakes and legal status. *J Nutr*. 129: 1412-1417.
- Dadzie K.B., Orchard J.E. 1997.** Evaluación rutinaria postcosecha de híbridos de bananos y plátanos. *Bioversity International*. 10.
- Don Edwards, Produce Facts Strawberry.
http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/index.cfm
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2004.** Conservación de frutas y Hortalizas mediante tecnologías combinadas. Manual de capacitación. [Consultado 2020 enerol 10]. www.fao.org/3/a-y5771s.pdf.
- Fennema, O. 2010.** Química de los alimentos. 3ra ed. Ed Acribia. Zaragoza, España.
- Fernández-Escartín, E. 2008.** Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. Ed. Universidad Autónoma de Querétaro, México.
- Flamm, G., Glinsmann, W., Kritchevsky, D., Prosky, L., & Roberfroid, M. (2001).** Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber: A Review of the Evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41 (5), 353-362.
- Flores J.C., 2012.** Elaboración y evaluación nutricional comparative de mermelada de guaya (*Psidium guajava*) deshidratada feante a mermeladas casera e industrial. Escuela de bioquímica y farmacia. Riobamba, Ecuador.
- Franck, A. 2002.** Technological functionality of inulin and oligofructose. *British J Nutr*; 87: 287-291.
- Gil, A. 2010.** Tratado de Nutrición. Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos. Tomoll. Segunda Edición. Editorial médica panamericana. Madrid. España: 143-144.
- Giraldo Gómez, Gloria Inés. 1999.** Métodos de estudio de vida de anaquel de los alimentos. Monografía. Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales.
- Hough, G., Fiszman, S. 2005.** Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos.

Programa CYTED, Madrid.

Hough, G. 2010. Sensory Shelf Life Estimation of Food Products. CRC Press.

Ibáñez, Moy. 2001. Análisis sensorial de alimentos: métodos y aplicaciones. Editorial Springer. Barcelona.

Jacques-Hernández, C, Gómez-Ayala, R. C; Téllez-Luis, S. J; Ramírez de León, J. A; Vázquez-Vázquez, M. **2008.** Producción de ácido láctico en medios nutritivos adicionados con jarabes de fructosa a partir de la hidrólisis de la inulina del Agave americana. <https://www.researchgate.net/publication/316281284>

Kallio, H., Hakala, M., Pelkkikangas, A., Lapveteläinen. 2000. Sugars and acids of strawberry varieties. *Eur Food Res Technol* 212, 81–85.

<https://doi.org/10.1007/s002170000244>

Kaur, N., and Gupta, A. K. (2002). Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Biosciences*, 27, 703-714

Kolida, S. y Gibson, G.R. (2007). Prebiotic capacity of inulin-type fructans. *Journal of Nutrition* 137: 2503S-2506.

López, A. 2003. Manual Para la Preparación y Venta de Frutas y Hortalizas el campo al mercado. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. Roma Balcarce, Argentina.

Labuza, T. 1980. The effect of water activity on reaction kinetics of food deterioration. *Food Technology*. 34 (4).

Labuza, T. 1982. Shelf life dating of foods. Food & Nutrition Press, Connecticut.

Madrigal L., Sangroins E. 2007. La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Organismo Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Departamento de Procesos Biológicos y Bioquímicos. Universidad Simón Bolívar. Caracas. Venezuela. Vol. 57, 4:387-388.

McCleary V.B. and Murphy A. 2000. Measurement of total fructan in foods by enzymatic/spectrophotometric method: collaborative study. *Journal of AOAC International*. 83:(2): 356:364

Meilgaard, M. C; Vance-Civille G; Carr, B.T. Eds. 2016. Sensory Evaluation Techniques. 5ª edición. CRC Press, Florida.

Mitcham, E.J., Crisosto, C. H. and Kader, A.A. Department of Plant Sciences, University of California, Davis. Consultado enero 2020.

http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Fruit_Spanish/?uid=18&ds=802

Molina, E., Paz, A. **2007**. La fibra dietética procesada como alimento funcional Fomento de su consumo desde la oficina de farmacia. *Offarm*. Vol.26. 70-77

Morales R. **2007**. Evaluación de cambios microbiológicos, pH, actividad de agua y color de tallarines instantáneos con vegetales y sabor a pollo bajo temperatura de deterioro acelerado. Requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. Honduras.

Morales C. **2010**. Desarrollo y evaluación de una mermelada de fresa (*Fragaria vesca L.*) como ingrediente para el yogur de fresa de la Planta de Lácteos de Zamorano. Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura. Honduras. 4-5.

Morales, I. **2014**. Curso: predicción de la vida útil de alimentos. Centro nacional de Ciencia y Tecnología de alimentos. Costa Rica.

Muñoz, N. **2015**. Obtención y caracterización de pectinas modificadas mediante tratamientos químicos y físicos. Universidad autónoma de Madrid. Madrid. Trabajo fin de Máster en Química agrícola y nuevos alimentos. 2-3.

Nicoli, C. Ed. **2012**. Shelf life assessment of food. CRC Press, Boca Raton.

NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. norma mexicana. dirección general de normas.

NMX-F-131-1982. alimentos para humanos. frutas y derivados. mermelada de fresa. foods for humans. fruits and derivatives strawberry marmalade. normas mexicanas. dirección general de normas.

NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas pre-envasados- Información comercial y sanitaria

NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Secretaría de Salud. José Meljem MOctezuma, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Secretaría de Salud. José Meljem Moctezuma, Director General de Control Sanitario de Bienes y Servicios

NOM-130-SSA1-1995. Bienes y servicios. alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. disposiciones y especificaciones sanitarias. Secretaría de Salud. Jose Meljem Moctezuma, Director General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios.

Nore, A., Sanchez, J. 2008. Estudio comparative en técnicas de recuento rápido en el Mercado y placas petrifilm 3M para el análisis de alimentos. Pontificia Universidad de ciencias.. Bogota. Colombia. 27

Nunez M. 2007. Caracterización y procesado de kiwi y fresa cultivados por diferentes sistemas. Tesis doctoral. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de Santiago de Compostela.

Ochoa, B.J.M., 2013 “Extracción de pectina en dos estados de maduración de achotillo (*nephelum lappceum*) para la elaboración de mermeladas” Universidad Técnica estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador. 11-13

Ortega, D., Parra, K. 2012. Estudio De Mercado de las Mermeladas en México. Principios Y Técnicas de Investigación Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad De Contaduría Y Administración.

Ramos, A. 2007. Curso nutrición aplicada. Práctica 3; calorimetría. Facultad de agronomía. GD Nutrición y calidad de alimentos.

<https://es.scribd.com/document/381919617/Practico-calorimetria-pdf>

Revista del Consumidor. 2016. RC470. Laboratorio profeco mermelada y cajeta. Pag 50-61.

Roberfroid M. Caloric value of inulin and oligofructose. J Nutr **1999**; 129: 1436-1437.

Robertson, G. 1999. Shelf Life of packaged foods, its measurement and prediction. In Brody, A. & Lord, J., eds. Developing new food products for a changing Marketplace. CRC Press, Nueva York. pp. 25.

Robertson, G. Ed. 2010. Food packaging and shelf life: a practical guide. Taylor & Francis Group, Florida.

Ropero, A. B; Marquina, E; Sarmiento, V. M; Beltrá, M. **2017**. BADALI: Una herramienta de promoción de la salud. Rev Esp Nutr Hum Diet.; 21(4): 335 - 350

Roos, Y. (2001). Water activity and plasticization. En M. Eskin, & D. Robinson, Food shelf life stability (pág. 3.36). U.S.A.

Sancho Valls. Josep **1999**. Introducción al análisis sensorial de los alimentos. Ediciones Universidad de Barcelona. Barcelona: 102.

Santoyo, J.A., Martínez, C. **2010**. Paquete tecnológico para la producción de fresa. Fundación produce. Sinaloa A.C. Gobierno del estado de Sinaloa. SAGARPA. México: 8-11.

Shanmugam, A., Hossain, M.R., Natarajan, S., Jung, H-J., Song, J-Y., Kim, H-T Nou, S. **2017**. Sugar content analysis and expression profiling of sugar related genes in contrasting Strawberry (*Fragaria ananassa*) cultivars. J Plant Biotechnol. <https://doi.org/10.5010/JPB.2017.44.2.178>

Siegel S, Castellan S. Nonparametric statistics for the behavioral sciences. 2da edición. New York: McGraw-Hill, **1988**: 399.

Sierra Alonzo Isabel. **2007**. Experimentación en Química Analítica. Dickinson. Madrid: 51-52.

Solís, D.A. **2008**. Inulina: Un prebiótico Natural. Mundo Alimentario. info@mundoalimentario.com. 18-19.

Thakur, B.R., Singh, R.K., Handa, A.K. & Rao, Dr. M. A. **1997**. Chemistry and uses of pectin — A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 37 (1): 47-73. <https://doi.org/10.1080/10408399709527767>

Tungland, B.C., and Meyer, D. (**2002**). Non-digestible Oligosaccharides (Dietary Fibre): Their Physiology and Role in Human Health and Food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3, 73-92.

Villegas B. **2008**. Efecto de la adición de inulina en las características físicas y sensoriales de batidos lácteos. Tesis doctoral. Instituto de agroquímica t tecnología de alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. España:6-8. www.wayfitness.net/rootes/175-728.asp.

Watts, B.M. **1992**. Métodos sensoriales básicos para la evaluación de alimentos. CIID. Canadá <http://idl-bnc.idrc.ca/dspace/bitstream/10625/12666/1/89276.pdf>

Zhao, Y. 2012. Chapter 6 Jams, jellies and other jelly products. *In* Specialty foods processing technology, quality and safety. Zhao, Y. Ed. CRC Press, Florida. pp. Florida.

ANEXOS

1. Preparación de reactivos para cuantificación de fructanos:

- Buffer 1: 11.6 g ácido málico + 900 mL agua destilada. Ajusta pH a 6.5 con hidróxido de sodio 2M.
- Buffer 2: 5.8 mL ácido glacial + 900 mL agua destilada. Ajusta pH a 4.5 con hidróxido de sodio. (Ambos aforar a 1L y refrigerar a 4°C).
- Enzima A: contenido vial del Kit + 22 mL Buffer 1. Enzima B. contenido vial del Kit + 22 mL de Buffer 2. (Ambas se dividieron en alícuotas y refrigeraron a -20°C).
- Solución A: 10 g de ácido hidrozibenzoico hidrazida + 60 mL de agua destilada + 10 mL de ácido clorhídrico concentrado. Aforar a 200 mL.
- Solución B: 24.9 citrato trisódico dihidratado + 500 mL de agua destilada + 2.2g cloruro de calcio dihidratado. Aforar a 2 L.
- PAHBAH: Agregar 20 mL de la solución A en 180 mL de la solución B, mantener en hielo.
- Hidróxido de sodio (50 mM): 2 g de hidróxido de sodio + 900 mL de agua destilada. Aforar a 1 L
- Borohidro alcalino: 20 mg borohidro + 2 mL de hidróxido de sodio
- Acido acético (2M): 116 mL + 600 mL de agua destilada. Aforar a 1 L
- Metanol 80% y Etanol 100%

Dirección General de Bibliotecas UAQ