



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DEL ALMACENAMIENTO A -20°C COMO
PRETRATAMIENTO EN LA CALIDAD DE AJO NEGRO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

SONIA ANGÉLICA MORENO MAYORGA

DIRIGIDA POR

Dra. MA. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS



SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EFECTO DEL ALMACENAMIENTO A -20°C COMO
PRETRATAMIENTO EN LA CALIDAD DE AJO NEGRO”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

SONIA ANGÉLICA MORENO MAYORGA

DIRIGIDA POR

Dra. MA. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS

SINODALES

Dra. Ma. ESTELA VÁZQUEZ BARRIOS
DIRECTOR

Dr. EDMUNDO MERCADO SILVA
SINODAL

Dra. DULCE MARÍA RIVERA PASTRANA
SINODAL

M. en C. KARINA LILIBETH RÍOS RÍOS
SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	v
RESÚMEN	
1. ANTECEDENTES	1
1.1 Generalidades del ajo (<i>Allium Sativum L.</i>)	1
1.1.1 Clasificación taxonómica del ajo	2
1.1.2 Morfología del ajo	3
1.1.3 El bulbo	4
1.1.4 Clasificación de las variedades del ajo comercial	5
1.1.5 Composición del ajo	7
1.1.5.1 Composición nutricional del bulbo de ajo	7
1.1.5.2 Fructanos	9
1.1.5.3 Alíina	11
1.1.6 Importancia del cultivo de ajo	11
1.1.7 Factores de calidad del ajo	13
1.1.8 Usos del ajo	15
1.2 Ajo negro	15
1.2.1 Producción del ajo negro	16
1.2.2 Reacciones de oscurecimiento en los alimentos	18
1.2.2.1 Caramelización	18
1.2.2.2 Degradación del ácido ascórbico	19

1.2.2.3	Reacción de Maillard (RM)	19
1.2.3	Capacidad antioxidante y los efectos en la salud del ajo negro	22
1.2.4	Procedimientos para obtener ajo negro	23
1.2.5	Pretratamientos para la obtención del ajo negro	24
1.3	Efectos de la congelación y descongelación en tejidos vegetales	24
1.3.1	Efecto de congelación en el ajo	26
2.	HIPÓTESIS	28
3.	OBJETIVOS	28
4.	METODOLOGÍA	29
4.1	Material Biológico	31
4.2	Producción de ajo negro	31
4.2.1	Tratamiento tradicional para la producción de ajo negro	31
4.2.2	Métodos de pretratamiento para el ajo negro	32
4.3	Análisis fisicoquímicos	32
4.3.1	Determinación de variación de peso	32
4.3.2	Determinación de color interno	32
4.3.3	Determinación de pungencia	33
4.3.4	Determinación de sólidos solubles totales	34
4.3.5	Determinación de pH	35
4.3.6	Determinación de Actividad de Agua	35
4.3.7	Determinación de azúcares reductores	36
4.3.8	Determinación de polifenoles totales	36
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
5.1	Tratamiento tradicional para el procesamiento de ajo negro	38
5.2	Pretratamiento de ajos almacenados a -20°C (CT)	38

5.3	Cambio de color	42
5.4	Azúcares reductores	44
5.5	Sólidos solubles	45
5.6	Determinación de pH	47
5.7	Concentración de Fenoles	48
5.8	Variación de peso	49
5.9	Pungencia	50
5.10	Actividad de agua	51
6.	CONCLUSIONES	52
7.	REFERENCIAS	53
8.	ANEXOS	62

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Clasificación para <i>Allium sativum</i> L	2
2. Composición nutrimental del ajo fresco	8
3. Calibres USA- Florida International Enterprise	13
4. Efecto del almacenamiento a -20 °C sobre los azúcares reductores en función del tiempo	40
5. Valores de °Bx y pH durante el almacenamiento a 70°C / 94% HR de ajos control y pretratados con congelación para obtener ajo negro	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Partes de una planta joven de ajo	3
2. Estructura del bulbillo y sus diferentes hojas	4
3. Grupo 1. Ajos violeta o asiáticos	5
4. Grupo 2. Ajos rosados	6
5. Grupo 3. Ajos Blancos	6
6. Grupo 4. Colorados, rojos y morado	7
7. Estructura para un fructano	10
8. Reacción enzimática de aliína para formar alicina	11
9. Producción mundial de ajo a lo largo de los años 2000-2016	12
10. Producción en México de ajo a lo largo de los años 2000-2016	13
11. Diversas presentaciones del ajo negro	15
12. Cambios de color del ajo, hasta la obtención del ajo negro hasta los 35 días de procesamiento	17
13. Etapas de la reacción de Maillard	20
14. Posibles vías de enolización influenciadas por el pH	21
15. Diente de ajo almacenado a temperatura ambiente, refrigeración y en congelación	26
16. Bulbo de ajo almacenado a $-30^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$	27
17. Estrategia experimental	30
18. Sistema para la obtención de ajo negro	31
19. Formación de ácido piruvico producido enzimáticamente	34
20. Registro de la temperatura del congelador y el promedio de la temperatura interna de tres bulbos de ajo	39
21. Diente de ajo fresco, dientes después de ser sometido a un almacenamiento a -20°C por 24 h	40
22. Dientes de ajo fresco, dientes de ajo TT y CT en cada muestreo	42
23. Cambio del color (Delta E) en ajos durante el TT y el CT	44
24. Cambios en el contenido de AR en ajo del TT y de CT	45

25. Efecto del pH en función del tiempo del TT y del CT	47
26. Contenido de fenoles totales en ajo negro de ajo TT y de ajo pretratados con congelación a -20 °C	49

Dirección General de Bibliotecas UAQ

RESÚMEN

El ajo fresco, *Allium sativum* L., es una de las principales hortalizas a nivel mundial. Contiene compuestos que impactan favorablemente a la salud de los consumidores; entre ellos los polifenoles, compuestos organoazufrados y fructanos. El compuesto biológico más activo es la alicina, la cual es responsable de su pungencia y se forma cuando las células de ajo son dañadas, como en el troceado. Además de ser un condimento en la cocina popular, se han desarrollado diversos productos entre los que destaca el ajo negro. Este producto se obtiene después de que el ajo fresco se almacena por periodos largos en condiciones de humedad relativa alta y temperatura alta; lo cual provoca una considerablemente reducción del sabor pungente y un cambio evidente en el color de los bulbillos, derivado de la reacción de Maillard. Se ha reportado un procedimiento tradicional (temperatura de 70°C y 94% de humedad relativa) que puede durar entre 30 y 60 días para obtener ajo negro. En este trabajo se aplicó el pre-almacenamiento a -20°C de bulbos de ajo fresco previo a las condiciones del tratamiento tradicional, lo cual provocó la hidrólisis de los fructanos y por ende acelerar la reacción de Maillard con lo que se logró obtener ajo negro en 21 días a diferencia de los 32 días que se requirieron sin pre-almacenamiento a -20°C; el ajo negro obtenido presentó un sabor ligeramente menos dulce y pungente, pero con una capacidad antioxidante dos veces mayor que el control.

1. ANTECEDENTES

1.1. Generalidades del ajo (*Allium Sativum* L.)

El ajo, *Allium sativum* L., es una especie monocotiledónea, sus orígenes se reportan a los inicios de la historia en Asia Central y su cultivo en los países mediterráneos. Fue domesticado por el hombre para ser usado como alimento y después como planta medicinal. Los griegos, romanos, hindúes y chinos ya gustaban del ajo, mientras que los egipcios (3,000 años a.C.) lo consideraban especie sagrada. El ajo fue introducido a América Latina a finales del siglo XIV. La mayoría de las especies domesticadas de *Allium* que existen en América Latina provienen de Asia y su reproducción es vegetativa, a través de sus bulbillos o dientes (Heredia-García, 2000)

El ajo es una de las 20 principales hortalizas a nivel mundial; por su aroma y sabor característico ha sido utilizado como alimento y como especie culinaria por muchas culturas en la cocina y para diferentes propósitos medicinales. (Blumenthal, 2000).

Por su aroma y sabor característicos, el ajo es una de las especies culinarias más populares en todo el mundo. En México, el consumo de ajo es fundamentalmente en fresco (95%), aunque también la agroindustria procesa ajo en diversos productos como salmueras, pastas, sales, ajo deshidratado, entre otros; los volúmenes son limitados y varían entre 1500 y 1800 toneladas (aproximadamente un 3% a 4% de la producción nacional) (Barreiro, 2000).

El ajo ha sido usado medicinalmente por miles de años a través del mundo por varias razones, incluso en antiguos escritos de la india hacen referencia a efectos en enfermedades del corazón. Diferentes estudios señalan efectos como su poder antioxidante, antimicrobiano, anticancerígeno, disminución en la hipertensión, la hipercolesterolemia, es hepatoprotectivo, disminuye el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Zeng y col., 2013).

Sus propiedades biológicas son relacionadas principalmente por su contenido de polifenoles, principalmente flavonoides, y compuestos bioactivos azufrados (Amagase y col., 2001; Florencia-Greco, 2011).

1.1.1. Clasificación taxonómica del ajo

La clasificación más antigua para *Allium sativum* L., lo ubicaban en la familia *Liliaceae*, más tarde, se incluyó en la familia *Amaryllidaceae*, con base en la estructura de su inflorescencia. La jerarquía que ha sido adoptada para *Allium sativum* se encuentra detallada en el Cuadro 1 (Takhtajan, 1997). Esta hortaliza pertenece a la familia Alliaceae Amaryllidaceae que también incluye a las cebollas (*Allium cepa*), puerros (*Allium ampeloprasum* var. *Porrum*), y chalotes (*Allium ascalonicum*) (Fritsch y Friesen, 2002).

Takagi (1990) mencionó que los taxónomos han reconocido por lo menos cuatro variedades botánicas dentro del *Allium sativum* L., que son: *A sativum* L. var. *sativum*; *A sativum* L. var. *ophioscorodon* Doll.; *A sativum* L. var. *pekinense* Maekawa, y *A sativum* L. var. *nipponicum* Kitamura.

Cuadro 1. Clasificación para *Allium sativum* L. (Takagi, 1990).

Clase	Liliopsida
Subclase	Liliidae
Superorden	Lilianaes
Orden	Amaryllidales
Familia	Alliaceae
Subfamilia	Allioideae
Tribu	Allieae
Género	<i>Allium</i>

1.1.2. Morfología del ajo

La planta de ajo presenta un ciclo de vida que dura dos años (Mann L., 1952; Alvarado, 2000), sus bulbos compuestos por un tallo discoidal, hojas secas y bulbillos segmentados llamados coloquialmente como “dientes” (Purseglove, 1985). En la Figura 1 se muestra al ajo como una planta herbácea erecta de 30 a 60 cm de altura, con raíces adventicias superficiales, bulbos compuestos por tallo discoidal, hojas escamosas secas y delgadas que constituyen la base de las hojas fotosintéticamente funcionales, y bulbillos o dientes formados de yemas auxiliares de las hojas funcionales más jóvenes. Las hojas son aplanadas, sólidas, con 2.5 cm de ancho, plegadas en forma longitudinal; estas varían en número, pero son generalmente menos de 10. Las hojas son planas, lineales, delgadas y terminadas en punta.

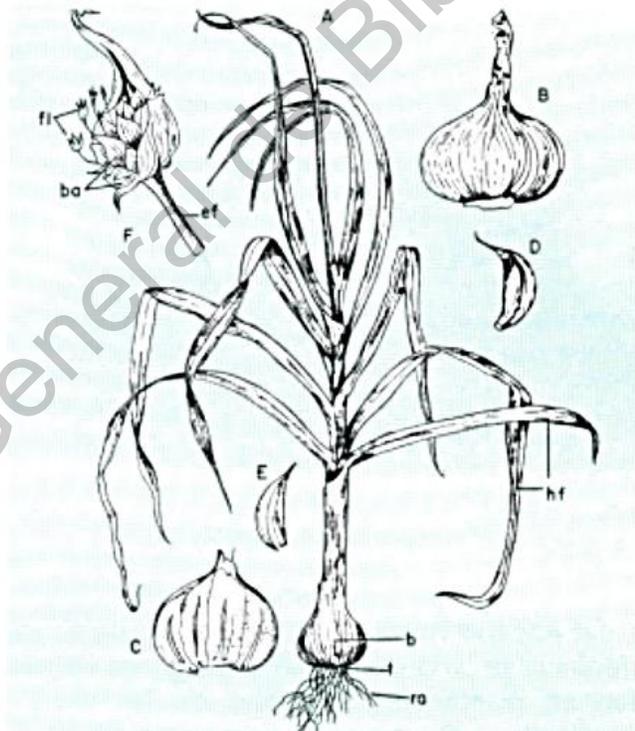


Figura 1 A. Planta joven de ajo que muestra raíces adventicias (ra), Tallo (t), bulbo (b) y hojas funcionales (hf), B. Bulbo, C. sección longitudinal del bulbo, D. bulbillo o diente, E. sección longitudinal del bulbillo, F. inflorescencia, escapo floral (ef), bulbillos aéreos (ba) y flores (fl) (Purgseglove, 1985).

Las inflorescencias están compuestas por umbelas densas y de tamaño pequeño, las flores son estériles. El grado de la inflorescencia varía considerablemente con el genotipo y con el estado del escapo floral. El tallo o disco basal es fuente de apoyo para todos los elementos de la planta y la raíz tiene forma de cabellera y puede alcanzar hasta 50 cm de profundidad.

1.1.3. El bulbo

Los bulbos de ajo a su vez están compuestos de seis a doce bulbillos o dientes. Cada bulbillo consiste en una envoltura protectora en la parte más externa, una hoja de almacenamiento engrosada, y una pequeña yema central que a su vez protege a las llamadas hojas funcionales (Figura 2) (Pursoglove, 1985).

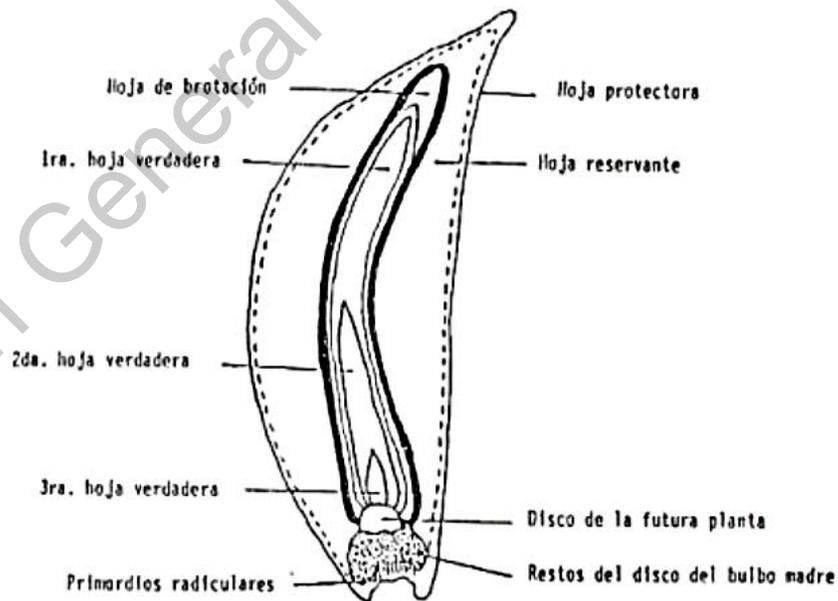


Figura 2 Estructura del bulbillo y sus diferentes hojas (Pursoglove, 1985).

1.1.4. Clasificación de las variedades del ajo comercial

Según lo reportado por Heredia-García en 2000, la clasificación de las variedades de ajo comercial es la siguiente:

Grupo 1 (violetas o asiáticos): Son clones de muy corta dormancia y ciclo corto, con bajos requerimientos de frío y escasa necesidad de fotoperiodo largo.

Los bulbos son medianos, con pocos dientes de gran tamaño y hojas envolventes muy gruesas de color pardo-violáceo o vinoso, Figura 3.



Figura 3 Grupo 1. Ajos violeta o asiáticos (Heredia-García, 2000).

Grupo 2 (Rosados): Clones de corta dormancia y ciclo medio, con medianos a bajos requerimientos de frío y mediana necesidad de fotoperíodo largo. Los bulbos son medianos a grandes y presentan un gran número de dientes irregulares de color rosado claro a violáceo (Figura 4).



Figura 4 Grupo 2. Ajos rosados (De la Cruz, 2007).

Grupo 3 (Blancos); clones de dormancia media y ciclo medio-largo, con requerimientos de frio medianos a altos y fotoperiodo largo. Los bulbos son grandes a muy grandes, generalmente irregulares, con hojas envolventes del bulbo y de protección de los dientes blanco nívoo (Figura 5).



Figura 5. Grupo 3. Ajos Blancos (Heredia-García, 2000)

Grupo 4 (colorados, rojos y morados). Clones de domancia larga y ciclo largo, con altos requerimientos de frio y fotoperiodo largo. Los bulbos son medianos a grandes, bien formados, de color externo blanco cuando está seco, pero de dientes rojos, púrpura con tintes violáceos o morados (Figura 6).



Figura 6. Grupo 4. Colorados, rojos y morados (De la Cruz, 2007).

1.1.5. Composición del ajo.

La composición del ajo, su calidad, valor nutracéutico y la intensidad de sabor pueden ser determinadas por factores como el cultivar, prácticas agronómicas, el clima, la fertilización y las condiciones de almacenamiento.

Así mismo, el ajo fresco contiene compuestos bioactivos que tienen un importante aporte a la salud de los consumidores, como lo son los polifenoles, específicamente los flavonoides y fitoesteroles, los compuestos organoazufrados y los fructanos (Rahman, 2003; Florencia-Greco, 2011).

1.1.5.1. Composición nutricional del bulbo de ajo.

La composición de este producto está determinada por diferentes factores como: el cultivar, variedad, prácticas agronómicas, clima, fertilización y condiciones de

almacenamiento durante la poscosecha que determinan la calidad, intensidad de sabor del ajo, así como el valor nutraceútico de los bulbos (Cavagnaro y Galmarini, 2007).

En el Cuadro 2, se muestra la composición química del bulbillito de ajo fresco (USDA, 2019). El ajo fresco posee distintos componentes entre los que se destacan el agua, carbohidratos, fibra y aminoácidos libres. El principal carbohidrato en el ajo son polímeros de fructosa (fructanos) (Baumgartner y col, 2000); por su parte, el contenido de proteínas es mayor en comparación de otros vegetales, siendo las lectinas las proteínas más abundantes en el ajo, además presenta un contenido bajo en grasa.

Cuadro 2. Composición nutrimental del ajo fresco (USDA, 2019).

Nutriente	(g/100g)
Agua	58.58
Proteína	6.36
Lípidos	0.50
Carbohidratos	33.06
Fibra	2.10
Azúcares	1.00
Minerales	(mg/100g)
Potasio	401
Calcio	181
Fosforo	153
Magnesio	25
Sodio	17
Vitaminas	(mg/100g)
Vitamina C	31.2
Vitamina A	9.0
Folato	3.0

En cuanto a su contenido de minerales el ajo proporciona la misma cantidad de potasio que el de un plátano (*Musa acuminata*) (USDA, 2019). Con relación a las vitaminas, la principal es el ácido ascórbico o vitamina C, aunque es muy importante su consumo, es un compuesto inestable debido a su facilidad de oxidación e hidratación, su degradación se lleva a cabo mediante procesos oxidativos. De interés actual se ha demostrado la importancia de algunas saponinas y sapogeninas, como β -clorogenina, ya que han demostrado actividad antimicrobiana y antiinflamatoria, entre otras. Otros componentes, como la alicina y selenio, se han investigado por sus propiedades antioxidantes (Krejci y Pacurar, 2010).

1.1.5.2. Fructanos

El ajo acumula como sustancia de reserva energética principalmente carbohidratos no-estructurales tales como fructosa, sacarosa y fructanos. De estos, los más importantes son los fructanos (Baumgartner, 2000).

Los fructanos son polímeros lineares o ramificados en los cuales la β -fructofuranosil-fructosa constituye la unidad predominante. En algunas plantas se encuentran oligosacáridos con grado de polimerización de 3 a 6, o cadenas que pueden alcanzar un grado de polimerización de 50, como son las inulinas; o más grande con un grado de polimerización de 200 como los levanos (Vijn y Smeekens, 1999), los cuales se encuentran distribuidos ampliamente en tejidos vegetales. Los fructanos tienen la función de almacenamiento de carbono, además de proteger a la planta contra el estrés hídrico o a las bajas temperaturas (Vijn y Smeekens, 1999). Nutricionalmente, los fructanos ayudan a mejorar el metabolismo, a fortalecer las funciones inmunes en el organismo, debido a las capacidades inmunomodulatorias de las bacterias lácticas o especies de *Lachnospiraceae* que crecen a expensas de los fructanos, y a mejorar la biodisponibilidad de nutrientes al ser fermentados, favoreciendo el desarrollo de mucosa y aumentando la resistencia a enfermedades intestinales por mecanismo de barrera (Augusti, 2005; Chacon, 2005; Carrillo-Navarrete, 2018). Los fructanos se encuentran en plantas como el maguey, el ajo y la alcachofa, entre otras

(Badui, 2013). La caracterización de los fructanos de ajo de alto peso molecular que han sido reportado en la literatura por medio de resonancia magnética nuclear, indica que los fructanos en bulbos de ajo provienen de la familia de las neokestosas y son cadenas de fructosas con un grado de polimerización de 58 (Figura 7) (Baumgartner y col, 2000).

Los fructanos son polímeros de fructosa; al igual que la mayoría de los monosacáridos, la fructosa es un azúcar reductor y, dado que es altamente levorrotatorio, se le designa con el nombre de levulosa. Forma parte de algunos polisacáridos, como la inulina; polisacárido lineal que contiene una glucosa terminal, y cuya unión molecular se da mediante enlaces $\beta(2-1)$; este tipo de enlace no es reconocido por enzimas digestivas lo cual coloca a los fructanos como glicosídicos no digeribles. (Badui, 2013).

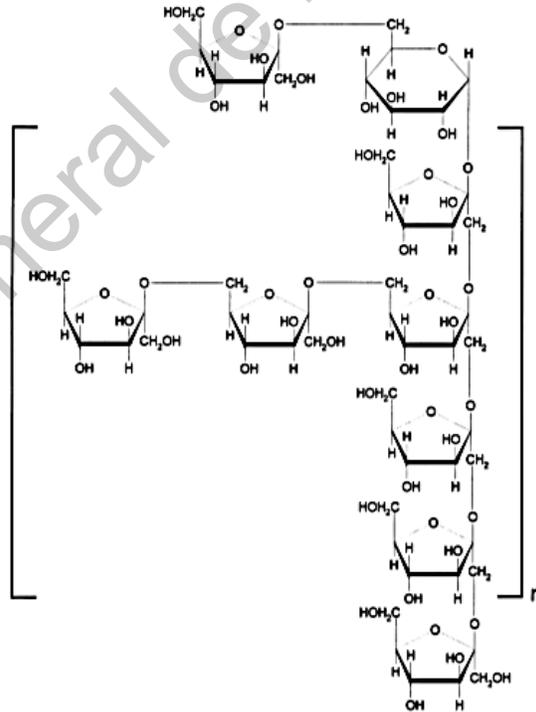


Figura 7 Estructura para un fructano con $n=9$, para un grado de polimerización =58 (Baumgartner y col, 2000).

1.1.5.3. Aliína

El compuesto biológico más activo en el ajo es la alicina, que se genera por acción enzimática cuando el ajo se daña o se corta, este compuesto se forma cuando la aliína o también llamado 2-propenil (S)-alil-L-cisteína sulfóxido, el cual es un aminoácido azufrado inodoro que se encuentra en el citoplasma de las células del ajo fresco intacto, es transformado en alicina por acción de la enzima alinasa (S)-Alquil-L-cisteína, que se encuentra presente en la vacuola, la cual suele interactuar con la aliína cuando se realiza un corte en el tejido; la alicina es el compuesto responsable de la pungencia del ajo (Figura 8) (Castañeda y col, 2000; Kyung y Lee, 2001).

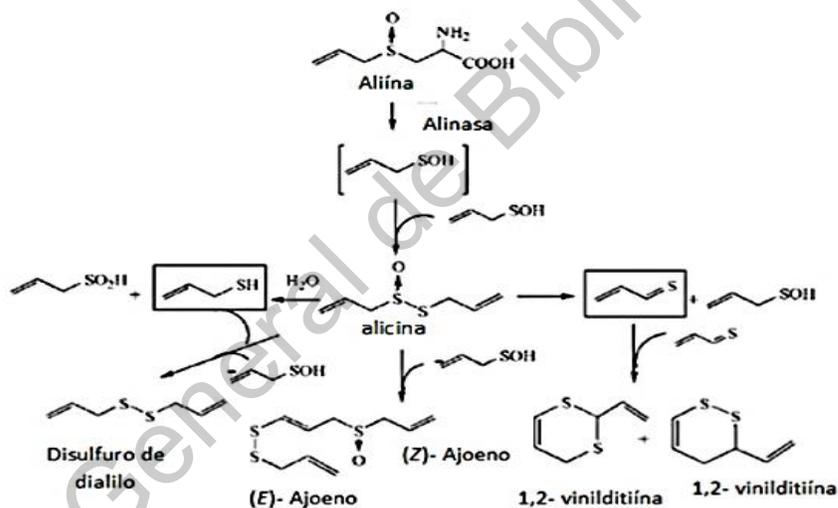
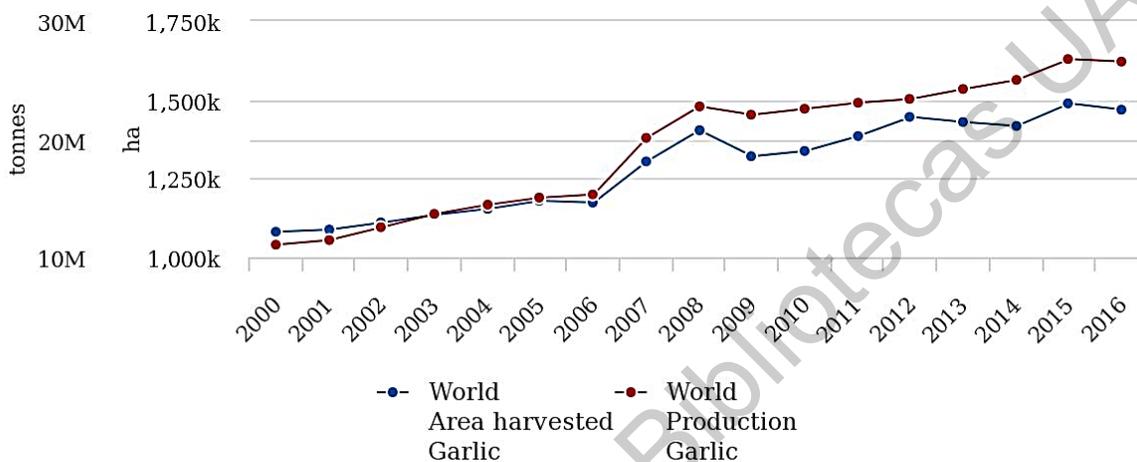


Figura 8. Reacción enzimática de aliína para formar alicina, compuesto responsable del sabor pungente en el ajo (Kyung y Lee, 2001).

1.1.6. Importancia del cultivo de ajo

A nivel mundial la producción de ajo ha ido aumentando; datos de la FAO nos indican que en el año 2000 la producción de ajo fue de 11,067,076 toneladas y este incrementó a 26,573,001 toneladas en el 2016, tal como se muestra la Figura 9 (FAO, 2018). Los tres países productores principales de ajo a nivel mundial en el 2016 fueron China quien registró una producción de 21,197,131 toneladas, seguido de la

India con 1,400,000 toneladas y Bangladesh con 381,851 toneladas. De la producción total alrededor del 92 % de la producción mundial de ajo se utiliza para el consumo fresco y sólo el 8 % se destina a otros usos (FAO, 2018).

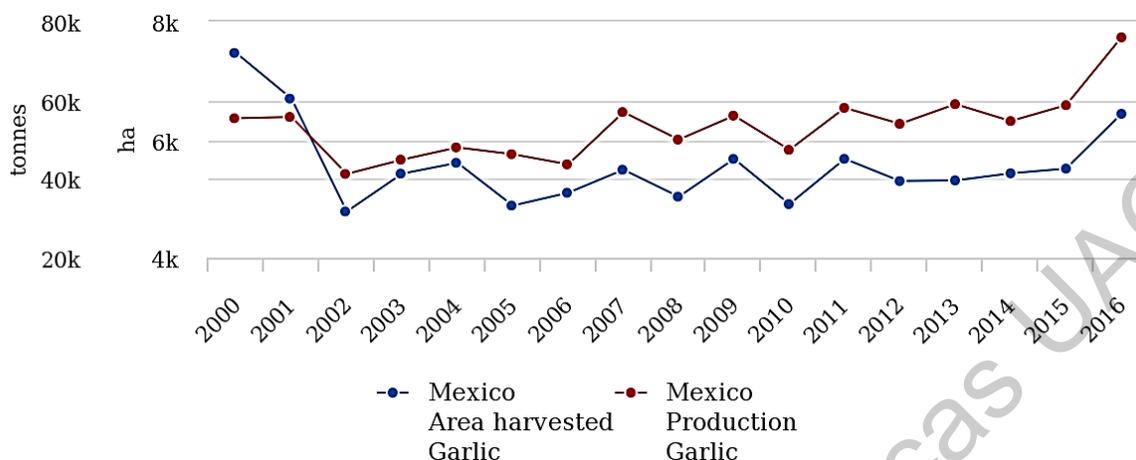


Source: FAOSTAT (Oct 10, 2018)

Figura 9 Producción mundial de ajo (línea roja), rendimiento mundial del ajo (línea azul) a lo largo de los años 2000-2016. (FAOSTAT, 2018)

La producción agrícola de ajo en México registrada en el 2018 fue de 94,037 toneladas (SIAP, 2018), en el 2016 la producción agrícola fue de 75, 987 toneladas la cual posicionó a México en el 20° lugar a nivel mundial, Figura 10 (FAOSTAT, 2018). En México, al ajo se considera como una de las hortalizas más rentable a nivel nacional.

Se cultiva en 21 entidades del país y los principales estados productores son Zacatecas, Guanajuato, Puebla, Baja California y Sonora, estados que aportan el 87.1 por ciento de la producción nacional. Otras entidades que también producen esta hortaliza son Veracruz, Aguascalientes, Nuevo León, Oaxaca, Querétaro, Durango, San Luis Potosí, Hidalgo, Guerrero, Jalisco, Tlaxcala, Baja California Sur, Coahuila y Michoacán, entre otras. Los principales destinos de exportación son Estados Unidos, Australia, Brasil, Francia y Martinica, los cuales representan el 98.9 por ciento de las ventas al exterior de este producto (SAGARPA, 2016).



Source: FAOSTAT (Oct 10, 2018)

Figura 10 Producción en México de ajo (rojo), rendimiento en México del ajo (azul) a lo largo de los años 2000-2016 (FAOSTAT, 2018).

Por su parte, entre 2013 y 2016 la exportación de ajo mexicano aumentó 83.3 por ciento al pasar de 11.6 millones de dólares a más de 21.3 millones reportados el año pasado, lo que equivale a una Tasa Media de Crecimiento Anual de 16.4 por ciento (SAGARPA, 2016).

Se espera que tanto la producción como el consumo de ajo a nivel nacional se vean incrementados en los siguientes años. En cuanto al consumo en México anual per cápita de ajo es de aproximadamente 400 gramos (Burba, 2006).

1.1.7. Factores de calidad del ajo.

Una vez cosechado, el ajo se define como producto de calidad para su comercialización y distribución, cuando el bulbo ha sido secado al grado en que el pseudotallo (conjuntos de la base de las hojas), las túnicas o capas de epidermis cubren el bulbo o cabeza y las películas que rodean a cada diente están completamente secos (NMX-FF-018-SCFI-2006).

La calidad comercial del ajo fresco está relacionada básicamente con el peso y el diámetro del bulbo (Burba y Lanzavechia, 2003), los cuales son los parámetros más importantes para considerar al momento de su compra. Se prefieren ajos con un

diámetro de 45 a 60 mm (Cuadro 3) y con pocos dientes, aunque también se toma en cuenta el estado sanitario del producto y la integridad del mismo; es decir, dientes bien cubiertos por las túnicas exteriores del bulbo (Macías y col. 2010).

Cuadro 3. Calibres USA- Florida International Enterprise (Burba y col, 2003).

N°	DENOMINACION	BULBOS por LIBRA	PESO DE BULBOS (g)	DIAMETRO DE BULBOS	
				(pulgadas)	(mm)
11	Super Super Colossal	4-5	91 a 110	3	76,2
10	Super Colossal	5-6	76 a 90	2 ¾	69,8
9	Super Jumbo	7	65 a 75	2 ½	63,5
8	Extra Jumbo	8-9	50 a 57	2 ¼	57,1
7	Jumbo	10-11	41 a 45	2 1/8	53,9
6	Giant Jumbo	12-13	35 a 38	1 7/8	47,6
5-4-3	Extra Flor Large tube	15	30 a 32	1 ¾	44,4
2	Flor Medium tube	17	26 a 27	1 5/8	41,2

Algunos de los factores que afectan la calidad del bulbo entero, son la fecha de siembra, condiciones de luz, fotoperiodo, temperatura durante el desarrollo, programa de fertilización, momento de la cosecha, curado y las condiciones de almacenado de los bulbos (Alvarado, 2000).

Para obtener bulbos de buena calidad, es necesario tener durante las primeras etapas de desarrollo días fríos y fotoperiodos cortos, posteriormente cuando se encuentra en la etapa de formación hasta su cosecha, es importante tener días con temperaturas elevadas y fotoperiodo largo. Estas condiciones ambientales promueven la adecuada formación y diferenciación de los bulbos (Burba, 1992; Braz, 1997).

1.1.8. Usos del ajo

El ajo además de ser un condimento indispensable en la cocina popular constituye la base de determinadas especialidades culinarias que cada día tiene más adeptos.

El ajo se aprovecha fundamentalmente de las siguientes formas de consumo:

- Bulbos semisecos o secos
- Ajo deshidratado en hojuelas o polvo
- En especialidades farmacéuticas
- En otros usos como los encurtidos
- Como ajo negro, el cual puede tener presentación en polvo, cápsulas y dientes pelados (Figura 11).



Figura 11. Diversas presentaciones del ajo negro. A) En polvo, B) En cápsulas, C) En dientes pelados (Ríos-Ríos y col, 2016).

1.2. Ajo negro

El ajo negro es usado como un ingrediente en la cocina asiática. El sabor es dulce y almibarado, con relación a sabores balsámicos o de tamarindo (Lee y col. 2011). La popularidad del ajo negro ha crecido alrededor del mundo y se ha convertido en un ingrediente usado en la alta cocina. Hay reportes que mencionan que se obtiene por fermentación (Sato y col., 2006), Actualmente se sabe que se obtiene cuando los bulbos son sometidos a temperaturas y humedad altas y controladas, proceso que

da como resultado dientes negros (Lee, y col. 2009). Recientemente se ha demostrado que el color y sabor característico del ajo negro es debido a la reacción de Maillard (Zhang, 2015; Ríos-Ríos y col., 2018).

El compuesto precursor del olor y sabor característico del ajo fresco es el (+) α -S-allylcysteine-sulfoxide (aliína). Cuando el bulbo es dañado, ya sea por golpes, troceado o picado, la acción enzimática de la aliinasa produce la conversión a alicina, ácido pirúvico y amoníaco (Espinoza-Cáceres y col., 2010). Esta reacción química no puede ocurrir después de que el ajo es tratado térmicamente, debido a que la enzima aliinasa es inactivada a partir de los 60°C (Wang y col. 2011), en el caso particular del ajo negro, como éste se obtiene después de un tratamiento térmico por un periodo de tiempo que van desde los 30 hasta los 60 días (Sato y col., 2006; Zhang y col., 2016; Li y col., 2014), el sabor que presenta el ajo negro es más dulce que pungente (Blumenthall, M. 2000). Además, se promueve la formación de varios compuestos que contienen sulfuro, que le da otras propiedades y contribuyen a incrementar los beneficios a la salud de las personas que lo consumen. También, ha sido reportado que el ajo negro tiene una mayor actividad antioxidante comparado con su forma fresca, y una mayor eficacia en la prevención de enfermedades metabólicas y hepatotoxicidad alcohólica (Lee y col., 2009).

El ajo negro se ha introducido al mercado de países del oriente como Corea y China, como un producto saludable. El ajo negro puede consumirse directamente (bulbillos), como extracto o ser usado como ingrediente en la preparación de diversos productos como bebidas, dulces, helados debido a su sabor dulce y ligeramente ácido (Shin y col., 2008). Uno de los atractivos del ajo negro es que su proceso de elaboración no requiere el uso o agregado de conservadores u otros aditivos químicos (Li y col., 2014).

1.2.1. Producción del ajo negro

El ajo negro es un producto derivado del ajo fresco que se logra por un tratamiento térmico por un largo tiempo; no existe un proceso estandarizado y muchos de los

procedimientos no se expresan, pero algunos han reportado una variedad de condiciones, donde se sabe que se debe de someter el ajo a temperaturas entre un rango de temperatura de 65°C a 90°C, y una humedad relativa mayor a 60%. (Jang y col., 2008; Wang y col, 2011). Zhang y col., en el 2015 evaluaron temperaturas de 60, 70, 80 y 90°C con una humedad relativa de 80%, encontrando que a 70°C se logró obtener un ajo negro con buena calidad sensorial; por su parte, Ríos- Ríos y col., 2018 evaluaron diferentes niveles de HR (75, 85 y 94%), encontrando que a una HR de 94% y a 70 °C se obtuvo un ajo negro dulce y suave, con características sensoriales similares a ajo negro comercial.

El color negro es desarrollado por medio del oscurecimiento no enzimático; tanto por la reacción de Maillard, como por degradación del ácido ascórbico, pero no por caramelización (Ríos-Ríos y col., 2018). El desagradable olor y sabor del ajo crudo es disminuido por la inhibición de la enzima alinasa, responsable de la transformación de la aliína a alicina (Figura 8) (Montano y col. 2004). Adicionalmente el valor de pH y el contenido de humedad de la muestra disminuyen de manera importante como resultado del tratamiento térmico y esto puede contribuir en su vida de anaquel (Chu y col. 2007).

Las variaciones del color se deben principalmente a las reacciones que sufren los componentes del ajo. La intensidad del color del ajo negro cambia durante su procesamiento como se puede observar en la Figura 12.

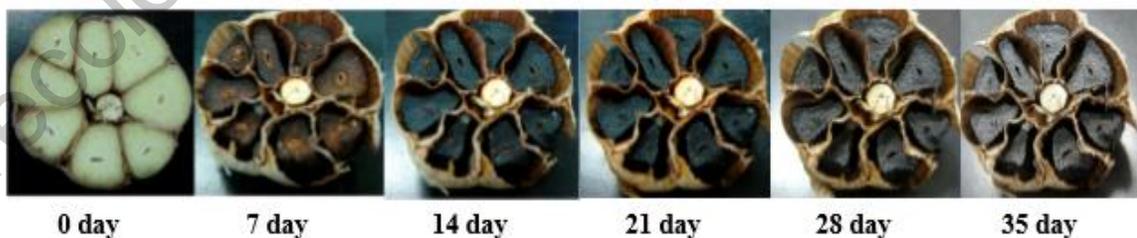


Figura 12. Cambios de color del ajo, hasta la obtención del ajo negro hasta los 35 días de procesamiento (Choi y col., 2014).

1.2.2. Reacciones de oscurecimiento en los alimentos.

Durante la fabricación, el almacenamiento y otros procesos aplicados a muchos alimentos, estos pueden desarrollar una coloración que, en ciertos casos, mejora sus propiedades sensoriales mientras que en otros las deteriora. Así, resulta necesario conocer las condiciones que provocan ambas reacciones para poder controlarlas. La complejidad química de los alimentos hace que se propicien diversas transformaciones responsables de esos cambios. Durante el oscurecimiento, se sintetizan compuestos que van desde un ligero amarillo hasta café oscuro; este oscurecimiento se clasifica en reacciones enzimáticas y no enzimáticas.

Dentro de las reacciones enzimáticas se incluyen la reacción catalizada por la polifenol oxidasa, peroxidasa, tirosinasa, entre otras; mientras que las reacciones no enzimáticas se incluyen la reacción de Maillard, la caramelización y la degradación de ácido ascórbico.

Los mecanismos de oscurecimiento en los que intervienen azúcares reductores son la caramelización y la reacción de Maillard (Badui, 2013), por lo que esta reacción puede verse implicada en el proceso térmico del ajo negro.

1.2.2.1. Caramelización

La caramelización ocurre cuando los azúcares se calientan por arriba de su punto de fusión. La reacción se lleva a cabo tanto a pH ácidos como alcalinos, se presenta en alimentos tratados térmicamente de manera drástica. Por ejemplo, para la sacarosa, cuando se calienta a más de 160°C, genera simultáneamente una hidrólisis, deshidratación y la dimerización de los productos resultantes (Badui 2013). La fructosa, el principal azúcar en el bulbo de los ajos, tiene un punto de fusión de 103-104 °C (Hurta, 2004), por lo que una reacción de este tipo necesitaría de temperaturas por arriba de dichos valores.

Los mecanismos que producen este tipo de reacciones son muy complejos y no se conocen en su totalidad.

Comercialmente, la caramelización se lleva a cabo de manera controlada para la fabricación de caramelos, postres o productos de confitería. (Badui, 2013)

1.2.2.2. Degradación del ácido ascórbico

El ácido ascórbico, comúnmente llamado vitamina C, es considerado uno de los más potentes agentes antioxidantes del organismo. En humanos se encuentra concentrado en ciertos órganos como: ojo, hígado, bazo, cerebro, glándulas suprarrenales y tiroideas. Es una vitamina hidrosoluble y esencial, sintetizada químicamente a partir de glucosa, mediante una serie de reacciones catalizadas por enzimas, siendo a L-gulono- γ -lactona oxidasa (GLO) la última enzima involucrada en su síntesis (Blanco A., 2006).

Inicialmente la molécula de ácido ascórbico pierde un electrón convirtiéndose en el mono anión ascorbato, luego, con la pérdida de un segundo electrón se origina el ácido dehidroascórbico. El anillo de lactona presente en el ácido dehidroascórbico le confiere alta inestabilidad a la molécula que es fácilmente hidrolizada para producir ácido 2,3-dicetoglucónico, por descarboxilación este ácido se convierte finalmente en furfural desprendiendo CO_2 (Serra y Cafaro, 2007).

Debido a su estructura química el ácido ascórbico es muy sensible a la degradación. Numerosos factores influyen en los mecanismos descritos, entre ellos el pH, la concentración de oxígeno, la presencia de enzimas, los catalizadores metálicos, entre otros. Los productos terminales de la degradación del ácido ascórbico adquieren importancia debido a su participación en el pardeamiento no enzimático o reacción de Maillard.

1.2.2.3. Reacción de Maillard (RM)

Los cambios de color en el ajo ocurren por la aplicación de un tratamiento térmico que es típicamente el resultado de la reacción de Maillard, conocida también como

una reacción de oscurecimiento no enzimático. La reacción de Maillard, es una reacción química que ocurre entre azúcares reductores, compuestos dicarbonílicos, o productos de la degradación del ácido ascórbico con proteínas y aminoácidos (Jesse, 2000). La interacción entre grupos carbonilos y aminos genera una base de Schiff inestable que se transforman en los compuestos de Amadori, los cuales sufren luego una serie de reacciones a través de los intermediarios dicarbonílicos para formar los llamados grupos finales de glicación avanzada. (Figura 13) (Rongzhu, y col., 2004).

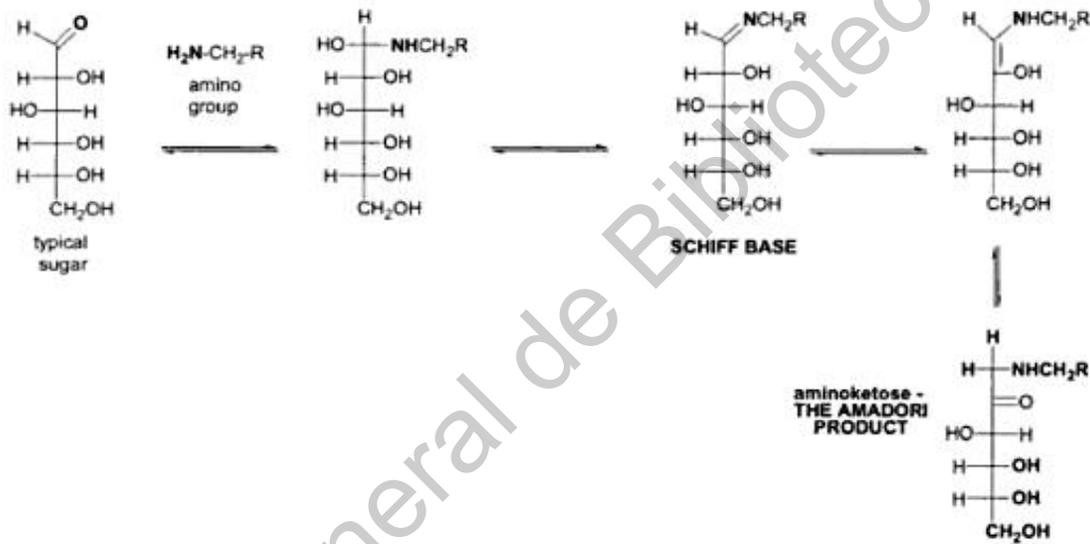


Figura 13. Etapas de la reacción de Maillard, desde un azúcar y un grupo amino hasta los productos de Amadori (adaptado de Ledl y Scleicher, 1998).

Esto se traduce en la formación de hidroximetil furfural (HMF) (Figura 14) en el ajo negro, ya que se sintetiza, tras la deshidratación de los azúcares bajo condiciones ácidas durante su tratamiento térmico, condiciones por las que atraviesa el ajo fresco hacia su transformación en ajo negro (Capuano y col., 2010).

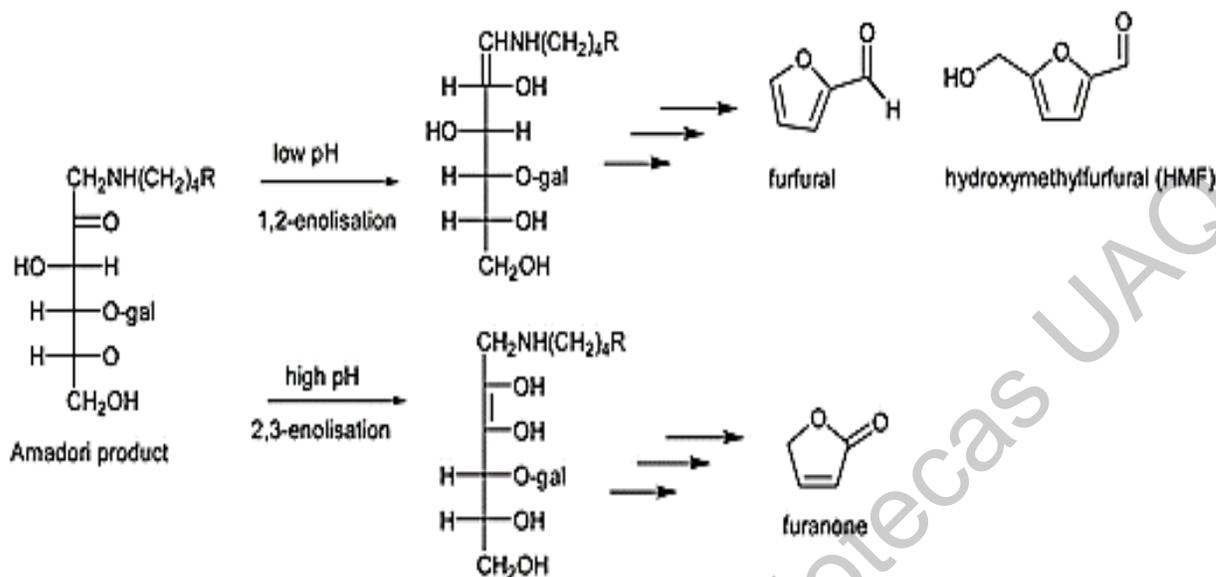


Figura 14. Posibles vías de enolización influenciadas por el pH, donde se obtienen a pH bajos hidroximetil furfural (Boekel, 1998).

La presencia de azúcares reductores para la reacción de oscurecimiento del ajo es indispensable para que se presente la reacción de Maillard. Se ha encontrado en la literatura que el contenido de azúcares reductores se aumenta aproximadamente 6 veces, desde 2.3 g/kg en el día 7 hasta 16.07 g/kg en el día 35, cabe destacar que estos compuestos también son significativamente diferentes en el ajo fresco (1.52 g/kg) (Choi y col, 2014). Este resultado es traducido en un incremento de los azúcares reductores (principalmente fructosa) comparado con el ajo fresco, por lo tanto, se explica el sabor dulce del ajo negro. Además, se ha realizado la identificación de compuestos intermediarios de la reacción de Maillard como son los 2-furoilmetil-aminoácido, entre ellos, 2-furoilmetil-arginina (2-FM-Arg), 2-furoilmetil-lisina (furosina), y 2-furil ácido amino butírico (2-FM-GABA) (Ríos-Ríos y col, 2018), evidenciando que la transformación de ajo fresco en ajo negro se desarrolla por RM.

1.2.3. Capacidad antioxidante y los efectos en la salud del ajo negro

El consumo de frutas y hortalizas ha sido asociado con una menor incidencia de enfermedades crónicas degenerativas como la obesidad, la diabetes, el cáncer y enfermedades cardiovasculares que generalmente son asociadas con diferentes estados de oxidación. La acción benéfica de frutas y hortalizas se relaciona principalmente con el potencial antioxidante que contienen generalmente compuestos como el ácido ascórbico y compuestos fenólicos, (Aguilera y col., 2008).

La literatura ha identificado que el ajo fresco tiene beneficios asociados a la salud, datos epidemiológicos sugieren que una alta ingesta de ajo es asociada a un efecto protector contra el cáncer de estómago y colo-rectal (Sasaki, y col., 2007). También se presentan estudios donde los pacientes enfermos de gripe común fueron expuestos a un tratamiento de 12 semanas con un registro de su dieta diaria, donde se concluyó que aquellos que fueron tratados tuvieron una menor duración de los síntomas que aquellos que tuvieron un tratamiento placebo (Josling, 2001). Otros estudios realizados, registraron una disminución en los niveles de LDL en pacientes con tratamiento comparados contra los expuestos a un placebo (Stevinson y col., 2000). Así como también estudios donde se presenta una reducción significativa en la presión sistólica y diastólica en pacientes con hipertensión después de una ingesta del extracto de ajo (Andrianova y col, 2002).

La actividad antioxidante del ajo puede estar afectada por el proceso al cual es sometido el ajo fresco, (Querioz y col, 2009). Durante el tratamiento para la obtención del ajo negro, se somete el ajo fresco a altas temperaturas (70°C) y altas humedades relativas (90% HR) (Jang y col., 2008; Kang y col., 2008). Durante este proceso, compuestos inestables del ajo fresco incluyendo aliina son convertidos a compuestos estables como la alil cisteína (SAC), un compuesto hidrosoluble con fuerte efecto antioxidante (Corzo- Martinez y col., 2007). Se ha reportado que el ajo negro muestra una mayor actividad antioxidante *in vitro* comparada con el ajo fresco (Jang y col., 2008). Esto coincide con lo reportado por Choi y col. en el 2014, en donde encontraron que el contenido de polifenoles totales fue significativamente más alto

para el ajo negro comparado con el ajo fresco (13.91 mg GAE/g). En la literatura se reporta que un consumo del 5% de ajo negro en la dieta mejora la resistencia a la insulina, disminuyendo el colesterol sérico total y triglicéridos, e incrementando niveles del colesterol HDL en ratones. (Jang y Col, 2009)

Según estudios realizados por Young-Min y col., (2009), el ajo negro puede ser útil como una fuente natural de consumo para la prevención de complicaciones en enfermedades como la diabetes.

1.2.4. Procedimientos para obtener ajo negro

El ajo fresco ha sido usado alrededor del mundo como alimento o como suplemento alimenticio; a pesar de incrementar el sabor de algunos platillos, a algunas personas no les agrada ni el olor ni el sabor pungente del mismo. El ajo negro es uno de los productos procesados del ajo fresco, y una de sus características es que el aroma y sabor pungente es considerablemente bajo.

Se sabe que cuando el ajo fresco es calentado y sometido a HR altas, se obtiene el ajo negro. Muchos han sido los estudios enfocados a investigar los compuestos bioactivos en el ajo negro, y sus actividades funcionales, sin embargo, existe información limitada acerca de los cambios y características en la calidad durante el proceso térmico. Uno de los estudios enfocados a estos cambios es el que realizaron Zhang y col en el 2015, donde estudiaron el rol de la temperatura en la calidad del ajo negro, en este estudio se procesó el ajo fresco a temperaturas de 60, 70, 80 y 90 °C observando que a medida que la temperatura aumentaba, el tiempo de proceso era más corto; sin embargo, se encontró que el ajo negro obtenido en la condición de 70°C, presentó la mayor aceptación sensorial y mejor calidad, a pesar de esto, la obtención del ajo negro bajo estas condiciones se obtuvo a los 42 días, por lo que es necesario evaluar posibles pre-tratamientos que reduzcan el tiempo sin afectar la calidad sensorial, nutricional y fisicoquímica del producto final.

1.2.5. Pretratamientos para la obtención del ajo negro

El proceso para la transformación del ajo fresco a un ajo negro se realiza a temperaturas y humedades relativas altas con tiempos prolongados hasta por más de treinta días.

La aplicación de un pretratamiento, puede disminuir el tiempo requerido para obtener el producto dado que estos procedimientos están dirigidos a inducir la hidrólisis de los fructanos para liberar fructosas que puedan participar en la reacción de Maillard y por ende obtener ajo negro.

Entre los pretratamientos se ha reportado el uso de secado convectivo y el calentamiento óhmico (Ríos-Ríos y col, 2018). Considerando el desarrollo de color como parámetro de proceso, se obtuvo un ajo negro en 8 días de proceso; 4 días en pre-tratamiento de secado convectivo a 70°C con 9% HR y 4 días a 70°C con 94% de HR, pero las características sensoriales no fueron aceptables. Para los ajos que se pre-trataron con calentamiento óhmico el tiempo requerido para obtener ajo negro fue de 12 días a 70°C con 94% de HR; es importante destacar que el pre-tratamiento en calentamiento óhmico fue a 70°C con 130 V por 10 min, obteniendo un ajo negro con características similares al ajo negro comercial y al ajo negro con tratamiento tradicional, el cual requirió 30 días a 70°C con una HR de 94%. Otro pre-tratamiento que puede inducir la hidrólisis de los fructanos puede ser la congelación (Li y col., 2014).

1.3. Efectos de la congelación y descongelación en tejidos vegetales

Uno de los principales efectos del daño por congelación en sistemas biológicos es el rompimiento de la membrana celular. La flacidez, la pérdida de agua de los tejidos y órganos que sucede en la descongelación, son el resultado del daño a la membrana.

La citología ha demostrado que al observar en el microscopio electrónico los tejidos de las plantas que han sido expuestos a la congelación, se evidencian cambios en la turgencia de la célula, la aparente reducción del volumen del citoplasma y la vacuola,

una desorganización de los organelos y una pérdida de la estructura del citoplasma, lo que deja a mayor disposición los componentes de su estructura celular.

Otro cambio fisiológico como resultado de la congelación es en la membrana plasmática, los cambios son observados por la pérdida de electrolitos. La nucleación del hielo inicial ocurre extracelularmente entre los -2°C y -15°C , dependiendo de la concentración de los sólidos solubles. El punto de congelación disminuye a medida que la concentración osmótica aumenta. Por ejemplo, la lechuga se congela cerca de los -0.02°C , y las uvas donde su contenido de azúcares es de 14% en su peso en fresco, se congelan hasta los -0.2°C . El equilibrio se alcanza ya sea cuando la célula se deshidrata o cuando empieza a haber formación de hielo intracelularmente (Wills y col., 1998).

La congelación del tejido se inicia con la desecación y el estrés osmótico de las estructuras celulares, como las membranas, y en los constituyentes, como las proteínas, debido a que el agua se pierde para soportar el crecimiento de los cristales de hielo. En adición a esto, la expansión del agua al congelarse intracelularmente puede causar ruptura física en la estructura celular, es decir, las repercusiones del congelamiento además de la presencia de cristales ocasionado por las bajas temperaturas, la deshidratación de la célula produce su reducción de volumen y el incremento de los solutos.

El tejido se ve afectado negativamente en la congelación – descongelación, observándose más flácido y empapado. Se ha encontrado que algunos tejidos no sufren daño al descongelarse como sucede en la cebolla, el repollo y algunos cultivares de peras; esta recuperación de la forma normal y funciones puede ser atribuida a que el daño en la célula es mínimo y que los rangos de temperatura son suficientemente pequeños para permitir una redistribución ordenada del agua y la reformación de compartimentación (Wills y col., 1998).

1.3.1. Efecto de la congelación en el ajo

Los bulbos de ajo que se someten a temperaturas de congelamiento pueden sufrir cambios en el color y en la estructura de los bulbillos. Estudios demuestran que el grado de congelación y el daño potencial en los bulbos de ajo no está solo en función de la temperatura, si no también está influenciado por la velocidad de reducción de la misma y por el tiempo de almacenamiento. El agua pura tiene un punto de congelación a 0°C; mientras que los productos alimenticios, al ser una mezcla de diferentes constituyentes (entre 10 y 30% de sólidos), tienen un rango de temperaturas de congelación (Comini y col, 1974).

Fisicoquímicamente, el punto de congelación es la temperatura en donde la fase líquida y la fase sólida de una sustancia están en equilibrio a una presión dada (Polley y col, 1980). James y col., 2009, demostraron que el punto de congelación de bulbillos de ajo pelado es de -2.7 °C. Es decir, a -2.7°C el agua contenida en los bulbillos de ajo comienza a congelarse evidenciándose por un cambio físico de las características en las células del ajo, como se aprecia en la figura 15. Se muestra de izquierda a derecha, ajos descongelados a temperatura ambiente 21 ± 1 °C durante una semana, seguidos de ajos almacenados en refrigeración a 1 ± 1 °C, por último, ajos congelados a una temperatura de almacenamiento a -30 ± 0.5 °C, donde existe un daño visual en los dientes. Estos efectos se observan en bulbos enteros como se muestra en la figura 16 (James y col., 2009).



Figura 15. De izquierda a derecha, diente de ajo almacenado a temperatura ambiente por 1 semana, diente de ajo enfriado a 1 ± 1 °C y diente de ajo congelado a -30 ± 0.5 °C (James y col., 2009).

Esto nos da una idea de qué efecto tiene el almacenamiento a temperaturas de -20°C , donde los bulbos de ajo pueden congelarse mostrando un daño en la estructura celular, una mayor hidrólisis de los fructanos liberando azúcares simples; los cuales pueden favorecer la reacción de Maillard cuando estos bulbos se sometan a las condiciones de obtención de ajo negro; es decir alta temperatura y humedad. Para este trabajo de investigación se plantea evaluar el efecto de la congelación como pretratamiento almacenando los ajos a -20°C (congelación comercial) en la calidad de ajo negro.



Figura 16. Bulbo de ajo almacenado a $-30^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ (James C. y col., 2009)

2. HIPÓTESIS

El pre-almacenamiento en condiciones de congelación comercial (-20°) reduce el tiempo de producción de ajo negro sin afectar su calidad final.

3. OBJETIVOS

3.1. General

Evaluar el efecto del almacenamiento como pretratamiento en el tiempo de procesamiento y calidad del ajo negro.

3.2. Específicos.

- Determinar tiempo de almacenamiento a -20°C para inducir la hidrólisis de los fructanos monitoreando la concentración de azúcares reductores.
- Evaluar la calidad de ajo negro producido a través del método tradicional y con pretratamiento de congelación a través de los parámetros fisicoquímicos.

4. METODOLOGÍA

Los experimentos se realizaron en el laboratorio de Fisiología y Bioquímica Poscosecha de Frutas y Hortalizas, del Posgrado de Alimentos y en la Planta Piloto de Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

La experimentación se inició con la evaluación del tiempo de almacenamiento a una temperatura de -20°C usando como parámetro la concentración de azúcares reductores en los bulbos de ajo. Los bulbos seleccionados se sometieron a -20°C en un congelador marca Tappan, modelo EUR 25 por 12, 24, 36, 48 horas.

Para el TT y CT, se sometieron al tratamiento 35 bulbos de ajo, se realizaron muestreos cada 4 días, dando un total de 8 muestreos por tratamiento. En cada muestreo se seleccionaron 3 bulbos de ajo al azar, en cada uno de los bulbos se seleccionaron tres bulbillos de manera aleatoria, teniendo un total de muestra de 9 bulbillos que se emplearon para los parámetros fisicoquímicos y de calidad.

En el CT, los bulbos se colocaron en un sistema con un ambiente de alta humedad relativa (H_R) a una temperatura controlada de 70°C (tratamiento tradicional). Se registró el tiempo total requerido para la obtener ajo negro monitoreando el cambio de color. Antes y después de la aplicación del pre-tratamiento; así como durante el almacenamiento a 70°C con alta humedad se tomaron muestras cada 4 días para evaluar la apariencia de los bulbos y en los dientes se evaluó el color (ΔE), la textura, el contenido de azúcares reductores (AR); de sólidos solubles totales ($SST=^{\circ}\text{Bx}$), de fenoles totales (FT), el valor de pH, de actividad de agua (A_w), así como la pungencia. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Se analizaron estadísticamente mediante el cálculo de la media y la desviación estándar comparando los resultados del tratamiento de las muestras control y las sometidas bajo congelación. La estrategia experimental se muestra en la figura 17.

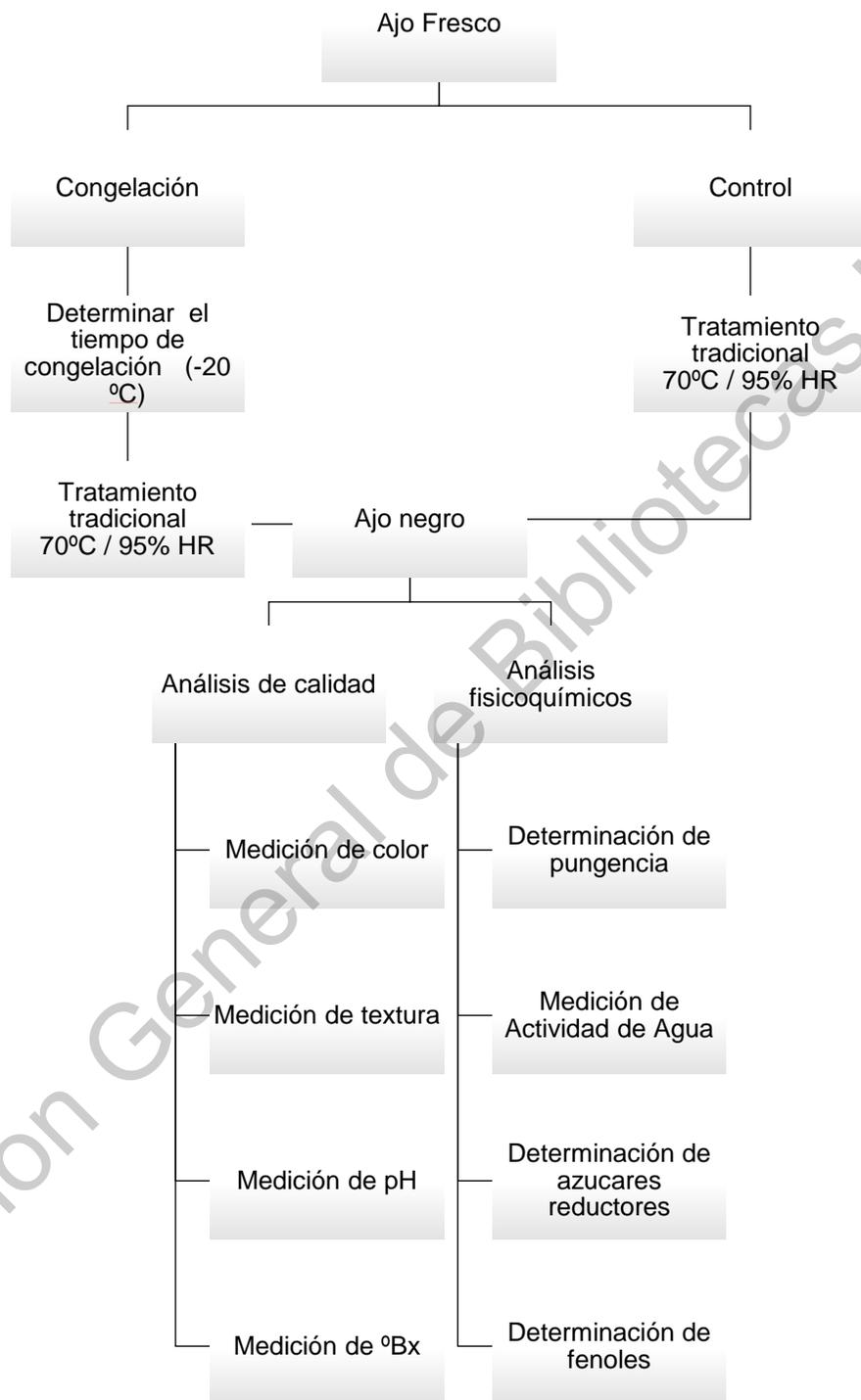


Figura 17. Estrategia experimental.

4.1. Material Biológico

Los ajos se adquirieron en la central de abastos de Querétaro, Qro. Se seleccionaron manualmente eligiendo únicamente bulbos compactos, sanos y libres de defectos. Los bulbos de ajo se almacenaron a temperatura ambiente (23-25 °C) con una humedad relativa <75% hasta su uso. Todo el material de vidrio que se usó fue higienizado con una solución de hipoclorito de sodio a 250 ppm durante 15 min.

4.2. Producción de ajo negro

4.2.1. Tratamiento tradicional para la producción de ajo negro.

El tratamiento tradicional se basó en el reportado por Zhang y col. (2015) y adecuado por Ríos-Ríos y col. (2018). En un horno de aire forzado se montó un sistema cerrado en frascos de vidrio; la tapa de rosca de los frascos permitió mantener la humedad del micro-ambiente a $\approx 94\%$ usando agua potable. Los bulbos de ajo se mantuvieron suspendidos con ayuda de una manta cielo. El sistema se mantuvo a una temperatura de 70°C (Figura 18).



Figura 18. Sistema para la obtención de ajo negro.

4.2.2. Método de pretratamiento para el ajo negro

Para evaluar el efecto del pretratamiento para el procesamiento de ajo negro, se eligió una temperatura comercial (-20 °C) para el almacenamiento de los ajos. Se determinó el tiempo óptimo de congelación (12, 24, 36, 48 horas), donde muestras de bulbos de ajo fresco congeladas se analizaron en su concentración de azúcares reductores.

Una vez determinado el tiempo óptimo da -20°C, se sometieron los bulbos de ajo provenientes de congelación al tratamiento tradicional. Se registró el tiempo requerido para la obtención de ajo negro, y se realizaron los análisis fisicoquímicos y de calidad.

4.3. Análisis fisicoquímicos

4.3.1. Determinación de variación de peso

Para estimar la pérdida o ganancia de peso durante la obtención de ajo negro, se tomaron 10 bulbos de ajo de los cuales se registraron sus pesos desde el tiempo cero hasta el término del tratamiento, y el resultado se expresó en gramos de pérdida/ganancia de peso. Para esto se usó una balanza analítica marca Sartorius modelo AC210S, con una precisión de 0.1 mg. El número de muestras fueron 10 bulbos de ajos al inicio y al final de cada muestreo.

4.3.2. Determinación de color interno

El color es un efecto de la luz blanca y su determinación objetiva se basa en la descomposición de la misma, por lo tanto, a cada una de las muestras en los diferentes muestreos se les midió color de sus bulbillos o dientes usando un colorímetro marca Minolta CM-2002 (Minolta Co., Tokio Japón). Se registraron las coordenadas de color a^* y b^* , así como la luminosidad (L^*), que se utilizaron para calcular la diferencia total de color de las muestras en los diferentes días con respecto

de una muestra fresca (ajo blanco); a esta diferencia también se la conoce como ΔE o grado de oscurecimiento y se determina usando la siguiente ecuación:

$$\Delta E = [(L^*_{\text{prom, AN}} - L^*_{\text{prom, AF}})^2 + (a^*_{\text{prom, AN}} - a^*_{\text{prom, AF}})^2 + (b^*_{\text{prom, AN}} - b^*_{\text{prom, AF}})^2]^{1/2}$$

Donde:

$L^*_{\text{AN}} - L^*_{\text{AF}}$: diferencia en el valor promedio de L^* del Ajo Negro – el valor L^* promedio del Ajo Fresco

$a^*_{\text{AN}} - a^*_{\text{AF}}$: diferencia en el valor promedio de L^* del Ajo Negro – el valor L^* promedio del Ajo Fresco

$b^*_{\text{AN}} - b^*_{\text{AF}}$: diferencia en el valor promedio de L^* del Ajo Negro – el valor L^* promedio del Ajo Fresco

4.3.3. Determinación de pungencia

La pungencia en el ajo se debe mayoritariamente a la presencia de un aminoácido aromático llamado aliína (2-propenil (S)-alil-L-cisteína sulfóxido) que por acción de la enzima alinasa (S)-alquil-L-cisteína liasa) es transformado en alicina. La pungencia del ajo se determinó con la técnica descrita por Schwimmer y Weston, 1961; modificado Anthon y Barret (2003). El método se basa en la reacción del grupo carbonilo del piruvato con el reactivo 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) que forma dinitrofenilhidrazona del piruvato que puede leerse a 515 nm de longitud de onda (Castañeda y col., 2000), los resultados se expresan en μmol ác. pirúvico/g muestra ya que según la reacción este es equivalente a la aliína la cual es la responsable de la pungencia en el ajo (Figura 19).

Dos muestras de ajo; una fresca y otra calentada por 5 min en microondas con la finalidad de eliminar la actividad enzimática; por separado, se pesaron 5g por triplicado y se cortaron en pedazos pequeños; se agregaron 30 mL de agua destilada, se llevaron al homogeneizador durante 1 min y se dejaron precipitar por 10 min a temperatura ambiente; se filtraron usando manta cielo. En un tubo se agregaron 10 μl de cada uno de los filtrados, y se adicionaron 0.5 mL de agua y 0.5 mL DNPH. La

solución se llevó a incubar a 37°C durante 10 min. Una vez terminado el tiempo, se agregó 2.5 mL de NaOH 0.6 M y se midió la absorbancia a 420 nm en un cromatógrafo UV-Vis marca Perkin Elmer modelo Lambda 40. La prueba se hizo por triplicado. Para ajo negro se usó una relación 5 g/ 30 mL agua destilada; mientras que para ajo fresco se utilizó 5 g/ 25 mL. Este parámetro se determinó al inicio y al final del tratamiento.

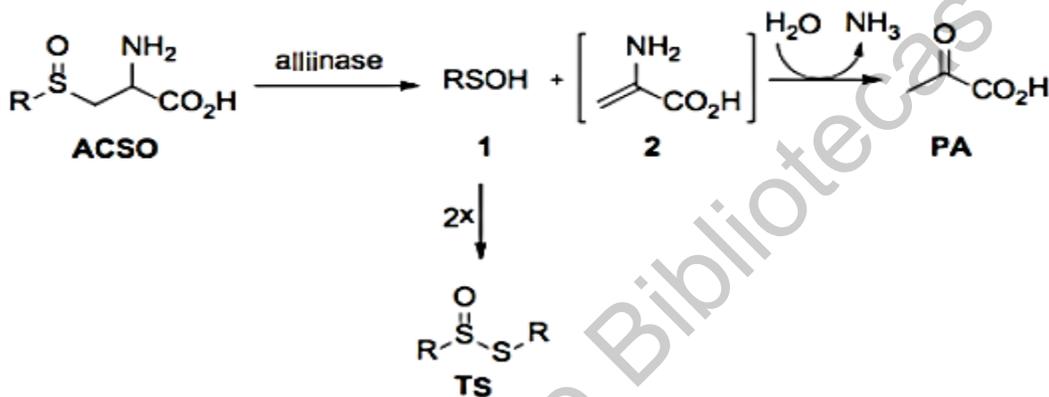


Figura 19. Formación de ác. Piruvico producido enzimáticamente. 1=ácidos sulfénicos; 2 ác. Alfa aminopropiónico; Ts: Tiosulfonatos (Block, 1992)

4.3.4. Determinación de sólidos solubles totales.

Los sólidos solubles totales son aquellas moléculas de bajo peso molecular que tienen la propiedad de ser solubles en agua; entre ellos están los ácido orgánicos, algunas sales, péptidos de bajo peso molecular y los azúcares simples; dado que en los productos hortícolas frescos uno de los componentes más importantes son los azucares simples como la sacarosa, fructosa, y glucosa; y como los otros componentes solubles son de menor concentración, se ha adoptado el uso de °Brix (°Bx) como la unidad de medición. De manera particular los °Brix representan el porcentaje de sacarosa en solución medido con un refractómetro; el fundamento del método se basa en la medición del índice de refracción de la solución dada, el cual es la razón de la velocidad de un rayo de luz a través de esa sustancia (Lozada, L. 1996).

El contenido de sólidos solubles totales o °Bx se determinaron usando un refractómetro Abbe marca Krüss calibrado con agua destilada; el cual mide el índice de refracción (IR) de una sustancia dada, el IR es la razón de la velocidad de un rayo de luz a través de una sustancia el cual depende de su concentración (Lozada, L. 1996).

4.3.5. Determinación de pH

El valor de actividad de agua se determinó con ayuda de un Aqualab serie 3, Decagon Devices el cual se basa en el principio de equilibrio de presión de vapor o punto de rocío. Esta determinación se fundamenta en la obtención del equilibrio de presión vapor de la muestra con el aire de la cámara, y nos muestra el valor de humedad relativa (H_R) en el punto de rocío. En el punto de rocío, se registra la temperatura de la muestra y del espejo con una precisión de 0.0001°C , proporcionando medidas de actividad de agua en intervalos de 0 hasta 1 con excelente precisión. El equipo se calibró con la solución estándar de LiCl 13.3 M (A_w $0.250 \pm .003$; incluida en el equipo) y usando solución de NaCl de valor de actividad de agua conocido (0.75).

Este parámetro se midió al inicio y al final de cada proceso (tratamiento tradicional y congelación/tratamiento tradicional) por triplicado.

4.3.6. Determinación de Actividad de Agua

El valor de actividad de agua se determinó con ayuda de un Aqualab serie 3, Decagon Devices el cual se basa en el principio de equilibrio de presión de vapor. Esta determinación se fundamenta en la obtención del equilibrio de presión vapor de la muestra con el aire de la cámara, y nos muestra el valor de humedad relativa (H_R) en el punto de rocío. En el punto de rocío, se registra la temperatura de la muestra y del espejo con una precisión de 0.0001°C , proporcionando medidas de actividad de agua en intervalos de 0 hasta 1 con excelente precisión. El equipo se calibró con la

solución estándar de LiCl 13.3 M (A_w $0.250 \pm .003$; incluida en el equipo) y usando solución de NaCl de valor de actividad de agua conocido (0.75).

Este parámetro se midió al inicio y al final de cada proceso (tratamiento tradicional y congelación/tratamiento tradicional) por triplicado.

4.3.7. Determinación de azúcares reductores

La determinación de azúcares reductores para todas las pruebas (durante el pretratamiento y tratamiento para obtener ajo negro) fue según en el método DNS.

Un gramo de muestra se homogenizó en un ultraturax con 15 mL de metanol al 80%, y para el ajo negro se homogenizó la muestra pesando 0.5 g de ajo negro en 80 mL de metanol al 80%.

En un tubo de ensaye se agregaron 0.5 mL de extracto, se adicionó 0.5 mL de reactivo de DNS, y se colocó en un baño a 100°C (ebullición) por 5 min. Los tubos se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se adicionaron 5 mL de agua destilada. La determinación se realizó por triplicado para cada muestra. Se midió la absorbancia a 540 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis marca Perkin Elmer, modelo Lambda 40 UV/VIS, la determinación se realizó por triplicado para cada muestra.

El contenido de azúcares reductores se reportó por gramo de materia seca de cada uno de los experimentos realizados.

4.3.8. Determinación de polifenoles totales

El contenido de polifenoles se determinó con el mismo extracto que usó para la cuantificación de azúcares reductores. Se homogenizó en un ultraturax 1.0 g de ajo en 15 mL de metanol al 80%, y para el ajo negro se homogenizó en un ultraturax siguiendo una relación de 0.5 g de ajo negro en 80 mL de metanol al 80%.

El contenido de polifenoles totales se realizó por el método de Folin-Denis (Schanderl, 1970), el cual está descrito por Sato y col. en el 2006. En un tubo de ensayo se agregaron 200 μL de extracto, y se agregaron 3.2 mL de agua destilada más 200 μL de Folin & Ciocalteu's phenol Sigma® más 400 μL de solución de carbonato de sodio al 20%. Los tubos se incubaron 30 min a temperatura ambiente y se leyeron en un espectrofotómetro UV-Vis marca Perkin Elmer, modelo Lambda 40 a 760 nm. La determinación se realizó por triplicado. Este ensayo se basa en la reacción de transferencia de electrones y mide la capacidad reductora de la muestra (Kishore, 2011).

Dirección General de Bibliotecas UFRQ

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

5.1. Tratamiento tradicional para el procesamiento de ajo negro

Dentro de las condiciones para obtener ajo negro la temperatura y la humedad relativa son muy importantes; los estudios de Li y col., (2014), Zhang y col. (2015), y Ríos-Ríos y col., (2018) demostraron que la temperatura óptima para procesar ajo fresco a ajo negro es de 70°C. Por su parte, Ríos-Ríos y col., (2018) evaluaron diferentes humedades relativas encontrando la condición de 94% de humedad como la más adecuada para obtener un ajo negro después de 30 días de proceso, por lo que en este trabajo se usaron esas condiciones.

Como parte de la experimentación de este trabajo, comparamos el tiempo de obtención de ajo negro y la calidad del producto final como el resultado del pre-almacenamiento a -20°C y posterior tratamiento en las condiciones de temperatura 70° C y 94% de humedad relativa al que denominamos tratamiento tradicional (TT).

5.2. Pre-almacenamiento a -20°C de bulbos de ajo.

Se ha reportado que los bulbos de ajo soportan temperaturas de -2°C sin presentar daño por congelación; sin embargo, a -2.7°C los bulbos de ajo se congelan provocando cambios importantes en su textura (Refe). Como lo que se busca era promover la hidrólisis de los fructanos como consecuencia de la congelación de los bulbos; éstos se almacenaron en un congelador comercial a -20°C. El monitoreo de la temperatura del congelador y la temperatura de tres bulbos de ajo durante 18 horas se muestra en la figura 20. Se puede observar que la temperatura del congelador fue constante entre -16°C y -20°C. Por su parte la temperatura de los bulbos de ajo a temperatura ambiente fue de 25.4°C (Figura 21), la cual se monitoreo cada 30 min. durante 18 horas. Como se puede observar en la Figura 20, la temperatura de los bulbos comenzo a bajar linealmente durante las primeras 2 horas, donde se registro una temperatura entre -2.2°C y -2.8°C; después de 4 horas de almacenamiento a -

20°C la temperatura de los bulbos ya había alcanzado una temperatura de -6.8°C y continuo bajando hasta -11 apartir de 18 horas de almacenamiento.

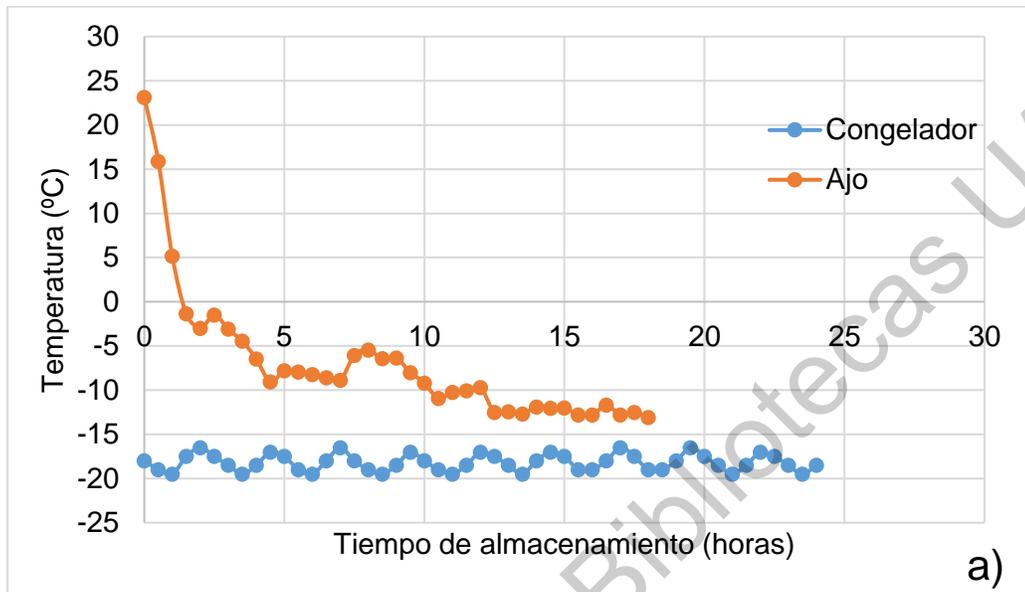


Figura 20. (a) Registro de la temperatura del congelador a -20°C y promedio de la temperatura de tres bulbos de ajo. (b) esquema de medición de la temperatura en los bulbos de ajo

La figura 21 muestra la apariencia física de bulbillos de ajo después de ser almacenados a -20°C por 24 h. Se observa el daño en el tejido evidenciando como un cambio en su color dando la apariencia traslucida; tal como lo reportó Caplan (1988); quien indico que los síntomas de daño por congelación en ajo se evidencian

en la descongelación como bulbillos amarillentos grisáceos y con apariencia de “empapados”

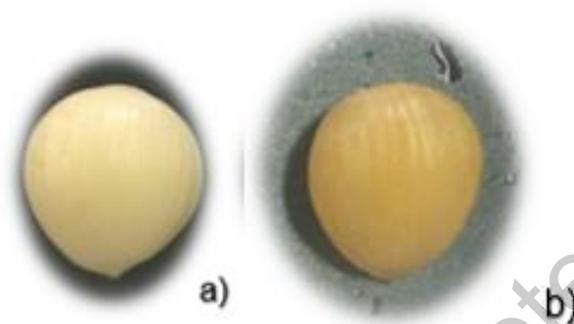


Figura 21. Diente de ajo a 25°C, b) diente de ajo a 25°C después de ser sometido a un almacenamiento a -20°C por 24 h.

El daño directo por congelación ocurre cuando se forman cristales de hielo dentro del protoplasma de las células (congelación o helada intracelular), mientras que el daño indirecto puede ocurrir cuando se forma hielo dentro de las plantas, pero fuera de las células (i.e. congelación o helada extracelular). Lo que realmente daña los tejidos no son las temperaturas frías sino la formación de hielo (Westwood, 1978). Se cree que la formación de hielo intracelular causa una “ruptura mecánica de la estructura protoplásmica” (Levitt, 1980) lo que incrementa la disponibilidad de compuestos. La extensión del daño debido a la congelación intracelular depende principalmente de la rapidez del enfriamiento y la intensidad del enfriamiento antes de congelarse. Considerando que la congelación provoca un cambio en el protoplasma se sugiere que puede tener un efecto sobre los fructanos (polímeros de fructosa) que son los componentes mayoritarios de la materia seca del ajo (Baungarnet, 2000).

Para encontrar el tiempo de pre-almacenamiento a -20°C, se analizó la concentración de azúcares reductores (AR) en los bulbillos por el método de DNS (Li y col., 2014), tomando muestras cada 12 hr a las que se les determino el contenido de azúcares reductores, las muestras se dejaron atemperar por 5 h a temperatura ambiente (25°C).

El cuadro 4 muestra el efecto del tiempo de almacenamiento en condiciones de -20°C sobre el contenido de azúcares reductores. Se puede observar que la concentración incrementa con la exposición a la congelación desde 8.29 g fructosa/100g muestra, hasta 11.74 g fructosa/100 g muestra a las 48h de congelación almacenado a -20°C; desde las 24 horas de exposición se obtuvo una concentración de 10.58 g fructosa/100 g muestra la cual no fue diferente estadísticamente a la obtenida a las 48 de almacenamiento a -20°C.

Cuadro 4. Efecto del almacenamiento a -20 °C sobre los azúcares reductores en función del tiempo.

	Tiempo (h)	AR (g/100)	% incremento
Ajo Fresco	0	8.29±0.003	0b
Ajo	12	8.66±0.003	1.04b
Congelación	24	10.58±0.009	1.28a
	36	10.92±0.010	1.32a
	48	11.74±0.003	1.42a

El aumento en el contenido de AR puede deberse a que durante el almacenamiento a -20°C se provoca la depolimerización de los fructanos como consecuencia de la congelación dando origen a fructosas libres. Dado que la reacción de Maillard se favorece en alimentos ricos en azúcares reductores, se determinó la exposición a -20°C por 24 horas como el tiempo adecuado para obtener una alta concentración de azúcares reductores en los ajos al no haber diferencia significativa con los otros tiempos.

5.3. Cambio de color:

Una vez aplicado el pretratamiento de congelación, los bulbos de ajo pretratados así como los bulbos control sin pretratamiento, se colocaron en las condiciones tradicionales para obtener ajo negro; es decir a 70°C con 94% de humedad relativa; durante el almacenamiento se monitoreó el desarrollo del color en los dientes.

El cambio de color en los bulbillos de ajo durante el proceso de transformación es se puede observar en la Figura 21. Es evidente el cambio de color de los bulbos durante el almacenamiento caliente y húmedo; en las primeras etapas el desarrollo de color es muy similar en ambos tratamientos; a partir de 12 días se observan diferencias entre ellos; observándose más oscuros los bulbos CT que los bulbos TT; este comportamiento era de esperarse debido a que la congelación provoca mayor concentración de azúcares reductores necesarios para promover la RM por lo tanto mayor concentración de compuestos que generan color.

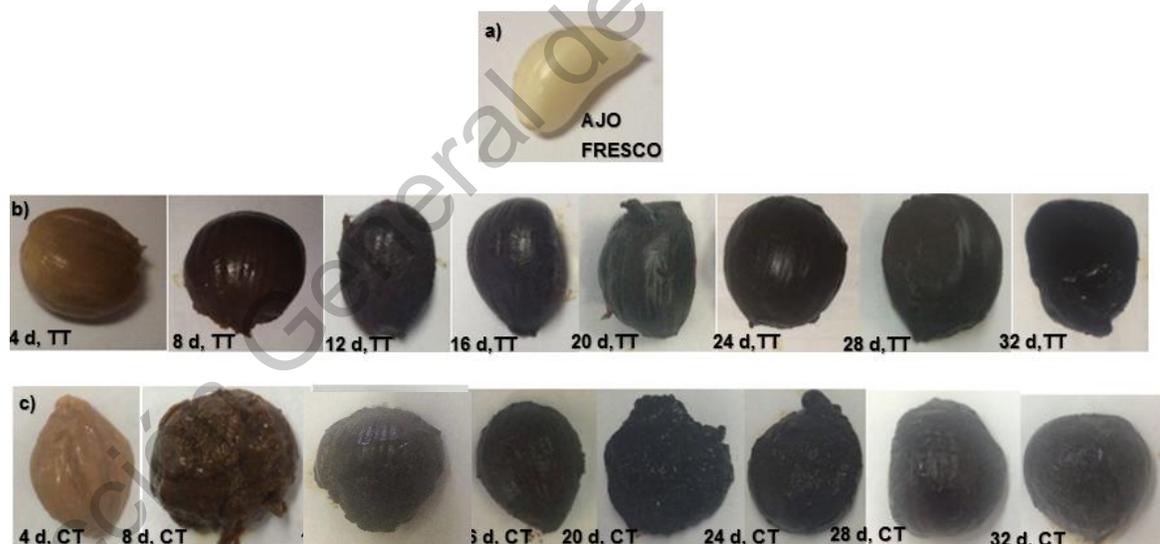


Figura 21. a) Diente de ajo fresco b) Dientes de ajo después de ser sometido a temperatura de 70 °C, 94% humedad sin pretratamiento a lo largo del tiempo en cada muestreo. c) Dientes de ajo después de ser sometido a temperatura de 70°C, 94% humedad con pretratamiento de congelación a lo largo del tiempo en cada muestreo.

La intensidad de oscurecimiento (ΔE) medida con un colorímetro en las muestras durante el almacenamiento con respecto al ajo fresco se muestra en la Figura 22; podemos observar que en ambos tratamientos se presenta el mismo comportamiento; es decir, la intensidad de oscurecimiento incrementa con respecto al tiempo.

Al comparar ambos tratamientos podemos observar que no hubo diferencia estadística significativa en los valores de ΔE ; a los 4 días de tratamiento presentaron un valor de $\Delta E= 34.03$ los bulbos del TT y de $\Delta E= 32.63$ los bulbos pretratados a -20°C . A partir de los 12 días los valores de ΔE comenzaron a ser diferentes entre ambos tratamientos. Al final del almacenamiento (32 días); los valores de ΔE fueron de 68.42 en los ajos control y de 74.36 en los bulbos con pretratamiento, siendo estadísticamente diferentes. El valor de oscurecimiento varía dependiendo de la concentración de carbohidratos iniciales y del contenido de humedad de los bulbos; así como del tratamiento aplicado. En una muestra comercial de ajo negro se encontró que el valor de ΔE fue de 60.3, y en la literatura se reportan valores de $\Delta E = 53.2 - 54.5$ (Ríos-Ríos y col., 2018); de 58.95 (Li y col., 2014) hasta 74.6 (Zhang y col., 2015). Tomando como referencia valores cercanos a los evaluados en estudios anteriores, los bulbos control alcanzaron desde los 20 días de almacenamiento un valor de $\Delta E= 54.24$ sin diferencias hasta los 28 días ($\Delta E= 56.30$); sin embargo, en los bulbos CT estos valores se presentaron desde los 12 días con un $\Delta E=62.36$, con esto podemos inferir que con la congelación se obtuvo un rápido desarrollo de oscurecimiento comparado con las muestras control.

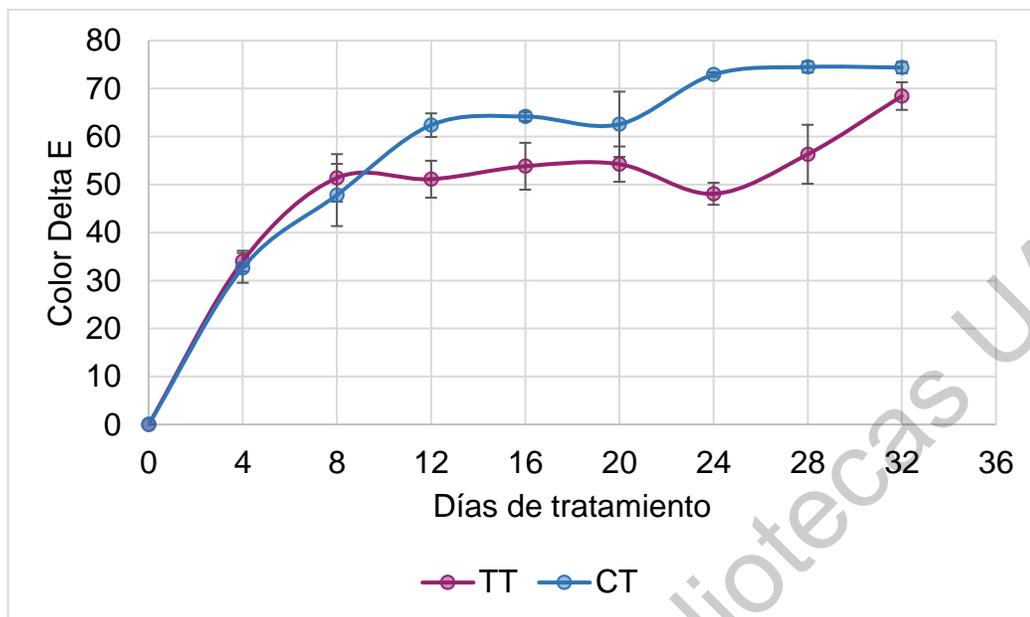


Figura 22. Cambio del color (Delta E) en ajos durante el TT (Línea color morado) y el CT (Línea color azul)

5.4. Azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores en el ajo negro se usó una curva de calibración de fructosa, ya que es el azúcar que se obtiene de la hidrólisis de los fructanos en el ajo (Baumgartner y col., 2000).

Tanto en ajos control como los pretratados con a -20°C el contenido de azúcares reductores incrementó con el tiempo de tratamiento (Figura 23); se puede apreciar que en el ajo negro producido por el tratamiento convencional de los bulbos control presentan una mayor concentración de azúcares reductores lo que coincide con el mayor valor de sólidos solubles totales (Cuadro 5) respecto al ajo negro derivado de bulbos CT. Durante el procesamiento de ajo negro, el contenido de azúcares reductores dependerá de dos factores; por un lado, de la hidrólisis de los fructanos que genera azúcares reductores; y por otro, estos azúcares reductores se consumen durante la reacción de Maillard (Zhang y col., 2015). A pesar de estas diferencias; al final del proceso (32 días) los valores de azúcares reductores son similares, aunque el color de los bulbos pre-tratados es más intenso comparados con los ajos del TT a

partir del día 12, lo que señala que los azúcares reductores se consumen durante la reacción de Maillard y por lo tanto al medirlos estos son menores siendo inversamente proporcionales a la intensidad de color.

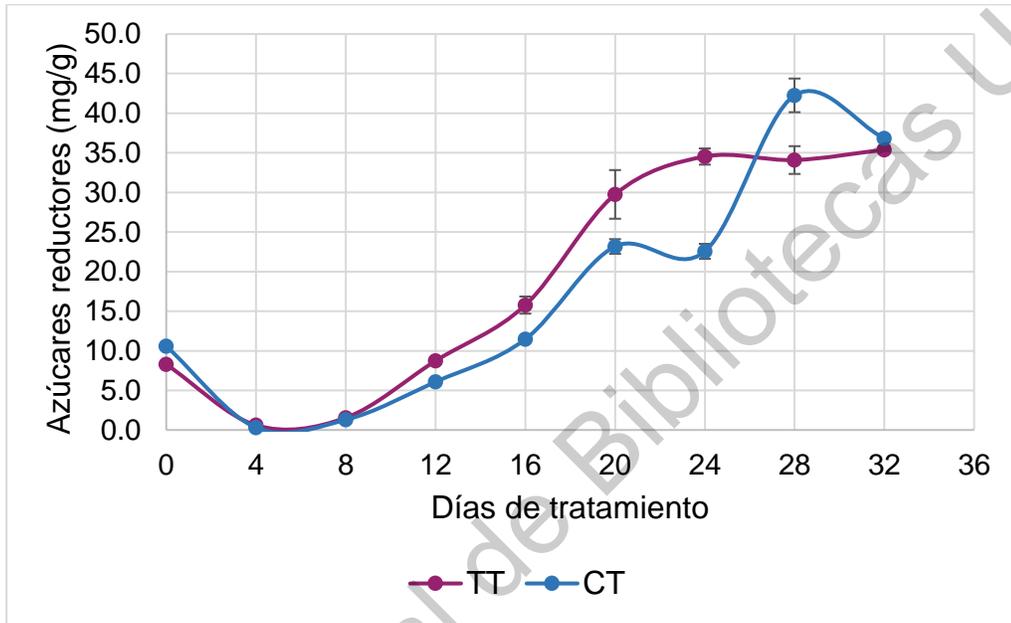


Figura 23. Cambios en el contenido de azúcares reductores en ajo negro de TT (línea morada) y de bulbos CT (línea azul).

5.5. Sólidos solubles

Una característica del ajo negro es su dulzor comparado con el ajo fresco. Los sólidos solubles totales representan los azúcares simples, estos incrementaron 1.2 en el TT; sin embargo, en los bulbos CT disminuyeron alrededor de 0.9 veces con respecto a los ajos control (Cuadro 5), esta disminución puede deberse a que estos azúcares participan con mayor intensidad en el desarrollo de color ya que los bulbos pre-tratados con congelación presentaron mayor oscurecimiento.

Cuadro 5. Valores de °Bx y pH durante el almacenamiento a 70°C / 94% HR de ajos control y pretratados con congelación para obtener ajo negro

Días de tratamiento	Tratamiento tradicional		Congelación + tradicional	
	°Bx	pH	°Bx	pH
0	36.00 ± 0	6.73 ± 0.02	36 ± 0	6.73 ± 0.02
4	38.67 ± 2.30	6.08 ± 0.02	36 ± 0	6.08 ± 0.02
8	40.00 ± 6.9	5.58 ± 0.07	37.33 ± 2.3	5.58 ± 0.07
12	33.33 ± 2.3	4.96 ± 0.05	29.33 ± 2.3	4.96 ± 0.05
16	32.00 ± 6.9	4.66 ± 0.21	28.00 ± 2.3	4.66 ± 0.21
20	37.33 ± 2.3	4.51 ± 0.08	30.67 ± 4	4.51 ± 0.08
24	30.67 ± 2.3	4.39 ± 0.10	29.33 ± 2.3	4.39 ± 0.10
28	38.67 ± 6.11	3.94 ± 0.01	29.33 ± 2.3	3.94 ± 0.01
32	44.00 ± 0	3.93 ± 0.03	33.33 ± 2.3	3.93 ± 0.03

En el cuadro 5 se puede observar que conforme pasaron los días en la condición de 94% HR a 70°C, los °Bx mostraron una tendencia de aumento para los bulbos control, así como para los pre-tratados con congelación. Sin embargo, al final del almacenamiento (32 días) la concentración de sólidos solubles totales en los ajos con pre-tratamiento de congelación fue de 33.33 ± 2.3 °Bx; menores que para los ajos control (44.0 ± 0 °Bx); esta diferencia de 10.67 °Bx, puede representar un sabor menos dulce en el ajo negro pre-tratado que en el control. Los valores de °Bx para el ajo negro de los bulbos control se encuentran en el rango reportado por Ram y col., (2011), quienes reportaron valores que van desde 42.7 hasta 54.7 °Bx y por Toledano-Medina y col., (2016) quienes reportaron valores de °Bx de 44.0 a 49.67. Los valores de °Bx en los bulbos CT coinciden con lo reportado por Ríos-Ríos y col., 2018 de la muestra comercial (°Bx=33.8± 0.31) y lo reportado para los ajos sometidos a pre-tratamiento con calentamiento óhmico (36.8 ± 2.75). El incremento en el contenido de °Bx puede ser la causa del característico sabor dulce-amargo en el ajo negro.

5.6. Determinación de pH

Durante el procesamiento para ambos tratamientos el pH disminuye conforme avanza el tiempo de exposición al tratamiento térmico (Figura 24); al inicio el ajo fresco presenta un pH=6.73. Al finalizar los tratamientos, el pH para los ajos control (TT) fue de pH=3.93, mientras que para los pre-tratados de pH=4.33, ambos valores concuerdan con lo reportado en la literatura. Ríos-Ríos y col., (2016), reportaron valores de pH que van desde los 4.1 hasta los 4.6. Los valores de pH bajos representan un factor de prevención de la posibilidad de proliferación de bacterias anaeróbicas, lo cual puede extender su vida de anaquel de los productos (Chu y col., 2007). La reacción de Maillard está influenciada por el pH marcando las vías de enolización, se ha reportado que a pH bajos ocurre la liberación de ácidos carboxílicos, y como consecuencia se obtendrá hidroximetil fulfural a partir de los productos de Amadori (Boekel, 1998).

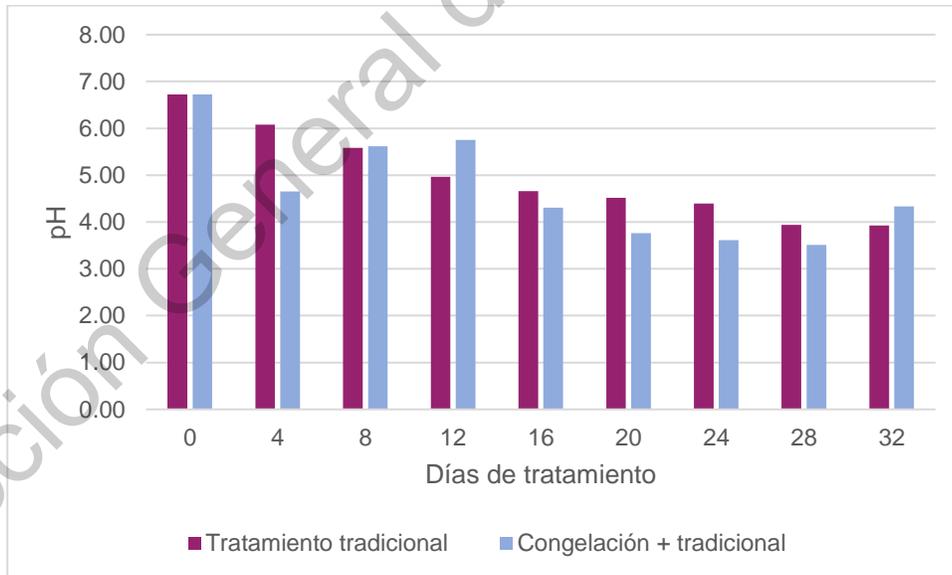


Figura 24. Efecto del pH en función del tiempo del TT (barra morada) y del CT (barra azul)

5.7. Concentración de Fenoles

El ajo fresco es rico en un número de compuestos fenólicos (Banerjee y col., 2003; Bozin, y col., 2008). Cuando se compara la evolución entre ajo fresco y el ajo negro es notable el incremento en el contenido de fenoles totales (Figura 25). Este parámetro es importante en la calidad de ajo negro ya que se ha demostrado el poder antioxidante de los polifenoles (Kang y col., 1996). El contenido de fenoles totales disminuyó a los 4 días respecto a lo encontrado para el ajo fresco (1.35 ± 0.07 mg ácido gálico/g de muestra); sin embargo, comenzó a incrementar hasta lograr un contenido de 4.37 ± 0.17 mg ácido gálico/g de muestra a los 20 días en los bulbos control, es decir un aumento de 3.2 veces, mientras que en los bulbos prealmacenados en congelación el incremento fue de 4.2 veces (5.73 ± 0.63 mg ácido gálico/g de muestra). Al final del almacenamiento (32 días), el contenido fenoles totales en los bulbos control fue de 3.6 ± 0.08 mg ácido gálico/g de muestra y de 4.5 ± 0.32 mg ácido gálico/g en los bulbos pretratados. Este incremento se ha reportado en diferentes estudios; Ríos-Ríos y col., 2018 reportó un aumento de 3.7-3.9 veces para el ajo negro con tratamiento tradicional y 3.9 veces para el tratamiento empleando el calentamiento óhmico como pretratamiento.

De manera general, el incremento en la concentración de compuestos fenólicos proviene de derivados del ácido hidroxicinámico (Kim y col, 2013); sin embargo, en el caso del ajo negro que se somete a temperaturas de 70°C esta ruta no está activa. Existen reportes que indican que el incremento en los compuestos fenólicos está asociado a cambios químicos que ocurren en durante el tratamiento térmico (Kwon y col, 2006), principalmente rompimiento de enlaces esteres, glucósidos, aumentando así las formas fenólicas libres; como lo reporta Xu y col. (2007). Por su parte Choi y col. (2014) reportaron una disminución de hasta 6 veces en la concentración de aminoácidos aromáticos como la tirosina (449.95 ± 6.29 a 77.31 ± 7.54 mg/100g) y un incremento de fenilalanina de hasta 2.5 veces (55.64 ± 0.74 a 143.07 ± 7.54 mg/100g), durante el proceso de conversión de ajo fresco a ajo negro lo que puede indicar a la relación del aumento de los ácidos fenólicos. En adición otra probable

razón de este incremento es que las muestra tratadas térmicamente disminuyen o inhiben la oxidación enzimática de compuestos antioxidantes (Dewanto y col, 2002)

De manera específica, durante el tratamiento térmico, compuestos inestables en el ajo fresco son transformados en compuestos estables solubles con un gran poder antioxidante. Se ha reportado que el incremento en la capacidad antioxidante puede ser debido al incremento en la concentración de S-allil-cisteína y de la S-allilmercaptocisteína, compuestos derivado de aliina (Imai y col., 1994; Corzo y col., 2007; Lee y col., 2009).

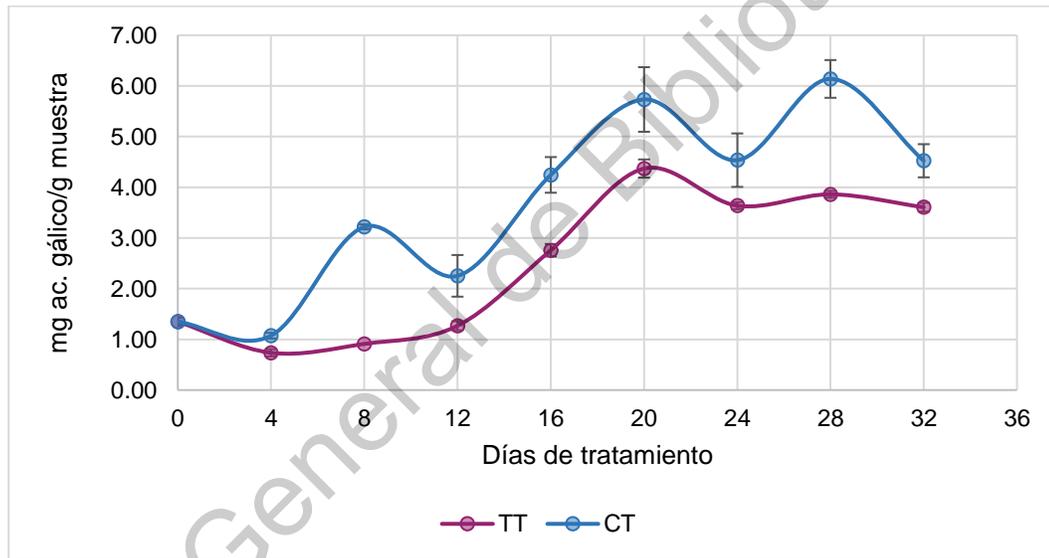


Figura 25. Contenido de fenoles totales en ajo negro de bulbos control (línea rosa) y de bulbos pretratados en almacenamiento a -20 °C (línea azul).

5.8. Variación de peso

El peso de los ajos al someterse a humedades relativas altas aumentó conforme pasa el tiempo, este parámetro se midió al DÍA 0 y a los 32 días. Para el tratamiento tradicional se presentó un aumento de peso promedio (10 ajos) de 4.17 ± 1.70 , y para los pre-tratados de 4.33 ± 1.7 , encontrando que entre ambos tratamientos no hubo

diferencia significativa. Por lo que este es un fenómeno que sucede de manera natural en los tratamientos donde la humedad relativa es alta.

5.9. Pungencia

Los resultados de pungencia se obtuvieron al inicio (0 días) y al final del tratamiento (32 días) a 94% HR a 70°C. El valor de pungencia para el ajo fresco fue de 27.45 ± 2.8 μmol ác piruvico/g muestra. La pungencia en el ajo negro control no se pudo determinar debido a la baja concentración de ácido pirúvico, la cual estaba por debajo de la concentración más baja usada en la curva de calibración. Por su parte, en el ajo negro derivado del pre-tratamiento de congelación la concentración fue de 2.0 - 2.7 μmol ác piruvico/g muestra, presentando un sabor 10 veces menos pungente que el ajo fresco, pero un sabor ligeramente pungente comparado con el ajo negro del tratamiento control. Los resultados de pungencia reportados por Ríos-Ríos y col., (2018) para bulbos con pre-tratamiento de calentamiento óhmico fueron de 4.2 ± 0.1 μmol ác piruvico/g muestra y los de la muestra comercial de 3.0 ± 0.3 μmol ác piruvico/g muestra: realizando una comparación entre los valores de pungencia de las diferentes muestras se puede inferir que no hay diferencia estadísticamente significativa. Lo que sugiere a la congelación como un buen pre-tratamiento debido a que los valores de pungencia son los más bajos; incluidos que una muestra comercial. En el mismo estudio realizado por Ríos-Ríos y col., (2018), se aplicó el pre-tratamiento de secado convectivo, el ajo negro obtenido de este pre-tratamiento presentó valores altos de pungencia 22.1 ± 1.5 μmol ác . piruvico/g por lo que este tratamiento es sensorialmente no aceptable.

Se ha reportado que la alinasa de ajo presenta una temperatura óptima de 20 °C y una temperatura máxima de 50 °C, a un pH de 6.0. (Zhou, J y col. 2009). Estudios demuestran que la misma enzima en variedades de cebolla no presenta actividad a 0°C, pero a 60°C reduce su actividad de manera importante, presentando su máxima actividad a los 30°C. (Zhang y col., 2008). Esto indica que los resultados presentados en este estudio coinciden con la literatura, presentando valores bajos de pungencia

asociados a la inactividad de la enzima alinasa al estar los ajos a una temperatura de 70°C.

5.10. Actividad de agua

El parámetro de actividad de agua (A_w) en los alimentos es considerado como un parámetro de calidad. El valor de actividad de agua en el ajo fresco es de 0.9617, el cual disminuye con una menor tendencia que otros parámetros durante el proceso de obtención de ajo negro; y esto se debe a que el sistema mantiene una humedad relativa constante de 94%. El valor de actividad de agua solo se determinó al final de procesamiento. El ajo negro control presentó un valor de $A_w = 0.9831$; mayor al registrado en ajo negro pre-tratado con congelación ($A_w = 0.9300$). Estos valores son semejantes a los reportados por Toledano-Medina y col., (2016), quienes reportan valores de 0.91 a 0.94. Los valores de actividad de agua y el daño en el tejido del ajo negro no pueden asegurar mantener la textura de manera que se recomienda empaquetar en bolsa impermeable para mantener la textura suave que caracteriza a dicho producto.

6. CONCLUSIONES:

El pre-almacenamiento a -20°C de bulbos de ajo fresco durante 18 horas mantiene los bulbos en congelación y este daño induce la hidrólisis de los fructanos dejando libre azúcares reductores, que promueven la reacción de Maillard una vez que se someten al tratamiento tradicional de alta temperatura y humedad, con lo que se logró obtener ajo negro en 21 días a diferencia de los 32 días que se requieren sin pre-almacenamiento a -20°C ; el ajo negro obtenido presentó un sabor ligeramente menos dulce y pungente, pero con una capacidad antioxidante dos veces mayor que el control.

7. REFERENCIAS:

Aguilera M., Reza M., Barre K., Ramírez P. Capacidad antioxidante de polifenoles en Higo (*Ficus carica*) Variedad Mission. Facultad de Ciencia Químicas- UJES. México. **2008**, P.p. 1-7.

Alvarado, P. Consultoría: Monitoreo de la producción y comercio de ajo y cebolla en Chile. Programa de reconversión y desarrollo de la granja, proyecto BID:MGAP 1063/OC-UR. **2000**.

Amagase H., Petsch, B.L.; Matsuura, H.; Kasuga, K.; Itakura, Y. Intake of garlic and its bioactive components. J. Nutr. **2001**, 131: 955S–962S.

Andrianova, I. V., Fomchenkov, I. V., Orekhov, A. N., Hypotensive effect of long-acting garlic tablets allicor (a doubleblind placebo-controlled trial), Ter. Arkh. **2002**, 74, 76–78.

Anthon, G. E., & Barrett, D. M. Modified method for the determinations of pyruvic acid with dinitrophenylhydrazine in the assessment of onion pungency. Journal of Food Science and Agriculture, **2003**, 83:1210-1213.

Augusti K. T. Role of garlic (*Allium sativum L.*) and onions (*Allum cepa L.*) in health managment. Acta Horticulturae **2005**; 668:143-150.

Banerjee SK, Mukherjee PK, Maulik SK. Garlic as an antioxidant: the good, the bad and the ugly. Phytother Res **2003**; 17:97-106.

Badui S. Química de los alimentos, 5a edición, Pearson, México. **2013**.1:59-62

Barreiro,M. **2000**. Ajo. <https://www.gob.mx/aserca>

Baumgartner, S., Dax, T. G., Praznik, W. and Falk, H. Characterization of the high-molecular weight fructan isolated from garlic (*Allium sativum L.*). Carbohydrate research. **2000**; 328 (2):177-183.

Blanco A. Vitaminas. En: Blanco A editor. Química Biológica. 8º. Ed. Buenos Aires: El Ateneo. **2006**: 447-79.

Block, E. The Organosulfur Chemistry of the Genus *Allium*. Implications for the Organic Chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*. **1992**. 31 (9) 1135-1178.

Blumenthal M., Herbal medicine – expanded commission E monographs. American Botanical Council, Austin. **2000**.

Boekel, M.A.J.S.van. Effect of heating on Maillard reactions in milk. *Food Chemistry*. **1998**, 23, 56.

Braz L. The effect of pre planting refrigeration on bulbs over the development and yield of garlic “chines”, *Acta.Hort*. **1997**. 433:499-505.

Burba, J.L., Lanzavechia, S. Equivalencia internacional para calibres de ajo. Estación Experimental La Consulta. Proyecto ajo/INTA 068. **2003**. La Consulta, Mendoza, Argentina Disponible en:

<http://www.inta.gov.ar/laconsulta/info/indices/tematica/ajo/DOC%20068%20Equivalencia%20%20Internacional%20para%20calibres%20de%20ajo.pdf>

Burba J.L. Producción, propagación y utilización del ajo (*Allium Sativum*) en producción poscosecha, procesamiento y comercialización del ajo cebolla y tomates. Santiago de Chile. FAO. **1992**; 63-126.

Burba, J.L. Manejo Poscosecha y Sistema Multimodal de Empaque de Ajo. En II Foro Nacional del Ajo, Memorias. Gobierno de Zacatecas; INIFAP, Fundación Produce, Zacatecas; SAGARPA; FIRA; Consejo estatal de Productores de Ajo de Zacatecas A.C. Zacatecas, Zac., México. **2006**. p. 14-34.

Bozin, B, Mimica-Dukic, N. Samojlik, I. Goran, A., Igic, R. Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry* 111 **2008**, 925–929

Caplan (1988) encontrado en **FAO**: Frost Protection: fundamentals, practice and economics. Volumen 1. <http://www.fao.org/3/a-y7223e.pdf>. **(2005)**

Capuano E., Fogliano V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *Food Science and Technology*. **2010**; 44:793-810.

Castañeda E., Anaya I., Cruz M.A., Vizcarra M. G. Estudio de la deshidratación de cebolla (*Allium cepa* L.) brotada evaluando su pungencia. V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica XVI Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica VI Jornadas Científicas de Biomedicina y Biotecnología Molecular. Departamento de graduados en Alimentos ENCB – IPN. **2000**

Cavagnaro P. F. y Galmari C. R. Garlic in: C. Kole. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, Vol. 5, Vegetables Springer-Verlag Berlin Heidelberg **2007**. Pp:349-369

Chacón A. Perspetivas agrindustriales actuaes de los oligofructosacaridos (FOS). Agronomía mesoamericana **2005**;17 (2): 265-286.

Choi K. Chan Sam H., Lee Soon Y. Physicochemical and Antioxidant Properties of Black Garlic. Molecules. **2014**;19: 16811-16823

Chu Q., Lee D., Tsao S., Wang X., Wong Y. Sallylcysteone, a foles-soluble garlic derivate, supresses the grownth of human androgen-ndependent prostate cáncer xenograft, CWR22R, under in vivo conditions. BJU International, **2007**; 99: 925-932.

Comini G., Bonacina C., Barina S. Thermal properties of onions and garlic foodstuffs Refrign. Sci Technology, **1974**. 163-172.

Corzo-Martínez M., Corzo N., Villamiel, M. Biological properties of onions and garlic. Trends Food Sci. Technol. **2007**; 18: 609–625.

Dewanto V., Wu X., Adam K., Liu R. Thermal processing enhaces the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. Journal Agricultural and Food Chemistry. **2002**. 50, 3010-3014.

Espinoza-Cáceres W., Ríos Ríos E., Peñafiel C., Determinación de fenoles totales, fructanos y pungencia en seis cultivares de ajos (*Allium sativum* L.) en el Perú. Revista de la Sociedad Química del Perú. 76. 101-109. **2010**.

FAO. <http://www.fao.org/statistics/databases/es/>, **2018**.

FAOSTAT. Production Quanty: Garlic in Mexico. Extraído desde: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> □. Han, G., **2018.**

Florencia-Greco, M. Estudio de procesos de deshidratación industrial de ajo con la finalidad de preservar alicina como Principio bioactivo. **2011.** Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias. Tesis publicada.

Fritsch R.M., Friesen N. Evolution, domestication and taxonomy. In: Rabinowitch D., Currah I. (eds), *allium Crop Science: Recent Advances*. Wallingford: Editorial CAB International. **2002:** 5–30.

Heredia-García E. El ajo en México: origen, mejoramiento genético y tecnología de producción. En E. *Libro técnico No.3*. Celaya, Gto., México: SAGAR, INFAP. **2000:** 12-28.

Hurta M., Knuutinen J. Meltin behavior of D.sucrosa, D-glucose and D-fructose. Elsevier. **2004.** 339: 2267-2273.

Imai, J., Ide, N., Nagae, S., Moriguchi, T., Matsuura, H., & Itakura, Y. (1994). Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Planta Medica*, **1994** (60), 417–420.

James C., Seignemartin V., James S. The freezing and supercooling of garlic (*Allium sativum* L.). *International Journal of Refrigeration*. **2009;** 32: 253-260.

Jang E.K., Seo J.H., Lee S.P. Physiological activity and antioxidative effects of aged black garlic (*Allium sativum* L.) extract. *Korean Society of Food Science and Technology*. **2008;** 40:443- 448.

Josling, P., Preventing the common cold with a garlic supplement: a double-blind, placebo-controlled survey, *Adv. Ther.***2001,** 18, 189–193.

Kang, Y. H., Park, Y. K., & Lee, G. D. The nitrite scavenging and electron donating ability of 229 phenolic compounds. *Korean Society of Food Science and Technology*, **1996.** 230(28), 232–239.

Kang M.J., Lee S.J., Shin J.H., Kang S.K., Kim J.G., Sung N.J. Effect of garlic with different processing on lipid metabolism in 1% 57olesterol fed rats. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. **2008**; 37:162-169.

Kim J. H., Seok H. N., Rico C. W., Kang Y.M., A.A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts. *International Journal of Food Science and Technology*. **2012**. 1-7.

Kishore, R. K., Halim, A. S., Syazana, M. S. N., & Sirajudeen, K. S. N. Tualang honey has higher phenolic content and greater radical scavenging activity compared with other honey sources. *Nutrition Research*, **2011**. 31, 322-325.

Krejci G y Pacurar M. *Garlic Consumption and Health*. Nova Science Publishers. Nueva York, EE.UU. **2010**; 1:60

Kyung K. H. y Lee Y. C. Antimicrobial activities of sulfur compounds derived from s-alk(en)yl-l-cysteine sulfoxides in *allium* and *brassica*. *Food Reviews International*. **2001**; 17: 183-198.

Kwon O, Woo K.S., Kim T.M., Kim D.J., Hong J.T., Physicochemical characteristics of garlic (*Allium sativum*) on the temperature and pressure treatment. *Korean Journal of Food Science and Technology*. **2006**.38, 331-336.

Lee E.N., Choi, H. K. Kim J. K. Park, H.J. Kim, H. W. Chloroform extract of aged black garlic attenuates TNF- α - induced ROS generation, VCAM- expression, NF- κ B activation and adhesiveness for monocytes in human umbilical vein endothelial cells, *Phytother*. **2011**. 25:.92-100.

Lee, Y.-M., Gweon, O.-C., Seo, Y.-J., Im, J., Kang, M.-J., Kim, M.-J., & Kim, J.-I. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice*, **2009**. 3, 156.

Levitt, J. *Responses of Plants to Environmental Stresses*, Vol. 1 (2nd ed). New York NY: Academic Press. **1980**; 497p.

Li N., Lu X., Pei H. y Qiao X. Effect of freezing pretreatment on the processing time and quality of black garlic. *Journal of Food Process Engineering*. **2014**; 38: 329-335.

Lozada L. Determinación del índice de madurez y capacidad de conservación en 6 variedades de durazno. Tesis de grado. Universidad Mayor de San Simón, Facultad de ciencias agrícolas pecuarias, forestales y veterinarias. Bolivia. **1996** pp. 32.

Macías R., Grijalva L., Contreras F. Productividad y calidad de variedades de ajo (*Allium Sativum L.*) bajo condiciones desérticas en Caborca, Sonora. *Biotecnia* **2010**, 12: 44-54.

Mann, L. Anatomy of the garlic bulb and factors affecting bulb development. *Hilgardia*, **1952**, 21 (8):195-251.

Montano A., Casado F., de Castro A., Sanchez A., Rejano L. Vitamin content and amino acid composition of pickled garlic processed with and without fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **2004**; 52, 7324-7330.

NMX-FF-018-SCFI-2006. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano – especie – ajo (*Allium sativum L.*) – ESPECIFICACIONES. [Consultado 2016 enero 12]

Polley, S.L., Snyder O.P., Kotnour, P. A compilation of thermal properties of food. *Food Technology*, **1980**. 11, 76-94.

Purseglove, J. Tropical crops: Monocotyledons I. in: El ajo en México: origen, mejoramiento genético, y tecnología de producción, ed. Heredia, G.E., SAGAR, INIFAP, Campo Experimental del Bajío. **1985**; 1: 22-23.

Queiroz Y.S., Ishimoto E.Y., Bastos D.H., Sampaio G.R. & Torres E.A. Garlic (*Allium sativum L.*) and ready-to-eat garlic products: *In vitro* antioxidant activity. *Food Chem.* **2009**; 115:371-374.

Rahman, H., Haque M. S. y Ahmed M. Preplanting Temperature treatments for breakin dormancy of garlic cloves. *Asian jornal of plant sciences*. **2003**, 2:123-126

Ram-Bo; Kim, Hye-Ran; Kim, Min-Ji; Kim, Mee-Ree. Comparison of the Quality Characteristics and Antioxidant Activities of the Commercial Black Garlic and Lab-Prepared Fermented and Aged Black Garlic. Dept. of Food & Nutrition, Chungnam National University, Daejeon, **2011**, 21 (8):195-251.

Ríos-Ríos, Vázquez Barrios M.E. Efecto de la aplicación de pretratamientos tecnológicos en la calidad de ajo negro. Acta Hortic. 1194. ISHS. **2016**.

Ríos-Ríos K. L., Gaytán Martínez M., Mercado Silva E., Rivera-Pastrana D.M., Moreno Mayorga S., Vázquez Barrios M.E. Effect of convective drying pretreatment on the physicochemical properties of black garlic. Acta Hortic. 1194. ISHS. **2018**. 845:851.

Ríos-Ríos, Montilla A., Olano A., Villamiel M. Physicochemical changes and sensorial properties during black garlic elaboration: a review. Trends in Food Science & Technology. **2019**.

Rongzhu C, Qi F, Gonyan KA, Beryl Jo. Structure elucidation of a novel Yellow Chromophore from human lens Protein. J Biol Chem. **2004**; 279 (44): 45441-9.

SAGARPA. 2016. <https://www.gob.mx/sagarpa/prensa/aumenta-produccion-de-ajo-hecho-en-mexico-28-9-por-ciento-en-201?idiom=es>.

Sasaki J., Lu C, Machiya E. Processed black garlic (*Allium Sativum*) extracts enhance antitumor potency against mouse tumors. Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology. **2007**; 1(2), 278-281.

Sato, E. Kohno, M. Homano, H. Niwano Y. Increase Antioxidative Potency of garlic by spontaneous short-term fermentation. Plants food for human nutrition. **(2006)**, 61:157-160

Schwimmer, S. and Weston, W.J. Onion Flavor and Odor, Enzymatic Development of Pyruvic Acid in Onion as a Measure of Pungency. Journal of Agricultural and Food Chemistry, **1961** 9, 301-304.

Schanderl SH. Tannins and related phenolics. In: Joslyn MA(ed), Methods in Food Analysis. New York: Academic Press, **1970**, pp701–724.

Serra H. M., Cafaro T. A. Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, **2007**; 4:525-532

Shin, J., Choi, D., Lee, S., Cha, J., Sung, N. Antioxidant Activity of Black Garlic (*Allium sativum* L.). Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, **2008**;37:965-971.

SIAP. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. [Consultado 2019 octubre 13]. Disponible en:

http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do

Stevinson, C., Pittler, M. H., Ernst, E., Garlic for treating hypercholesterolemia. A meta-analysis of randomized clinical trials, Ann. Intern. Med. **2000**, 133, 420–429.

Tagaki, H. Garlic *Allium sativum* L. In: Onions and allied corps. CRC press. Vol. 3. Florida. **1990**.109-157.

Takhtajan, A., Diversity and classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York. **1997**.

Toledano-Medina M. Angeles, Pérez-Aparicio Jesús, Moreno-Rojas Rafael, Merinas-Amo Tania. Evolution of some physicochemical and antioxidant properties of black garlic whole bulbs and peeled cloves. Food Chemistry 199, **2016**; 135–139

USDA. United States Department of Agriculture. Nutrient Database for Standard Reference Release 28. [Consultado 2019 marzo 6]. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2968?fgcd=&manu=&facet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=garlic>

Vijn I. y Smeekens S., Fructan: more than a reserve carbohydrate? Plant Physiol, **1999**. 120:351-359.

Vinson J., Yong H., Xuehui S., Ligia Z. Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Vegetables. **1998**.46, 3630-3634.

Wang J., Cao Y., Wang C., Sun B. Low-frequency and low-intensity ultrasound accelerated allinase-catalysed synthesis of allicin in freshly crushed garlic. *Science Food Chemistry Agriculture*, **2011**, 91: 1766- 1772.

Westwood, M.N. Dormancy and plant hardiness. pp. 299-332, *in*: M.N. Westwood (ed). *Temperate-zone Pomology*. San Francisco, California: Freeman. **1978**.

Wills R., McGlasson B., Graham D.. An introduction to the physiology and handling fruit, vegetables and ornamentals. Postharvest. 4ta edición. UNSW press, **1998**. Vol 1:60-77.

Xu, G.; Ye, X.; Chen, J.; Liu, D. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, 55, 330–335.

Young-Min L., Oh-Cheon G., Yeong-Ju S., Jieun I., Min-Jung K., Myo-Jeong K. and Jung-In K. Antioxidant effect of garlic and aged black garlic in animal model of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice*, **2009**; 3(2):156-161.

Zeng T., Zhang C.L., Zhao X.L., Xie K.Q. The roles of garlic on the lipid parameters: a systematic review of literature. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **2013**; 53:215-30.

Zhang X., Li N., Lu X., Liu P. y Qiao X. Effects of temperature on the quality of black garlic. *Journal of Science, Food Agriculture.* **2015**; 96(7):2366-72.

Zhang H., Chen Z., Yang G., Wang W., Li X., Li R., Wu Y. Microwave pretreatment and gas chromatography-mass spectrometry determination of herbicide residues in onion. *Food Chemistry.* **2008**; (108): 322-328.

Zhou J., Wang J. immobilization of allinase with water soluble-insoluble reversible N-succinyl-chitosan for allicin production. *Enzyme Microb. Technol.*, **2009**; 45: 299-304.

8. ANEXOS:

Effect of convective drying pretreatment on the physicochemical properties of black garlic

K.L. Ríos-Ríos, M. Gaytán-Martínez, E. Mercado-Silva, D.M. Rivera-Pastrana, S. Moreno-Mayorga and M.E. Vázquez-Barrios*

Departamento de Investigación y Posgrado, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, Mexico.

Abstract

Black garlic is produced commercially using traditional processes with high temperature (HT) and high relative humidity (HRH) during 30-60 days until the cloves turn black with a sweet and syrupy taste. The aim of this study was to reduce black garlic production time applying a convective drying pretreatment (CDP). Purple garlic bulbs (*Allium sativum* L.) sets were subjected to CDP process for 4 days at HT (70°C) and low RH (9%) followed by 4 days at HT (70°C) and HRH conditions (94%). Browning degree, water activity (aw), moisture, pH, total soluble solids (TSS), total phenols content, 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde (HMF) levels, reducing sugar content (RSC) and pungency analyses of blacked garlic were performed. Black garlic production time was reduced to 8 days (4 days at CDP conditions, 70°C - 9% RH and 4 days at traditional processing conditions, 70°C - 94% RH). No differences in external ($\Delta E=62$) and internal ($\Delta E=12$) browning degree were observed ($p>0.05$) between CDP processed and commercial black garlic (control group). Pungency values were 6 times higher in black garlic from CDP (12.87 $\mu\text{mol pyruvic acid g}^{-1}$) when compared to control group (2.16 $\mu\text{mol pyruvic acid g}^{-1}$). This observation is consistent with the lower RSC (13.69 mg fructose g^{-1}) in black garlic from CDP. In comparison to control group, moisture, total phenols content and HMF levels decreased in the CDP group, whereas TSS increased. There were no differences ($p>0.05$) in pH or aw. The results suggest that it is possible to reduce black garlic production time using convective drying.

Keywords: black garlic, processing time, quality

INTRODUCTION

Black garlic is produced by heat treatment of the raw garlic bulbs under high temperature and high humidity conditions for 30-60 days without any additional treatment or additive (Li et al., 2014; Zhang et al., 2016). Its name is originated from the color of the cloves after heat treatment. Although the main characteristics of a good quality raw garlic are a pungent taste and odor, these are diminished and transformed into syrupy and sweet compounds generated by non-enzymatic browning reactions due to thermal processing, the alliinase is inactivated and therefore the transformation of allin into allicin is inhibited, resulting in a product free of unpleasant taste and odor which means a black garlic of good quality. Another important contribution of thermal processing is the induction of bioactive compounds synthesis (Bae et al., 2012; Kim et al., 2011). Even though the traditional heat treatment is effective, a long processing time method is not recommended for massive industrial production.

One reference related to a possible pretreatment applied to black garlic processing was found. Li et al. (2014) tested the effects of freezing pretreatment and their results showed that freezing raw garlic for 30 h can promote the generation of functional materials like phenolic compounds and HMF but cannot generate a good sensory quality product. Therefore, the objective of the present study was to reduce black garlic production time using a convective drying pretreatment and investigate its effect on browning degree, water

*E-mail: mevazquez@uaq.edu.mx

