

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

FACULTAD DE QUIMICA

EVALUACION DE LA ESTABILIZACION Y PROPIEDADES FISICAS
DEL JUGO DE ZANAHORIA POR MEDIO DE MEZCLAS
ENZIMATICAS

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO: .

LIC. QUIMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

ELIZABETH CADENA RUIZ

No Adq. H59029

No. Título _____

Clas. 663.63

C122e

BIBLIOTECA CENTRAL UAQ
"ROBERTO RUIZ OBREGON"

Dedicación

A mis Padres:•

REYNALDA RUIZ DE CADENA

JOSE LUIS CADENA SILVA

INDICE DE CONTENIDO

INDICE DE FIGURAS	i
INDICE DE TABLAS	v
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA	5
3.1 Zanahoria	5
3.1.1 Generalidades	5
3.1.2 Clasificación	6
3.1.3 Composición	6
3.1.4 Criterios de calidad	7
3.1.5 Producción	8
3.2 Proceso de elaboración de jugos	14
3.2.1 Clasificación	14
3.2.2 Etapas de elaboración de el jugo	14
3.2.2.1 Pelado y blanqueo	14
3.2.2.2 Extracción	15
3.2.2.3 Tamizado	16
3.2.2.4 Homogeneización	16
3.2.2.5 Pasterización o Esterilización	17
3.2.2.6 Acidificación de jugos	17
3.2.2.7 Adición de enzimas	18

3.2.3	Elaboración de jugo de zanahoria	19
3.3	Propiedades de la nube	22
3.4	Estabilización	24
3.4.1	Estabilización del jugo	24
3.4.2	Métodos de estabilización	26
3.4.3	Estabilización por enzimas	27
3.4.4	Estabilidad del color del jugo de zanahoria	29
4.	OBJETIVOS	31
4.1	Objetivo general	31
4.2	Objetivos específicos	31
5.	HIPÓTESIS	32
6.	MATERIALES Y MÉTODOS	33
6.1	Materia prima	33
6.2	Métodos de laboratorio para el establecimiento de las condiciones óptimas de actividad	35
6.2.1	Actividad enzimática	35
6.2.2	Determinación de proteína por el método de Lowry	35
6.2.3	Determinación de pH óptimo	35
6.2.4	Determinación de Temperatura óptima	36
6.2.5	Prueba de la peroxidasa	36
6.3	Establecimiento de las condiciones óptimas de tiempo de acción, pH y concentración de las enzimas en el jugo de zanahoria	37

6.4	Ensayos a nivel planta piloto	38
6.4.1	Extracción del jugo	38
6.4.2	Tratamiento modificado	39
6.4.3	Tratamiento enzimático	39
6.5	Almacenamiento acelerado	39
6.6	Evaluación de propiedades físicas	39
6.6.1	Color	39
6.6.2	Turbidez	40
7.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	41
8.	CONCLUSIONES	74
9.	BIBLIOGRAFÍA	76

INDICE DE FIGURAS

1. Clasificación de la zanahoria por su forma 6
2. Diagrama de degradación de la pectina 25
3. Efecto de la temperatura sobre la actividad de poligalacturonasa (incubación a pH 4.4, 10 min.)..... 42
4. Efecto del pH sobre la actividad de Poligalacturonasa (incubación a 50°C, 10min.)..... 42
5. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4) (1º ensayo a nivel planta piloto) 43
6. Cambios de luminosidad (L*) en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4)(1º ensayo a nivel planta piloto).. 44
7. Cambios del valor de a* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4)(1º ensayo a nivel planta piloto).. 45
8. Cambios del valor de b* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4)(1º ensayo a nivel planta piloto).. 45
9. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4)(1º ensayo a nivel planta piloto).. 46
10. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.0) 49

11. Cambios de la luminosidad (L^*) en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.0) 50
12. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.0) 51
13. Cambios del valor de b^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.0) 51
14. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.0) 52
15. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4) 53
16. Cambios de luminosidad (L^*) en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4) 54
17. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4) 55
18. Cambios del valor de b^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4) 55
19. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4) 56
20. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.0) 58
21. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4) 59

22. Cambios de luminosidad (L*) en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.0) 59
23. Cambios de luminosidad (L*) en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4) 60
24. Cambios del valor de a* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.0) 61
25. Cambios del valor de a* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4) 61
26. Cambios del valor de b* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.0) 62
27. Cambios del valor de b* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4) 62
28. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.0) 63
29. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4) 63
30. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria a pH 4.0 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 64
31. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 65

32. Cambios de luminosidad (L*) en jugo de zanahoria a pH 4.0 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 66
33. Cambios de luminosidad (L*) en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 66
34. Cambios del valor de a* en jugo de zanahoria a pH 4.0 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 68
35. Cambios del valor de a* en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 68
36. Cambios del valor de b* en jugo de zanahoria a pH 4.0 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 69
37. Cambios del valor de b* en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 69
38. Cambios del matiz en jugo de zanahoria a pH 4.0 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 70
39. Cambios del matiz en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto) 70

INDICE DE TABLAS

1. Rendimientos de hortalizas en Querétaro (producción/superficie). SARH. Delegación estatal en Querétaro. Subdelegación de agricultura..... 9
2. Superficie sembrada, cosechada y producción de hortalizas en Querétaro. SARH. Delegación estatal en Querétaro. Subdelegación de Agricultura 10
3. Superficie sembrada (SS), superficie cosechada (SP), rendimiento (R) y producción (P) del cultivo de zanahoria México. Año agrícola 1990. SARH. Dirección general de estadística. 13
4. Valores de % de transmitancia (%T), Luminosidad (L*), valor de a*, valor de b* y Matiz del jugo de zanahoria elaborado a diferentes concentraciones de CLAREX, pH 4.4 e incubado a 50°C durante 1h y almacenado durante 14 días 47
5. Valores de % de transmitancia (%T), Luminosidad (L*), valor de a*, valor de b* y Matiz del jugo de zanahoria elaborado a diferentes concentraciones de MACEREX, pH 4.4 e incubado a 50°C durante 1h y almacenado durante 14 días..... 48
6. Valores de % transmitancia (%T), Luminosidad (L*), matiz y el valor de a* y b* del jugo de zanahoria a pH 4.0 (2º ensayo a nivel planta piloto)..... 71
7. Valores de % de transmitancia (%T), luminosidad (L*), matiz y el valor de a* y b* del jugo de zanahoria a pH 4.4 (2º ensayo a nivel planta piloto) 72

1. RESUMEN

El jugo de zanahoria al recibir un tratamiento térmico se separa en dos fases: un líquido transparente y un coágulo que posteriormente precipita. Este trabajo se elaboró con el fin de estudiar si por medio del uso de complejos enzimáticos se puede evitar la separación del jugo de zanahoria.

Se elaboró jugo de zanahorias de la variedad Chantenay bajo las siguientes etapas: lavado, cortado, escaldado en ácido cítrico 0.1N, extracción, ajuste de pH a 4.0 o 4.4, calentamiento, homogenización y envasado. Posteriormente se almacenaron las muestras de jugo a 37°C durante 14 días. Se evaluó la turbidez del jugo por el método United States Standard for Grades of Grapefruit Juice 1968 y el color del jugo se evaluó por medio de un espectrofotómetro MCA Minolta modelo CM-2002 y evaluándose los parámetros L*, a* y b*.

Uno de los objetivos de este trabajo fue establecer las condiciones óptimas de una mezcla de pectinasas de origen fungal y una mezcla de pectinasas, celulasas y hemicelulasas, para Clarex la temperatura óptima obtenida fue 50°C, y 45°C para Macerex, y pH 4.0 para ambos complejos. Después se probaron éstos complejos en jugo de zanahoria a diferentes concentraciones y se observó valores más altos de a* y de matiz a concentraciones bajas. También se evaluó la actividad enzimática de los complejos enzimáticos a diferentes tiempos de incubación en jugo de zanahoria, los tiempos de incubación más cortos dan mayor turbidez para los 2 complejos.

En base a lo anterior se utilizó para Clarex y Macerex una concentración de 80 y 100 microlitros de complejo enzimático por litro de jugo y un tiempo de incubación de 30min. Se hizo un ensayo a nivel laboratorio en el cuál se encontró que utilizando los complejos enzimáticos se mejoró el color, es decir se obtuvieron valores más altos de a^* y matiz. Las mismas condiciones se utilizaron a nivel planta piloto pero los resultados no fueron satisfactorios.

2. INTRODUCCION

En 1990 Querétaro fue el estado con más alto rendimiento de producción por superficie (38.77%) en el cultivo de zanahoria a nivel nacional; además comparando los cultivos de vegetales en el estado (1987,1988 y 1989) éste obtuvo los más altos rendimientos para el cultivo de zanahoria. Sin embargo el estado de Guanajuato destinó la mayor superficie a nivel nacional, por ello, su producción fué la más alta (83,251 ton) y aproximadamente la mitad de la producción anual (198,481 ton) (Tabla.3).

La región del Bajío en forma general es una de las principales zonas productoras de hortalizas del país y dentro de ellas la zanahoria es uno de los productos principales. Querétaro en particular tiene una demanda creciente de producto fresco y también las zonas turísticas del país demandan jugo procesado de alta calidad nutritiva y sensorial (Dirección de desarrollo agroindustrial Qro. 1993).

Un problema que se presenta con este producto es que una gran porción de la producción total de zanahorias nunca alcanza el mercado en fresco debido a la presencia de defectos en tamaño y forma (Sims, 1993) o porque presentan manchas (Stephens, 1971). Por ello, gran parte de la cosecha se desecha o se utiliza como alimento para animales (Sims, 1993). La Industrialización de estas zanahorias rechazadas como jugo u otro producto comestible podría reducir grandemente el problema de desperdicios en zanahorias empacadas en fresco (STEPHENS, 1971).

Sin embargo, al extraer el jugo de zanahoria de los tejidos vegetales y calentarlos a temperatura de esterilización ocurren cambios indeseables que tienen lugar en el jugo. La alta temperatura requerida para la esterilización del jugo de zanahoria causa la formación de un coágulo que da mal aspecto, se hace inapetecible y el color precipita con el coágulo (Stephens, 1971).

El jugo de zanahoria que se produce industrialmente tiene problemas en su calidad, particularmente en el color y la estabilidad de su turbidez o nube; por ello tiene un mercado limitado el cual podría verse aumentado si se mejoran éstas características. Para resolver este problema, la industria ha aplicado un proceso de calentamiento-homogenización-calentamiento el cual está basado en provocar una floculación térmica de la porción protéica del jugo la cual es reducida de tamaño a través de la homogenización, esto provoca que las partículas de menor tamaño se mantengan durante más tiempo suspendidas en el seno del jugo. Sin embargo este proceso no es eficiente puesto que durante el almacenamiento aun se presentan problemas de precipitación.

Sims (1993) utilizó una preparación comercial de pectinasas/hemicelulasas y encontró que se mejoraba el color del jugo de zanahoria.

El presente trabajo se elaboró con el fin de evaluar la capacidad de estabilización de dos complejos enzimáticos comerciales de pectinasas (Clarex y Macerex) sobre el jugo de zanahoria tratado térmicamente.

3. REVISION DE LITERATURA

3.1 ZANAHORIA

3.1.1 GENERALIDADES

Daucus carota o comúnmente llamada zanahoria. Pertenece a la familia de las umbilíferas.

Es una planta de ciclo bienal, es decir, en el primer año se forma la raíz mientras que en el segundo se producen las flores y frutos.

La parte alimenticia de esta planta es la raíz gruesa y alargada. Según los colores y la medida de las raíces, las numerosas variedades de zanahorias podrían reducirse a dos grandes grupos: a) variedades con raíces de color rojo, amarillo o blanco, y b) variedades con raíces cortas, medianas o largas.

Las zanahorias consideradas con mayor calidad son las amarillo anaranjadas y de tamaño medio o corto. Además una zanahoria es más apreciada si su porción interior es menos dura y lignificada (llamada corazón la cual es poco o nada digerible). (Gran Enciclopedia Aedos, 1973).

De acuerdo a lo anterior la zanahoria es una raíz comestible, con forma cónica y alargada (hasta 20 cm de largo) y de color anaranjado. (Gran Enciclopedia Aedos, 1973).

Las raíces de las plantas así como las raíces modificadas, son órganos de almacenamiento del vegetal. Las raíces dependen del

crecimiento de la planta sobre la tierra de donde se sintetizan los compuestos químicos que van a almacenarse, y en general, el crecimiento superficial grande indica que la raíz también es grande. (Desrosier, 1984).

3.1.2 CLASIFICACION

Las zanahorias pueden ser clasificadas por la forma de la raíz. Normalmente las variedades de zanahorias pertenecen a una de 5 categorías: Amsterdam forcing, Nants, Chantenay, Berlicum y Autumn king (Figura 1).

3.1.3 COMPOSICION

La raíz de la zanahoria tiene muchos compuestos: carbohidratos, alcoholes, carbonilos, ésteres y azufre, los cuales contribuyen a su sabor.

El aldehído 2-nonenal contribuye al olor de la esencia de zanahoria, los compuestos volátiles responsables del sabor de la zanahoria cruda y cocida no han sido identificados completamente. 4 azúcares, 6 fosfatos y 20 compuestos revelables por la ninhidrina fueron identificados por Alabran y Mabrock, estos compuestos no volátiles son los principales responsables del sabor de las zanahorias frescas. (Luh, 1975).

Amsterdam	Nants	Chantenay	Berlicum	Autumn
forcing				king

Fig.1 Clasificación de la zanahoria por su forma (Arthey, 1991).

Las zanahorias son muy ricas en vitaminas, en particular de alfa, beta, y gama caroteno (a lo cual se debe su sabor característico); la penúltima de éstas, llamada provitamina A, se transforma en vitamina A. También es notable la presencia de vitamina B y C, que contribuyen a aumentar la capacidad de resistencia del organismo humano contra ciertas enfermedades. También es rica en vitamina E, contenida en un aceite esencial de la planta, hidratos de carbono y compuestos azo. En cambio resulta poco provista de proteína y grasas. (Gran Enciclopedia Aedos, 1973).

3.1.4 CRITERIOS DE CALIDAD

La zanahoria es una raíz importante para la industria conservera; se destinan grandes cantidades para enlatar, congelar y para consumo en fresco. (Arthey, 1991).

Es deseable que las zanahorias sean dulces, tersas y de un amarillo profundo a naranja.

De acuerdo a la U.S. Standards for Grades (U.S.) los factores de calidad para zanahorias procesadas (1984) son:

Firmeza, color, forma, tamaño (longitud de la raíz), suavidad, que no sea leñosa, libre de podredumbre blanda, material cortado y de daño causado por grietas o hendiduras, quemaduras de sol, corazón verde, corazón duro, corazón blando, decoloración interna, enfermedades o daños mecánicos. (Kader, 1992).

3.1.5 PRODUCCION

En la tabla 1 se observa que el cultivo de zanahoria es uno de los cultivos que da mejores rendimientos a nivel estatal (Querétaro), además en cuanto a producción se encuentra en tercer lugar en 1989 también a nivel estatal. (Tabla. 2)

A nivel nacional en 1990 (Tabla 3) se observa que Querétaro tiene el mejor rendimiento y se encuentra en segundo lugar en producción de zanahoria.

Tabla 1. Rendimientos de hortalizas en Querétaro (producción/superficie); SARH. Delegación estatal en Querétaro. Subdelegación de agricultura.

CULTIVO	RIEGO				
	RENDIMIENTOS (Kgs/Ha)				
	1985	1986	1987	1988	1989
Chile verde	11,102	11,109	8,055	10,132	7,192
Chile seco	926	950	986	1,095	1,492
Lechuga	21,218	28,000	-----	11,250	15,400
Jitomate	7,194	4,572	10,000	12,860	5,857
Melón	-----	-----	-----	-----	9,000
Coliflor	13,184	5,501	6,043	6,116	6,039
Col	26,182	18,636	-----	-----	60,000
Pepinillo	4,500	-----	-----	25	-----
Tomate de cáscara	9,263	1,333	-----	16,563	9,200
Calabacita	7,123	-----	10,000	7,136	7,294
Fresa	11,750	-----	-----	10,375	10,500
Ajo	8,880	8,337	12,566	9,202	9,983
Chícharo	4,515	-----	-----	-----	-----
Brócoli	12,222	9,036	8,911	9,417	8,906
Sandía	4,571	19,000	12,292	9,322	10,714
Garbanzo	1,000	-----	538	-----	318
Zanahoria	25,928	11,451	22,077	31,219	26,552
Cebolla	19,088	16,308	16,860	16,488	15,531
Camote	7,556	-----	-----	-----	10,000
Esparrago	4,164	7,044	5,125	5,077	8,033
Alcachofa	-----	7,142	-----	-----	10,094
Espinaca	-----	-----	6,714	14,750	-----
Calabaza	-----	-----	-----	4,000	-----
Papa	-----	-----	-----	19,667	-----
Vid	9,024	9,990	12,269	7,285	-----
TEMPORAL					
Calabaza	1,500	-----	-----	-----	-----
Chícharo	200	-----	-----	-----	-----
Aiberjón	-----	288	442	286	-----
Tuna roja	-----	-----	-----	750	-----

Tabla 2. Superficie sembrada, cosechada y producción de hortalizas en Querétaro. SARH. Delegación estatal en Querétaro. Sub-delegación de Agricultura. (SS=superficie sembrada(Ha); SP=superficie cosechada(Ha) y P=producción (Ton)).

CULTIVO	1985			1986		
	SS	SP	P	SS	SP	P
Chile verde	471	264	2,931	138	106	1,186
Chile seco	29	229	212	180	179	170
Lechuga	220	220	4,668	8	4	112
Jitomate	57	31	223	9	7	32
Melón	20	----	-----	-----	-----	-----
Coliflor	38	38	501	561	561	3,086
Col	11	11	288	15	11	205
Pepinillo	22	22	99	---	---	-----
Tomate	42	19	176	5	3	4
Calabacita	19	16	114	2	---	-----
Fresa	6	4	47	---	---	-----
Ajo	499	493	4,378	184	184	1,534
Chícharo	130	130	587	---	---	-----
Brócoli	9	9	110	391	391	3,533
Sandía	20	14	64	10	10	190
Garbanzo	3	3	3	1	-----	-----
Zanahoria	320	320	8,297	86	51	584
Cebolla	327	272	5,192	125	117	1,908
Camote	9	9	68	-----	-----	-----
Esparrago	193	116	483	45	45	317
Alcachofa	----	-----	-----	7	7	50
Espinaca	----	-----	-----	-----	-----	-----
Calabaza	----	-----	-----	-----	-----	-----
Papa	----	-----	-----	-----	-----	-----
Vid	2,992	2,791	25,186	2,951	2,616	26,135
Subtotal	5,437	5,011	53,627	4,718	4,292	39,046
TEMPORAL						
Calabaza	2	2	3	-----	-----	-----
Chícharo	5	5	1	-----	-----	-----
Alberjón	-----	---	---	70	67	19
Tuna roja	-----	---	---	-----	-----	-----
Subtotal	7	7	4	70	67	19
TOTAL	5,444	5,108	53,631	4,788	4,359	39,065

Tabla 2. Superficie sembrada, cosechada y producción de hortalizas en Querétaro. SARH. Delegación estatal en Querétaro. Sub-delegación de Agricultura. (SS=superficie sembrada(Ha); SP=superficie cosechada(Ha) y P=producción (Ton)).

CULTIVO	1987			1988		
	SS	SP	P	SS	SP	P
Chile verde	806	806	6,492	114	106	1,074
Chile seco	144	144	142	277	242	265
Lechuga	10	---	---	8	8	90
Jitomate	10	10	100	36	31	399
Melón	---	---	---	1	---	---
Coliflor	974	974	5,886	811	810	4,954
Col	---	---	---	---	---	---
Pepinillo	---	---	---	2	2	50
Tomate	---	---	---	16	16	265
Calabacita	6	6	60	19	19	139
Fresa	---	---	---	16	16	166
Ajo	763	763	9,588	189	188	1,730
Chícharo	---	---	---	15	---	---
Brócoli	788	788	7,022	1,278	1,265	11,912
Sandía	41	41	504	28	28	261
Garbanzo	13	13	7	1	---	---
Zanahoria	26	26	574	32	32	999
Cebolla	181	179	3,018	521	480	7,914
Camote	---	---	---	---	---	---
Esparrago	16	16	82	26	26	182
Alcachofa	---	---	---	---	---	---
Espinaca	7	7	47	12	12	177
Calabaza	---	---	---	2	2	8
Papa	---	---	---	18	18	354
Vid	2,951	2,600	31,900	2,951	2,600	18,942
Subtotal	6,736	6,375	6,373	5,901	49,831	4,654
TEMPORAL						
Calabaza	---	---	---	---	---	---
Chícharo	---	---	---	---	---	---
Alberjón	84	61	27	154	28	8
Tuna roja	---	---	---	4	4	3
Subtotal	84	61	27	158	32	11
TOTAL	6,820	6,436	65,449	6,531	5,933	49,842

Tabla 3. Superficie sembrada (SS), superficie cosechada (SP), rendimiento (R) y producción (P) del cultivo de zanahoria México. Año agrícola 1990. SARH. Dirección general de estadística.

ESTADO	SS (Ha)	SP (Ha)	R (Ton/Ha)	P (Ton)
Aguascalientes	48	48	11.063	531
Baja California	510	506	24.834	12,566
Coahuila	149	149	23.188	3,455
Distrito Federal	176	176	10.142	1,785
Durango	40	40	13.000	520
Guanajuato	3,463	3,426	24.300	83,251
Jalisco	9	9	9.222	83
México	1,019	1,019	25.895	26,387
Michoacán	141	141	25.936	3,657
Nuevo León	173	173	19.306	33,340
Puebla	1,587	1,587	27.109	43,022
Querétaro	43	43	38.767	1,667
San Luis Potosí	51	51	17.686	902
Sonora	181	97	5.464	530
Tlaxcala	8	8	18.000	144
Zacatecas	657	654	25.445	16,641
TOTAL NACIONAL	8,255	8,127	24.422	198,481

3.2 PROCESO DE ELABORACIÓN DE JUGOS

Los jugos y concentrados son sistemas bifásicos formados de una fase líquida, generalmente llamada suero, y una fase sólida que en el jugo de naranja es llamada nube. (Castaldo, 1991).

3.2.1 CLASIFICACION

Los jugos vegetales pueden ser agrupados en las siguientes clases:

- a) Jugos preparados de vegetales tales como el jitomate y ruibarbo, los cuales pueden ser procesados a temperaturas relativamente bajas.
- b) Jugos vegetales o mezclas acidificadas con cítricos, pina, ruibarbo y tomates.
- c) jugos vegetales acidificados con ácidos orgánicos o minerales, pueden ser procesados a bajas temperaturas.
- d) Jugos obtenidos de vegetales fermentados. Son frecuentemente usados en su estado natural o ellos pueden ser procesados a baja temperatura. (Luh, 1988).

3.2.2 ETAPAS DE ELABORACION DE JUGO

3.2.2.1 Pelado y blanqueo

El pelado de la zanahoria es hecho por abrasión o por solución caliente de lejía. En el pelado por lejía se utiliza una solución del 5 al 10% de NaOH, preferiblemente pelado por rociado. Si las zanahorias son peladas por abrasión, un pequeño blanqueo a 85-87.8°C facilita la eliminación de la piel. (Luh, 1975).

Cuando una verdura o una fruta, se macera sin someterla a un tratamiento térmico, las enzimas que se liberan de las células pueden actuar sobre las sustancias protoplásmicas y catalizar alteraciones deteriorando la calidad del producto. (Desrosier, 1984).

Un método común para la prevención de cambios en la calidad debido a la actividad enzimática es el blanqueo de vegetales antes del procesamiento. (Gunes, 1993).

En las zanahorias el blanqueo ácido mejora el color, y el proceso de calentamiento mejora la estabilidad de la nube.

Massiot (1992) llevó a cabo una investigación en zanahoria donde observó el efecto del tiempo de calentamiento sobre la composición y estructura de la pared celular después del blanqueo (10min a 98°C) y de un pretratamiento térmico (30min a 98°C). Encontrando que el blanqueo no solubilizó la pared celular pero alteró la estructura de la pectina, la fracción de protopectina disminuyó en 25%. El pretratamiento térmico no mejoró la degradación enzimática de la zanahoria en comparación con el blanqueo, pero la depolimerización de los polisacáridos de la pared celular fue más extensa. La hidrólisis de los polisacáridos pécticos por pectinasas fue facilitada por la presencia de celulasas, que fueron necesarias para la completa liquefacción del tejido.

3.2.2.2 Extracción

El jugo de cualquier verdura fresca puede obtenerse por trituración o molienda, seguida de la separación de las partículas grandes gruesas, o bien, prensando el vegetal triturado para obtener el jugo transparente. Las características de sabor de muchos vegetales reside en la parte sólida en suspensión de los jugos, por lo cual los vegetales se Trituran y manejan de manera

que los sólidos permanezcan en suspensión.

Mientras más fina sea la molienda, mayor será la ruptura de las estructuras celulares y la liberación del protoplasma de las células. Los vegetales pueden molerse a una finura tal que sean prácticamente coloidales, produciendo un tipo de puré similar a los alimentos infantiles. (Desrosier, 1984).

3.2.2.3 Tamizado

Por medio de ésta operación se separa, en algunos jugos, todas las sustancias de tamaño mayor, a fin de mejorar su apariencia. Por ejemplo, en los jugos cítricos, el color y el sabor se deben a muchas de esas sustancias que están en suspensión. Las sustancias en suspensión contienen los pigmentos carotenoides que comunican el color y el aroma característicos. Si se eliminan totalmente, el jugo pierde gran parte de sus características y queda insípido. Sin embargo, se sacan en su mayoría, dejando solamente cierto porcentaje, pues el jugo en esa forma es mucho más estable y su conservación mejor. (Bergeret, 1970).

3.2.2.4 Homogenización

Esta operación tiene por objeto uniformar el jugo, evitando la separación en dos partes: la líquida y la sólida.

Al pasar el jugo por el homogenizador, se reduce en fragmentos pequesísimos la celulosa del jugo natural. Esto se obtiene proyectando el jugo, a una presión variable entre 300 y 400 atmósferas, contra una placa, a fin de producir la ruptura de dichas partículas.

La homogenización también provoca un aumento de la consistencia del producto.

Sin embargo, esta operación provoca una aireación del jugo, por lo cual se altera su sabor y afecta asimismo a la vitamina C. Además, la homogenización es solo conveniente en los envases de vidrio para dar una mejor apariencia e innecesaria en los de lata. (Bergeret, 1970).

3.2.2.5 Pasterización o esterilización

Los procesos térmicos a temperatura elevada se requieren para esterilizar los jugos neutros o ligeramente ácidos, provocan coagulación, floculación y, en último término grandes aglomerados de sustancias que han sufrido alteraciones. La adición de un ácido permitirá el uso de temperaturas de proceso menores, pero de todas maneras se presentará la coagulación de los sólidos suspendidos.

Durante varios años se han estudiado los métodos para evitar estos cambios. Las verduras, o sus jugos, deben calentarse a temperatura lo bastante altas para eliminar sus enzimas durante las etapas preliminares de preparación, o bien, tratarse los sólidos para que permanezcan en suspensión. El líquido se separa del sólido precipitado, sin embargo, con frecuencia es esencial retener las porciones sólidas en la bebida. (Desrosier, 1984)!

El jugo de zanahoria enlatado o embotellado debe ser calentado en un esterilizador a presión, a 115-121 °C para destruir las esporas más resistentes. (Desrosier, 1984).

3.2.2.6 Acidificación de jugos

Los jugos de hortalizas con pocas excepciones son ligeramente ácidos; por ello son procesados a altas temperaturas para inactivar las esporas que pueden germinar en los productos vegetales. La mayoría de las esporas de bacterias ácido tolerantes son usualmente incapaces de germinar cuando el pH es más bajo que 4.2. Los jugos vegetales suficientemente ácidos, se esterilizan a bajas temperaturas de proceso. Otros jugos o

mezclas deben ser acidificados si se usan temperaturas bajas de proceso. Las temperaturas de 82.2-100 °C, producen menos cambios en las características de los alimentos, es menos caro y consume menos tiempo. La acidificación parece presentar posibilidades para retener características más adecuadas y un valor nutritivo más grande.

La acidificación puede ser realizada por adición de purés ácidos. Los ácidos inorgánicos altamente disociados son más efectivos que ácidos orgánicos. Similarmente los ácidos orgánicos altamente disociados tales como ácido cítrico y láctico son más efectivos que ácidos como el ácido acético.

Algunos ácidos orgánicos que se pueden utilizar son el ácido cítrico, málico, láctico y acético, y entre los ácidos inorgánicos están el fosfórico y el clorhídrico. El ácido cítrico y el acético son los más comúnmente usados como agentes acidificantes. (Luh, 1975).

Cruess (anotado por Luh, 1975) realizó estudios extensos con preparaciones de jugos acidificados. Ellos concluyeron que los jugos acidificados como el de zanahoria, es preferible procesarlo a 100°C durante 30 min. que a 121.1°C por el mismo tiempo para jugo no acidificado.

3.2.2.7 Adición de enzimas

A partir del problema de formación de coágulo por el tratamiento térmico y los bajos rendimientos, se han desarrollado diferentes esfuerzos sobre la aplicación de preparados enzimáticos comerciales que resolvieran estos problemas, o bien a través de extractos enzimáticos de compuestos fungales (Heinen, 1975; Bock, 1979 y Dongowski, 1984).

Se ha reconocido que preparados que contienen pectinasas y celulasas son los que tienen mejores resultados (Traversi y col, 1988 y Schmitt, 1988).

Otras investigaciones han indicado que varias pectinasas y/o celulasas aumentan la producción del jugo de zanahoria (Sims, 1993).

Leo (1991) utilizó enzimas para preparar jugo de zanahoria, observó un efecto de sinergismo entre las celulasas, pectinasas y hemicelulasas aumentando la producción de jugo y la concentración de azúcar soluble. Además hubo cambios en la glucosa, fructosa y sacarosa la fracción soluble.

3.2.3. ELABORACION DE JUGO DE ZANAHORIA

Pederson (1971) describió las características del jugo de zanahoria desde el punto de vista nutricional, también señaló un proceso tradicional de preparación; que consta en extracción, precalentado, homogenizado y tratamiento térmico para su conservación. El producto presentó el problema de floculación debido al tratamiento térmico produciendo una reducción en su aceptabilidad, conservación y un aumento en su sabor amargo.

En otro proceso de obtención de jugo de zanahoria por molienda y presión en una prensa hidráulica, el rendimiento y el sabor no fueron satisfactorios. También indicó que el mejor sabor del jugo se obtiene de zanahorias maduras. El carácter amargo asociado con el talló y la piel se disminuye por pelado antes de moler y calentar. (Luh 1975).

Stephens y col (1971, 1974 y 1977) patentaron un proceso para fabricar jugo de zanahoria introduciendo un cocimiento del vegetal en una solución ácida antes del proceso de extracción, esta mejora reduce el tiempo de tratamiento térmico además de mejorar sus características de turbiedad del proceso anterior, el problema de la formación de coágulo se reduce. Sin embargo, éste proceso tiene la desventaja de que se debe tratar la zanahoria en forma entera para evitar que los carotenos se fijen

al material fibroso reduciendo su valor nutricional y disminuyendo también el rendimiento del jugo.

Bates (1974) aplicó el proceso alta temperatura-tiempo corto (HTST) con homogenización del jugo para reducir la coagulación y manteniendo el blanqueo ácido. Kim reporta las condiciones óptimas del proceso de blanqueo de la zanahoria y la concentración de la solución a emplearse.

En este proceso el rendimiento (jugo extraído por unidad de peso de materia prima) no es lo suficientemente bueno y algunos minerales no son extraídos completamente.

De acuerdo con Luh (1975), un jugo de zanahoria aceptable contiene aproximadamente 10% de sólidos solubles, con una acidez titulable de 0.15% y un pH de 6.1. También menciona la elaboración de un jugo de zanahoria que se parece en sabor y consistencia al jugo de naranja. Se prepara por el siguiente procedimiento: los vegetales se lavan, recortan y se pasan por un molino; posteriormente se dá un tratamiento térmico preliminar a 82.2°C para coagular todos los materiales inestables al calor. La mezcla se homogeniza para prevenir la coagulación del material insoluble durante un nuevo tratamiento térmico. El jugo es precalentado a 71.1°C, llenado en latas y procesado a 121.1°C por 30min.

También se han realizado estudios sobre la elaboración de jugo de zanahoria con preparados de origen vegetal o fungal. Por ejemplo:

Heinen (1975) utilizó las enzimas pectinolíticas presentes en tomates maduros. Hizo una maceración de zanahoria y pulpa de tomate 3:1.

Dongowski (1984) preparó jugo de zanahoria utilizando preparaciones de poligalacturonasa (Rohament P y una preparación de Aspergillus niger) para estabilizarlo. Encontró que la preparación de Aspergillus niger tuvo un mayor efecto que Rohament P especialmente a pH 4.5.

Bock (1979) elaboró jugo de zanahoria mediante tratamiento enzimático. Usó un complejo enzimático de origen fungal el cual contiene pectinesterasa, endo-poligalacturonasa, celulosa y hemicelulosa.

3.3 PROPIEDADES DE LA NUBE

En el jugo de cítricos así como en el de zanahoria se requiere que sean turbios con una nube estable.

La nube del jugo de cítricos es una mezcla heterogénea de partículas conteniendo cantidades variables de fragmentos de la pared celular, gotas de aceite, cromatóforos y (en algunas variedades) cristales de hesperidina. Estas partículas pequeñas son consideradas como componentes de la nube, y tienen un tamaño de 0.5 a 10 micras. Los constituyentes de la nube son cerca del 48% de los sólidos secos de jugo de naranja, o cerca del 2% de los sólidos en concentrados con 50 ° Brix.

Las partículas que contiene el jugo de naranja son aproximadamente 25% de lípidos, 34% de proteína y 32% de pectina. La celulosa y la hemicelulosa están presentes en niveles del 2% o menos. Los niveles relativamente altos de la celulosa y la hemicelulosa encontrados en el albedo y la pulpa sugiere que la nube no es derivada vía maceración de alguno de éstos tejidos, pero es un componente inherente del jugo. Esto es también soportado por los niveles bajos de proteína y lípidos de la estructura de éstos tejidos relativos a los niveles en la nube. (Crandall 1983).

En otro experimento se extrajo la nube de dos concentrados comerciales de jugo de limón de los cuales el porcentaje de proteína fue 29.8% de la nube. Las proteínas en el jugo de limón están en una forma insoluble. La insolubilidad de la proteína puede ser atribuida principalmente a tres causas: desnaturalización por calor, insolubilidad inherente, o a la formación de complejos de las proteínas con otros constituyentes

de la fruta. Sin embargo el trabajo de Klavons (1985) presenta evidencias que las proteínas desnaturalizadas no contribuyen a la nube, pero que las proteínas inherentemente insolubles y/o las que forman complejos son constituyentes de la nube.

3.4 ESTABILIZACION

3.4.1 ESTABILIZACION DEL JUGO

Los jugos vegetales no ácidos son difíciles de extraer y preservar sin que ocurran cambios indeseables en sabor y apariencia. En los jugos turbios, como el de la zanahoria, se mantienen las características de sabor en los sólidos suspendidos. Estos sólidos se encuentran en estado coloidal pero se precipitan a temperatura de 71.1°C o más; frecuentemente la adición de ácido promueve la coagulación del material suspendido y también el proceso de esterilización de los productos a alta temperatura (121 °C) causa la coagulación, floculación y por último la precipitación de grandes aglomerados (Tressler 1971) dando como consecuencia la clarificación del producto que en estos casos es un defecto en su calidad.

Sinclair (1961) observó que la floculación de sustancias coloidales dispersas y la pérdida de la nube en jugo de naranja se podían prevenir por un tratamiento térmico. También postuló la presencia de una enzima clarificante y señaló que si el jugo era pasteurizado éste no se clarificaría y se mantendría la nube por más tiempo.

Posteriormente se ha comprobado que el jugo extraído de los cítricos proporciona un material que contiene pectina y pectinesterasa (enzima la cual desmetila a la pectina y facilita la precipitación de los materiales en suspensión del jugo). El jugo de cítricos frescos contiene una gran variedad de partículas insolubles finamente divididas (menores a 2 micras) que constituyen una nube estable. (Reed 1975).

De acuerdo a lo anterior para obtener la estabilización de la nube se requiere romper la secuencia de eventos que dirigen a precipitar la pectina del jugo (Figura 2).

Plat (1988) estudió los cambios en las sustancias pécticas después de un tratamiento térmico, observó diferencias en la pectina y pectato de calcio. La relación de azúcares neutros a ácidos urónidos casi no cambió en la fracción de pectina soluble, pero las cantidades de glucosa y ramnosa aumentaron después del tratamiento térmico cerca de 10 y 3 veces respectivamente. La relación de azúcares neutros a ácidos urónidos en el pectato de calcio después del tratamiento térmico aumento de 0.11 a 0.27. En promedio, todos los azúcares neutros aumentaron cerca de 3 veces mientras que la ramnosa aumento 8 veces. El aumento de la ramnosa comparado con el de otros azúcares en tejido calentado indica posible degradación de pectinas.

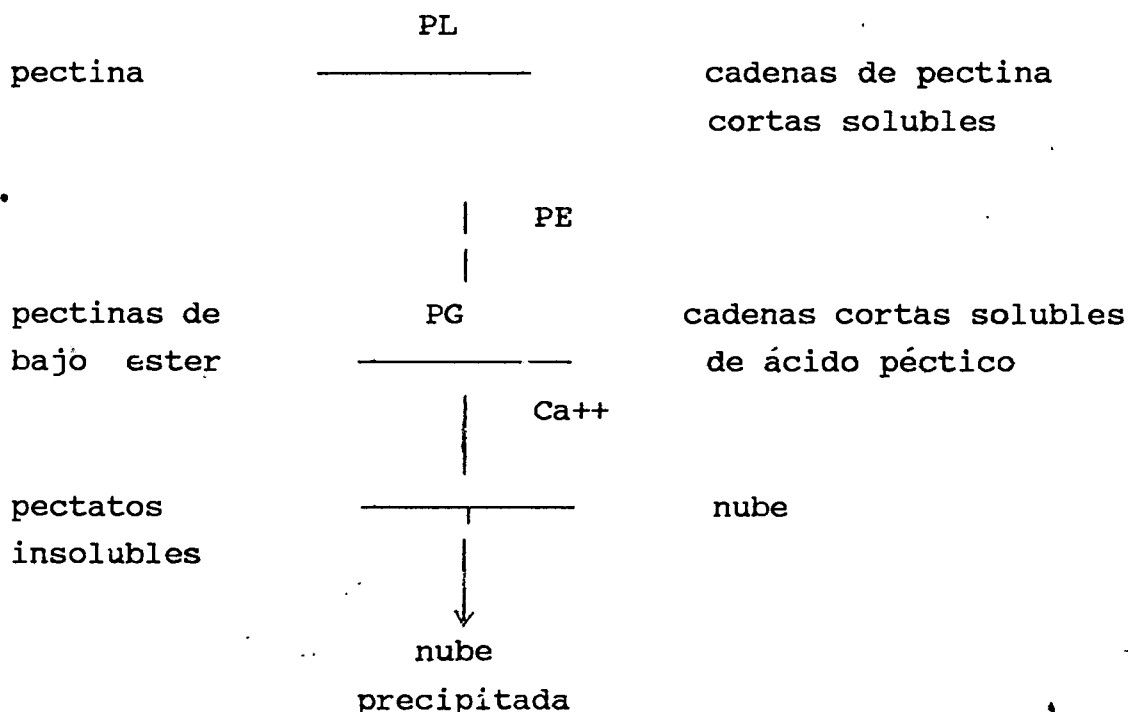


Fig.2 Diagrama de degradación de pectina. (PL=pectin lyasa, PE pectinesterasa y PG póligalacturonasa) (Crandall 1983).

En otros experimentos se ha encontrado un aumento en la nube por homogenización del jugo antes de la pasterización. (Sinclair 1961).

3.4.2 METODOS DE ESTABILIZACION

Un método usado comúnmente para estabilizar la nube del jugo es la inactivación de pectinesterasa o pectinmetilesterasa (PE) por calor. La inactivación por calor de PE no es lineal, y una fracción de la actividad es resistente al calor. Esta respuesta no lineal es debida a la presencia de múltiples formas de PE en el jugo de cítricos, una de las cuales resiste el calentamiento a 80° C. Sin embargo ésta forma resistente al calor constituye solamente el 5 al 10% de la PE total, su actividad fué suficientemente lenta para clarificar el jugo (Crandall 1983).

Sin embargo, la inadecuada inactivación de la pectinesterasa y su consecuente acción sobre la pectina produce pectina baja en metoxilo la cual reacciona con cationes polivalentes para formar pectatos insolubles. La oclusión de las partículas de la nube por pectato continúa y causa sedimentación, esto ocasiona la clarificación mencionada. (Reed 1975).

Las zanahorias tienen actividad pectinesterasa, la cual podría dirigir a la precipitación de la pectina en el jugo con la posterior pérdida de la nube. (Lee 1979).

Se ha observado que la alta temperatura requerida para la esterilización del jugo de zanahoria crudo provoca la formación de un coágulo, además el color del jugo precipita con el coágulo. Una pequeña cantidad de coágulo se formará si las zanahorias crudas son calentadas en agua antes de la extracción del jugo. El jugo de zanahorias calentadas 5 min en solución de ácido acético 0.05 N dá mejores resultados que el de las zanahorias calentadas en agua durante 5 min. (Stephens 1971).

Además calentar las zanahorias enteras a 93°C antes de moler y presionar mejora el color, pero reduce el rendimiento del jugo comparado con las zanahorias molidas calentadas a 93°C. El color del jugo fué mejorado por la acidificación de las zanahorias molidas a pH 4 o 5 con ácido cítrico antes de presionar. El jugo de zanahorias calentadas antes de moler clarificó rápidamente si no se acidificaba antes de la presión. La acidificación después de la extracción del jugo no estabilizó la nube. Una preparación comercial pectinasa/hemicelulasa mejoró el color del jugo, pero no el rendimiento (Sims 1993).

Un método de estabilización mecánico se apoya en que la mayoría de los métodos de preparación de pulpa de frutas se basan en que muchas frutas son suficientemente suaves durante la maduración. En estos frutos, un corto tratamiento de blanqueo seguido por una molienda y homogenización es suficiente para producir la estabilidad deseable de la nube en la bebida final (Struebi 1978).

Bates elaboró jugo de zanahoria por el siguiente procedimiento: realizó un pelado en lejía, un blanqueo en ácido, molienda, homogenizado, calentamiento a 143°C durante 15s, enfriado a 40°C y llenado asépticamente. El color típico y el sabor es retenido por más de 8 meses a 25°C con solo un mínimo de sedimento de sólidos suspendidos. Sin embargo los datos de pruebas sensoriales no fueron muy alentadoras.

3.4.3 ESTABILIZACIÓN POR ENZIMAS

Pectinasas comerciales con alta actividad de poligalacturonasa pero baja pectinmetilesterasa y polimetilgalacturonasa podrían ser usadas para tratar jugo de naranja sin calentar y producir un jugo con nube estable. Las pectinasas estabilizan la nube degradando mucho la pectina insoluble y una menor parte de la pectina soluble del jugo a pectatos solubles (Reed 1975).

Otro método para estabilizar el jugo de cítricos involucra el uso de enzimas despolimerizantes de la pectina. Este procedimiento ha sido descrito por Baker y Bruemmer (1972) en el cual las enzimas pectinolíticas fueron adicionadas al jugo, éstas enzimas despolimerizan la pectina a subunidades cortas, las cuales causan un efecto estabilizante. La estabilización ocurre por inhibición competitiva de la PE con hidrolizados de ácido péctico. Los hidrolizados contienen residuos de ácido poligalacturónico con un promedio de grado de polimerización de 8 a 15 deseable para prevenir la pérdida de la nube. La teoría propuesta es que el peso molecular de los hidrolizados fuése suficientemente grande para inhibir a la pectinesterasa pero no demasiado pequeños para causar la clarificación del jugo por precipitación con el calcio presente en el jugo (Braddock 1979).

También se han utilizado enzimas comerciales como por ejemplo Rohament P, una pectin glicosidasa; la licuefacción de frutas y tejidos vegetales por medio de ésta enzima se produce por la separación de las células sin romperlas. La estabilidad de la nube de los jugos obtenidos es alta debido a un alto contenido de pectina soluble en agua (Grampp 1969).

Anastasakis et al. (1987) estudiaron la acción de celulasas, hemicelulasas, pectinesterasas, Rohament PC (mezcla de pectinglicosidasas) o mezclas de ellas. Encontró que el uso de enzimas aumenta el rendimiento del jugo. También observó que era necesario usar enzimas pécticas para liberar la celulosa de la pared celular y aumentar la efectividad de la celulosa.

Schmitt (1988) usó una preparación comercial Rohament P, en la maceración de zanahorias. Este preparado convierte la protopectina insoluble en pectina soluble. Una combinación con Rohament PC (una celulasa) se obtiene un puré de baja viscosidad. El líquido obtenido puede ser concentrado o secado (éste no tiene la consistencia de un jugo). Las fibras de celulosa se removieron

por la acción de Rohament K (un complejo que contiene pectinglicosidasa, pectintranseliminasa y hemicelulosa). El jugo obtenido contiene partículas de beta-caroteno finamente distribuidas, alta intensidad de color y buena estabilidad.

También Traversi et al. (1988) prepararon una maceración de zanahoria con 1) Maxazym CL2000 (una preparación de celulasa), 2) Rapidasa C80 (una preparación de enzimas pectinolíticas), 3) una mezcla de 1 y 2, y 4) el control sin enzima. Concluyó que la mezcla dió los mejores resultados.

3.4.4 ESTABILIDAD DEL COLOR DEL JUGO DE ZANAHORIA

El color en el jugo de zanahoria es proporcionado por los carotenoides.

El jugo de zanahoria, muestra composición variable, particularmente con carotenos, dependiendo del producto fresco y el tipo de procesamiento. Variaciones con zanahorias pueden ser controlados por medio del cultivo y la selección, así como también a través del manejo de la cosecha.

Las diferencias de color aparecen frecuentemente después del procesamiento térmico, causando un cambio de rojo a naranja-amarillo los cuales varían con diferentes cultivos dirigiendo a una disminución en el valor de a_1 .

Esto puede ser acompañado por una disminución en los carotenoides totales pero esto es generalmente causado por isomerización cis y por un rompimiento de cromoplastos disolviéndose los carotenoides en otros lípidos celulares. (Munsch 1983).

Kim (1983) observó que los cambios de color en la elaboración de jugo de zanahoria fueron debidos al blanqueo más que a la esterilización.

También la baja calidad del color podría resultar de una baja extracción, coprecipitación de beta caroteno con moléculas grandes (durante la pérdida de la nube), o decoloración enzimática y oxidativa. (Sims 1993).

En México no se han realizado intentos para estabilizar la nube de turbiedad del jugo de zanahoria a través del uso de complejos enzimáticos comerciales. Por lo que éste trabajo aporta información acerca del uso de éstos complejos y se hace un análisis de su aplicación.

4. OBJETIVOS

Mediante el desarrollo del presente trabajo se pretende lograr los siguientes objetivos:

4.1 OBJETIVO GENERAL

Mejorar la estabilidad de la nube de turbiedad de los jugos de zanahoria durante el tiempo de almacenamiento.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Establecer las condiciones óptimas para la acción de una mezcla de pectinasas de origen fungal.
2. Establecer las condiciones óptimas para la acción de una mezcla de pectinasas, celulasas y hemicelulasas.
3. Evaluar los efectos de los tratamientos enzimáticos y compararlos con un procedimiento convencional modificado de elaboración de jugo de zanahoria.
- 4.- Evaluar los cambios de color y turbidez de el jugo de zanahoria durante su almacenamiento.

5. HIPOTESIS

El tratamiento enzimático con pectinasas provocará que las partículas resultantes de la reacción enzimática se mantengan suspendidas durante un mayor tiempo dando estabilidad al sistema.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1 MATERIA PRIMA

Para la realización de estos estudios, se utilizó zanahoria, (Daucus carota) cv Chantenay por ser la más importante en la región y del cultivo en general. Las muestras fueron obtenidas de la central de abastos de Querétaro (con 24h de corte).

Las mezclas enzimáticas que se utilizaron fueron proporcionadas por la compañía ENMEX, se utilizaron 2 extractos enzimáticos con las siguientes características:

CLAREX

Es un sistema de enzimas pectinolíticas de grado alimenticio obtenido de la fermentación de Aspergillus niger (var). Estas pectinasa hidrolizan y despolimerizan efectivamente las pectinas presentes en las frutas. Clarex es usado en jugo de manzana. .

No son necesarios activadores o cofactores para la completa efectividad.

Este complejo demuestra una óptima despectinización en el rango de 3.5 a 5.0. El rango efectivo se extiende de 2.5 a 5.5. Además tiene un rango efectivo de temperaturas de 2 a 60°C con una temperatura óptima de 50°C a pH 3.5.

Es inactivado rápidamente a pH debajo de 2.0 y arriba de 7.0. Las pectinasas son inactivadas aproximadamente 15 min a 70°C y pH 3.5, e instantáneamente a temperatura de pasteurización (82°C).

Las concentraciones utilizadas son 200 a 400ml por 3785 l de jugo.

MACEREX

Es un sistema enzimático grado alimenticio con actividad pectinolítica, celulolítica y hemicelulolítica estandarizada.

Las enzimas contenidas en Macerex son obtenidas de la fermentación controlada de cepas seleccionadas de Aspergillus niger y Trichoderma reesei.

Macerex se utiliza en la maceración de frutas con la finalidad de obtener el mayor rendimiento en la extracción de jugo e incrementar el contenido de sólidos en el jugo extraído.

Este complejo trabaja a condiciones óptimas en un rango de pH de 3.5 a 5.0; también presenta actividad a temperaturas entre 2°C y 60°C, siendo la temperatura óptima 50°C a un pH 3.5.

La dosis recomendada de uso es de 25 a 75ml por tonelada de fruta durante un tiempo de 2h a 50°C.

La pectina cítrica utilizada para los análisis de actividad de poligalacturonasa (PG) de la marca Sigma.

6.2 METODOS DE LABORATORIO PARA EL ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE ACTIVIDAD DE LAS ENZIMAS

6.2.1 ACTIVIDAD ENZIMATICA DE POLIGALACTURONASA

Se utilizó el método de Gross (1982), el cual consiste en poner en un tubo de ensaye 120 microlitros de solución de pectina como sustrato y 80 microlitros de solución del extracto de la enzima 1:100; Se incuba a la temperatura óptima de la enzima durante 10 min. Al finalizar este tiempo se adiciona 1 ml de buffer de borato a pH 9 y 200 microlitros de una solución de 2-cianocetamida al 1%, se agitan los tubos y se ponen en baño María a ebullición durante 10 min. Se enfrían los tubos y se lee a 276 nm en un espectrofotómetro Mod DU65 Marca Beckman.

La actividad enzimática se expreso como Katal/Kg proteína. Un katal equivale a micromoles por segundo.

6.2.2 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS POR EL MÉTODO DE LOWRY

A 6 tubos se adicionó 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 Y 0.8ml de solución de proteína estándar (125 microgramos/ml de seroalbumina bovina). Posteriormente se adicionó agua destilada a cada tubo para dar el volumen de 0.8ml. Se agregó 4ml de la solución descrita anteriormente y se mezcló. Se dejó reposar 15 min. Se adicionó 0.4ml de una solución del reactivo de Folin-Crocalteu diluido con dos volúmenes de agua y se mezcló. Se dejó reposar 45min y se tomó la Lectura a 600nm contra el tubo al cual no se le adicionó proteína.

Los resultados se expresaron como microgramos de proteína por mililitro de concentrado.

6.2.3 DETERMINACION DE pH OPTIMO

Se determinó la actividad enzimática a la temperatura óptima

indicada por el proveedor de los extractos enzimáticos, es decir, a 50 °C y se utilizó una solución de cada extracto enzimático al 1%. Se probó la actividad a pH 2,3,4,5,6,7 y 8 para conocer el pH óptimo de los complejos enzimáticos bajo éstas condiciones.

6.2.4 DETERMINACION DE LA TEMPERATURA OPTIMA

Se determinó la actividad enzimática a diferentes temperaturas (20,30,40,50,60,70 y 80 °C) a pH 4.0 y una solución de cada extracto enzimático al 1% para conocer la T óptima de acción bajo éstas condiciones.

6.2.5 PRUEBA DE LA PEROXIDASA

Esta prueba se realizó para verificar que el escalde o blanqueo ácido se cumpliera correctamente, es decir, que las enzimas que contenía el jugo (entre ellas la PE) fueran inactivadas.

Se tomó una muestra de 100 a 200g de zanahorias, se extrajo el jugo y se filtró con manta de cielo. A un tubo con 20ml de agua destilada se añadió 2 ml del filtrado. Se añadió 1 ml de solución de guayacol al 0.5% en etanol al 50% sin agitar y 1ml de H₂O₂ al 0.08% sin agitación. El contenido del tubo se mezcló por inversión del tubo y se observó la coloración.

El blanco se preparó añadiendo 2 ml de filtrado y 22 ml de agua destilada en otro tubo, se agitó y utilizó como control para comparar el color. (A este tubo no se le añade guayacol ni peróxido).

Si el primer tubo muestra una coloración rojiza de suficiente intensidad que haga contraste con el control, el resultado de la prueba se consideró positivo e indicó un escaldado inadecuado. Si no aparecía un color distinto en 3.5

min. el resultado de la prueba fue negativo y las zanahorias se consideraron adecuadamente escaldadas. Pero si se desarrollaba un color distinto pero que tardara más de 3.5 min en aparecer, la prueba se consideró como negativa.

6.3 ESTABLECIMIENTO DE LAS CONDICIONES OPTIMAS DE TIEMPO DE ACCION, pH Y CONCENTRACION DE LA ENZIMA EN EL JUGO DE ZANAHORIA.

Las zanahorias fueron lavadas en agua, cortadas en segmentos de 8 cm de longitud aproximadamente y fueron escaldadas en solución de ácido cítrico 0.1N a ebullición durante 10 min, posteriormente se extrajo el jugo con un extractor centrífugo de marca EXMEX.

1. Efecto de la concentración de los preparados enzimáticos.

A una fracción del jugo extraído se le ajustó su pH a 4.4 y se variaron las concentraciones (en microlitros por litro) de los complejos enzimáticos de acuerdo a la tabla siguiente:

Clarex	Macerex
(micras/l)	(micras/l)
0.0	0.0
6.7	8.3
10.0	12.5
20.0	25.0
40.0	50.0
80.0	100.0

Se incubó en baño María a 50°C durante 1 h.

2. Efecto del pH y tiempo de acción sobre la actividad enzimática a dos pHs (4.0 y 4.4).

A distintas muestras del jugo extraído se les ajustó el pH (4.0 y 4.4 para favorecer la acción de exopoligalacturonasa y endopoligalacturonasa), se incubó con los dos complejos enzimáticos utilizándose una concentración de 0.079ml/l jugo y 0.1ml/l jugo para clarex y macerex respectivamente; se incubaron en baño de agua a 50 °C a diferentes tiempos: 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 y 120 min.

Transcurrido el tiempo de incubación, los tubos se colocaron en un baño a ebullición durante 30min, se enfriaron a T ambiente y se mantuvieron en una estufa marca Fellisa a 37 °C durante 14 días; durante éste tiempo se tomaron muestras periódicas para analizar la turbidez y el color del jugo.

Aquellos jugos que mantuvieron una mayor turbidez y/o mejor color fueron los que se seleccionaron como criterio para definir los mejores tratamientos.

6.4 ENSAYOS A NIVEL PLANTA PILOTO

6.4.1 EXTRACCION DEL JUGO

El método que se utilizó para la elaboración de jugo de zanahoria fué similar al método convencional al cual se aplicaron algunas modificaciones. El método utilizado fue el siguiente: las zanahorias se lavaron con agua, se picaron en trozos de aproximadamente 8 cm de longitud y se escaldaron en una solución de ácido cítrico 0.1N a 92 °C por 10 min. (prueba de peroxidasa negativa), después se extrajo el jugo con un extractor comercial marca EXMEX, el jugo se filtró con una doble capa de manta de cielo para eliminar partículas de mayor tamaño.

6.4.2 TRATAMIENTO MODIFICADO

Al jugo extraído se le ajustó el pH a 4.0 y 4.4, se calentó a 85 °C durante 1min, posteriormente homogenizó 1 litro de jugo mediante un equipo Ultra Turrax T25 a 8000 rpm durante 1 minuto. Se llenaron frascos de vidrio de 250ml, se trataron térmicamente a 92°C durante 30 min. Finalmente los frascos se enfriaron a temperatura ambiente.

6.4.3 TRATAMIENTO ENZIMATICO

A las muestras de jugo se les ajustó el pH, se adicionaron los preparados enzimáticos y se incubaron a 50 °C durante 30min.

Posteriormente el jugo se calentó a 85°C y se hogeneizo y se trató térmicamente de forma similar al tratamiento anterior.

6.5 ALMACENAMIENTO ACELERADO

Se tomaron muestras de los tres tratamientos: 1) Clarex (C), 2) Macerex (M) y 3) Sin enzima o control (S); los cuales se mantuvieron a 37°C en una estufa Fellisa con control de temperatura digital. Se analizaron lo tratamientos cada do días aproximadamente durante 14 días.

6.6 EVALUACION DE PROPIEDADES FISICAS

6.6.1 COLOR

Este parámetro se evaluó a través de un espectrofotómetro MCA Minolta modelo CM-2002. Se determinaron parámetros de color del jugo, las coordenadas internacionales de color L*, a* y b* con iluminante C y observador a 10°.

6.6.2 TURBIDEZ

Se utilizó el método reportado por Stephens, T. (1976) que es el Método: United States Standards for Grades of Grapefruit Juice 1968. Se modificaron las cantidades utilizadas; 20 ml de jugo de zanahoria se centrifugaron a 1300 rpm durante 10 min, se tomó 1 ml del sobrenadante, se diluyó a 10 ml con agua destilada y se tomó la lectura a una longitud de onda de 660nm en un espectrofotómetro Spectronic 21 manufacturado por la compañía Milton Roy.

NOTA: En todos los ensayos se hizo un análisis de varianza (LSD) con 95% de confiabilidad.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El jugo de zanahoria fue tratado con: 1) Clarex (C), 2) Macerex (M), y 3) Sin enzima o control (S).

Los siguientes parámetros fueron evaluados para los tratamientos en los diferentes experimentos: turbidez (en % de transmitancia), luminosidad (L^*), valores de a^* , valor de b^* y matiz (arco tangente (valor de $a^*/$ valor de b^*))

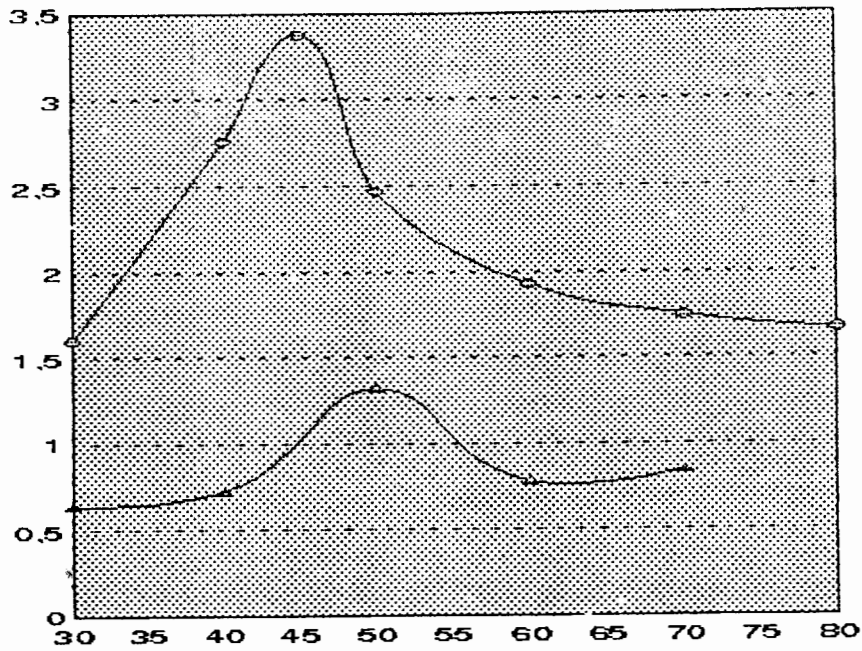
El jugo de zanahoria es muy inestable por lo que precipita y pierde color. De aquí que se eligió como mejor resultado los que mantienen ó aumentan los valores de L^* , a^* , b^* y matiz; y para turbidez es mejor el resultado cuando el % de transmitancia es menor.

7.1 TEMPERATURA Y PH OPTIMOS PARA LA ACTIVIDAD ENZIMATICA

En la figura 3 y 4 se muestra el comportamiento de la actividad enzimática de los dos complejos enzimáticos a distintas temperaturas y pHs. Se observa que Macerex tiene un intervalo más amplio de acción, tanto en temperatura como en pH y además muestra una mayor actividad en los dos casos, ésto probablemente se debe a que Macerex contiene además de pectinasas, celulasas y hemicelulasas que ayudan a degradar el tejido y favorecen la acción de las poligalacturonasas.

De acuerdo con éstos resultados las condiciones óptimas para Clarex fueron 50°C y pH 4 y para el caso de Macerex fueron 45°C y pH 4.

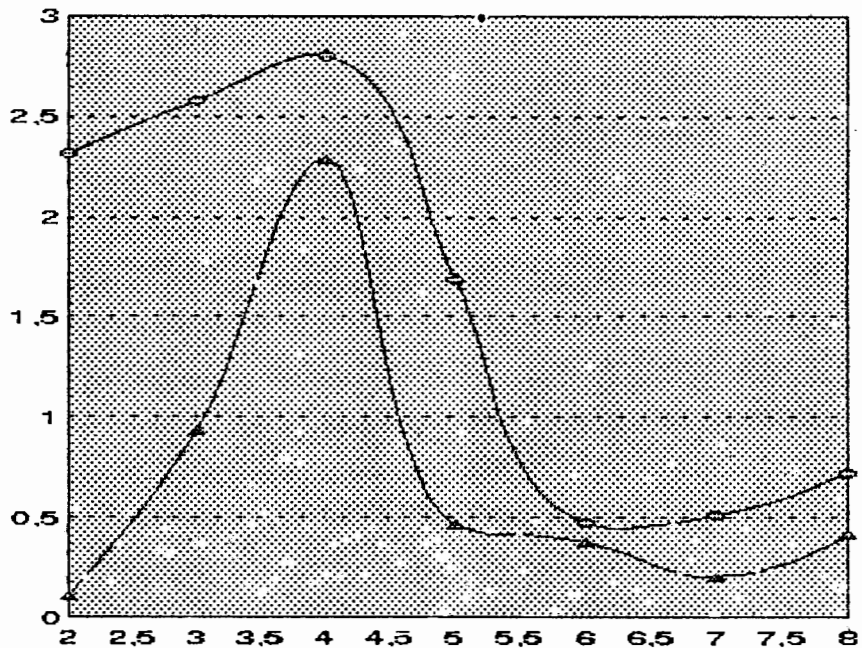
ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (Kat/Kg Prot.)



TEMPERATURA

Figura 3. Efecto de la temperatura sobre la actividad de poligalacturonasa (incubación a pH 4.4, 10min.).

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA (Kat/Kg prot.)



pH

Figura 4. Efecto del pH sobre la actividad de poligalacturonasa (incubación a 50°C, 10min.).

7.2 ENSAYO A NIVEL PLANTA PILOTO

La información técnica siguiente fue proporcionada por el fabricante de los extractos enzimáticos: pH medio recomendado 4.4, incubación a 50°C durante 2h, las concentraciones medias para Clarex y Macerex son 118.5 y 100 microlitros/l respectivamente. Bajo éstas condiciones se desarrolló un ensayo a nivel planta piloto.

La figura 5 muestra la evolución de la turbidez durante 13 días de almacenamiento; en ella se observa que las muestras de jugo tratadas con los extractos enzimáticos fueron más claras que las no tratadas con ellos, lo cual indicó que los tratamientos en lugar de mantener la nube tendieron a clarificar el jugo.

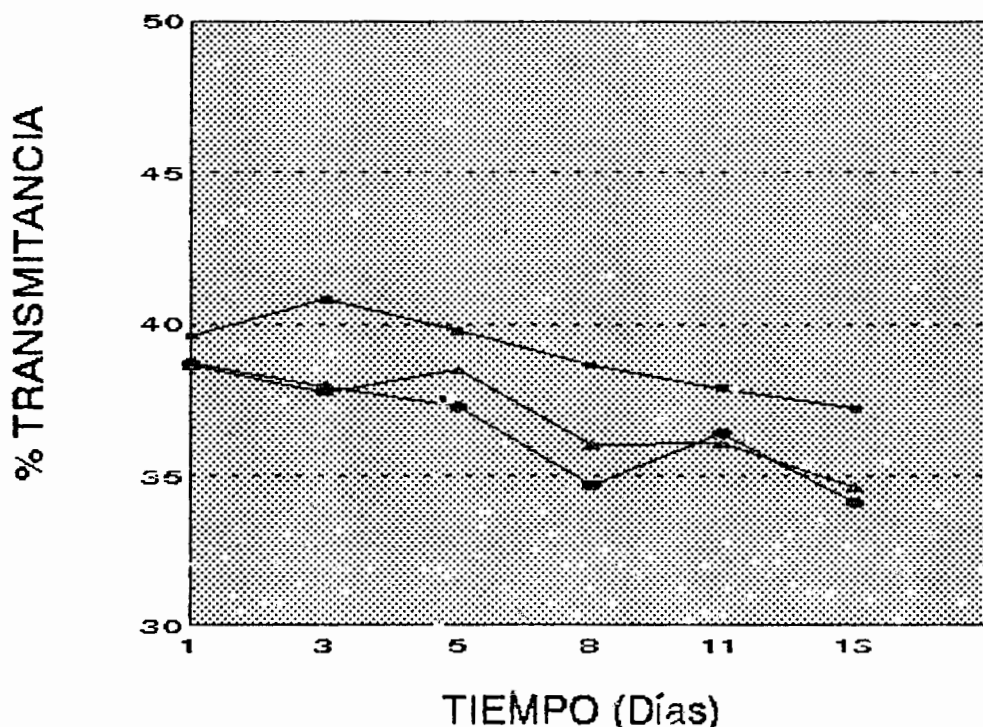


Figura 5. Cambios de turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el almacenamiento a pH 4.4 (1° ensayo a nivel planta piloto).

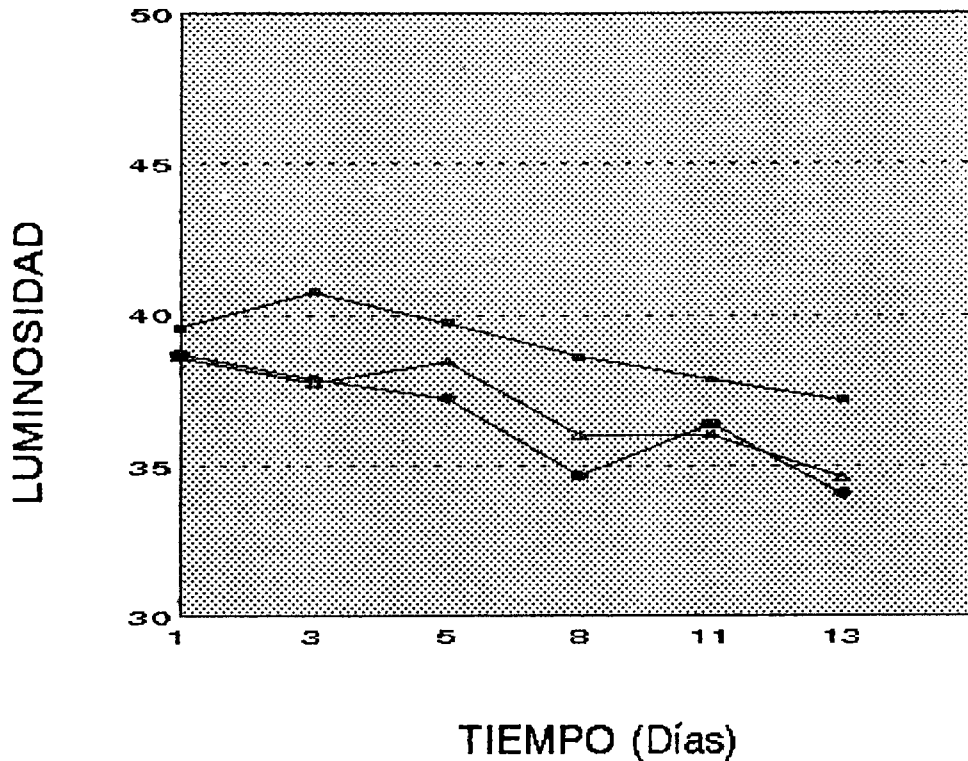


Figura 6. Cambios de luminosidad en jugo de zanahoria durante el almacenamiento a pH 4.4 (1º ensayo a nivel planta piloto).

La luminosidad del producto (figura 6) también mostró valores mayores para el tratamiento sin enzima que para los grupos tratados.

Para el caso del color del jugo de zanahoria los valores de a^* y b^* así como el matiz (arco tangente a^*/b^*) son los que nos indican los cambios que se presenten en éste factor de calidad. Las figuras 7 y 8 muestran las evoluciones de estos parámetros durante el almacenamiento del jugo.

El valor de a^* para los grupos tratados no mostró diferencias hasta el día 11; sin embargo el día 13 las muestras no tratadas mostraron una caída importante en el valor de a^* , en tanto que las tratadas mantuvieron su color. Este aspecto lo muestra claramente el matiz (figura 9).

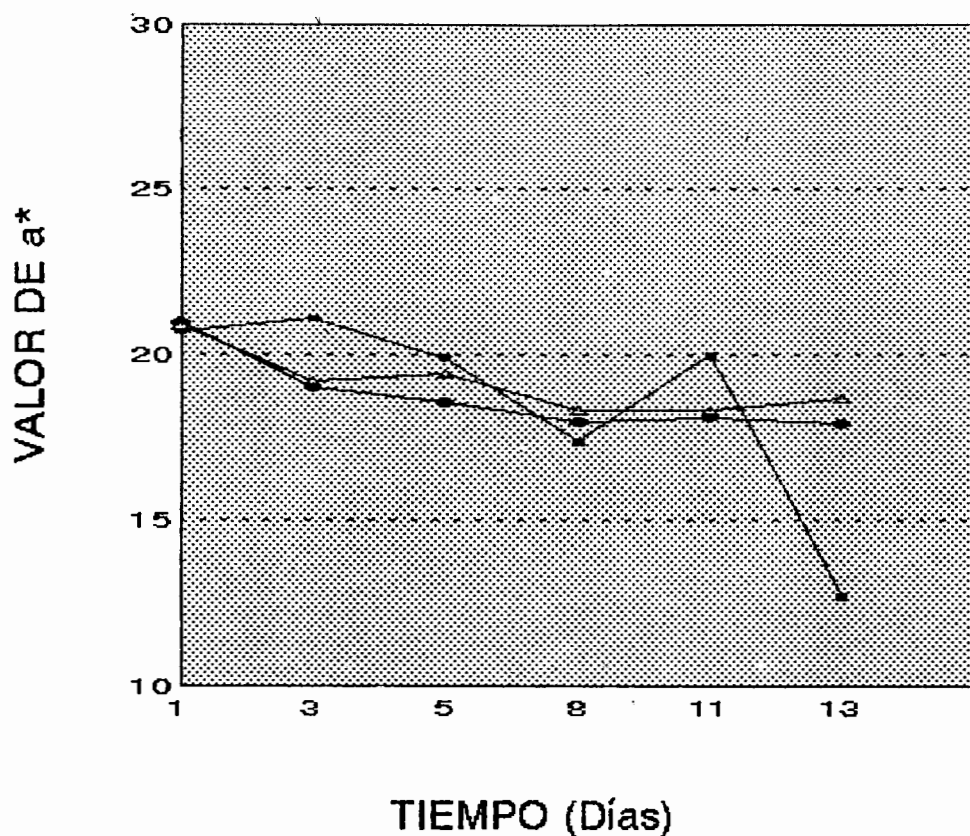


Figura 7. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento a pH 4.4 (1° ensayo a nivel planta piloto).

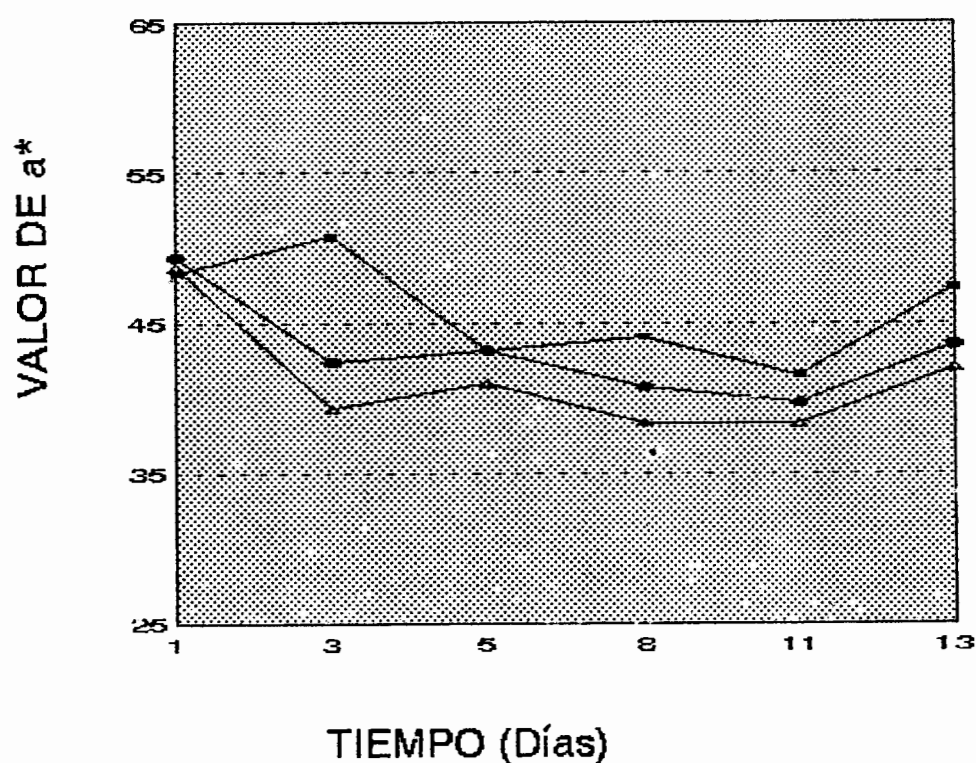


Figura 8. Cambios del valor de b^* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento pH 4.4 (1° ensayo a nivel planta piloto).

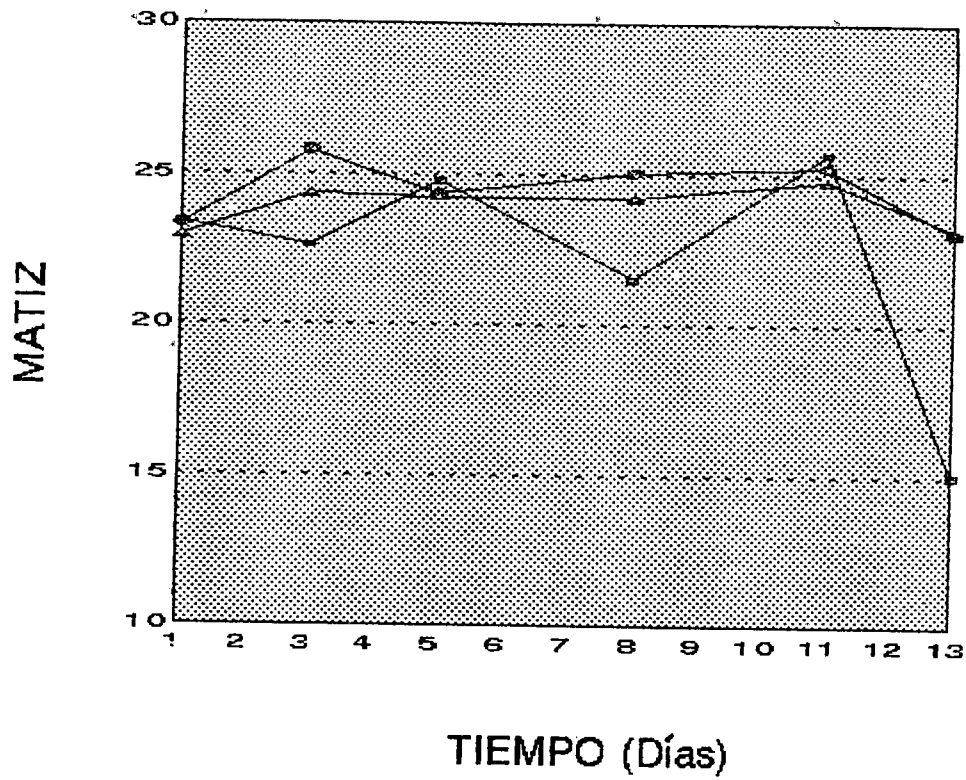


Figura 9. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el almacenamiento pH 4.4 (1^o ensayo a nivel planta piloto).

7.3 EFECTO DE LA CONCENTRACION DE LOS COMPLEJOS EN JUGO DE ZANAHORIA

Dado los resultados del experimento anterior se planeó realizar otro en el cual se utilizaron diferentes concentraciones de los complejos enzimáticos, incubando 1h. Las muestras se almacenaron a 37°C durante 14 días. Terminado éste tiempo se evaluó la turbidez y los parámetros de color al jugo.

Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 4 y 5, éstas muestran que no hay diferencia significativa en turbidez. Comparando el ensayo anterior con éste, nos muestra que los extractos se acercaron al tratamiento control sin superarlo.

Tabla 4. Valores de % de transmitancia (%T), Luminosidad (L*), valor de a*, valor de b* y Matiz del jugo de zanahoria elaborado a diferentes concentraciones de CLAREX, pH 4.4 e incubado a 50°C durante 1h y almacenado durante 14 días (Concentración en microlitros/l, el valor entre () es la desviación estándar).

Conc.	% T	L*	a*	b*	Matiz
0.0	65.0 (0.58)	35.70 (0.35)	10.92 (0.38)	34.64 (1.78)	17.58 (0.60)
6.7	63.5 (0.82)	34.42 (0.49)	13.93 (0.54)	33.50 (2.52)	22.82 (0.79)
10.0	65.5 (0.82)	35.00 (0.49)	11.67 (0.54)	33.03 (2.52)	19.46 (0.79)
20.0	66.0 (0.82)	35.45 (0.49)	10.88 (0.54)	31.71 (2.52)	19.01 (0.79)
40.0	66.5 (0.82)	34.75 (0.49)	11.54 (0.54)	36.46 (2.52)	17.57 (0.79)
80.0	65.5 (0.82)	34.86 (0.49)	11.04 (0.54)	34.65 (2.52)	17.67 (0.79)

En cuanto a la luminosidad se observó que no hay diferencia entre el tratamiento con Clarex y el control, el tratamiento con Macerex es menos luminoso que el control en las tres primeras concentraciones.

El valor de a^* y matiz mostraron diferencias significativas a concentraciones bajas. Los valores más altos fueron para el tratamiento con Clarex con 6.7 microlitros/l y para el tratamiento con Macerex a 8.3 y 12.5 microlitros/l. El valor de b^* no mostró diferencias entre los tres tratamientos.

De acuerdo con los resultados anteriores hubo la necesidad de realizar un nuevo experimento con el fin de determinar el tiempo de acción de los extractos enzimáticos más apropiado para obtener un jugo con una nube más estable que el control.

Tabla 5. Valores de % de transmitancia (%T), Luminosidad (L^*), valor de a^* , valor de b^* y Matiz del jugo de zanahoria elaborado a diferentes concentraciones de MACEREX, pH 4.4 e incubado a 50°C durante 1h y almacenado durante 14 días (Concentración en microlitros/l, el valor entre () es la desviación estándar).

Conc.	% T	L^*	a^*	b^*	Matiz
0.0	65.0 (0.58)	35.70 (0.35)	10.92 (0.38)	34.64 (1.78)	17.58 (0.60)
8.3	65.5 (0.82)	34.34 (0.49)	14.18 (0.54)	32.25 (2.52)	23.74 (0.79)
12.5	66.0 (0.82)	34.40 (0.49)	12.89 (0.54)	35.44 (2.52)	19.99 (0.79)
25.0	67.5 (0.82)	33.78 (0.49)	11.83 (0.54)	38.34 (2.52)	17.15 (0.79)
50.0	66.0 (0.82)	34.64 (0.49)	11.80 (0.54)	38.95 (2.52)	16.86 (0.79)
100.0	64.5 (0.82)	35.07 (0.49)	11.47 (0.54)	36.07 (2.52)	17.66 (0.79)

7.4 EFECTO DE DIFERENTES TIEMPOS DE INCUBACION A pH 4.0 Y 4.4

Con el objeto de favorecer la actividad enzimática de la endopoligalacturonasa (pH 4.0) y la exopoligalacturonasa (pH 4.4) en forma simultánea a la determinación de tiempos de incubación se analizaron a estos pHs y se utilizaron concentraciones de 80 y 100 microlitros/l para el tratamiento con Clarex y Macerex respectivamente.

7.4.1 pH 4.0

Los valores de turbidez se muestran en la figura 10; se encontró un mayor % de transmitancia para los tratamientos con complejos enzimáticos incubados 60 y 120 min comparados con el control. A menor tiempo de incubación, el tratamiento con Macerex produce un jugo más turbio, lo mismo sucede con el tratamiento con Clarex. De acuerdo a estos resultados, es más adecuado usar Macerex incubando entre 30 y 45 min.

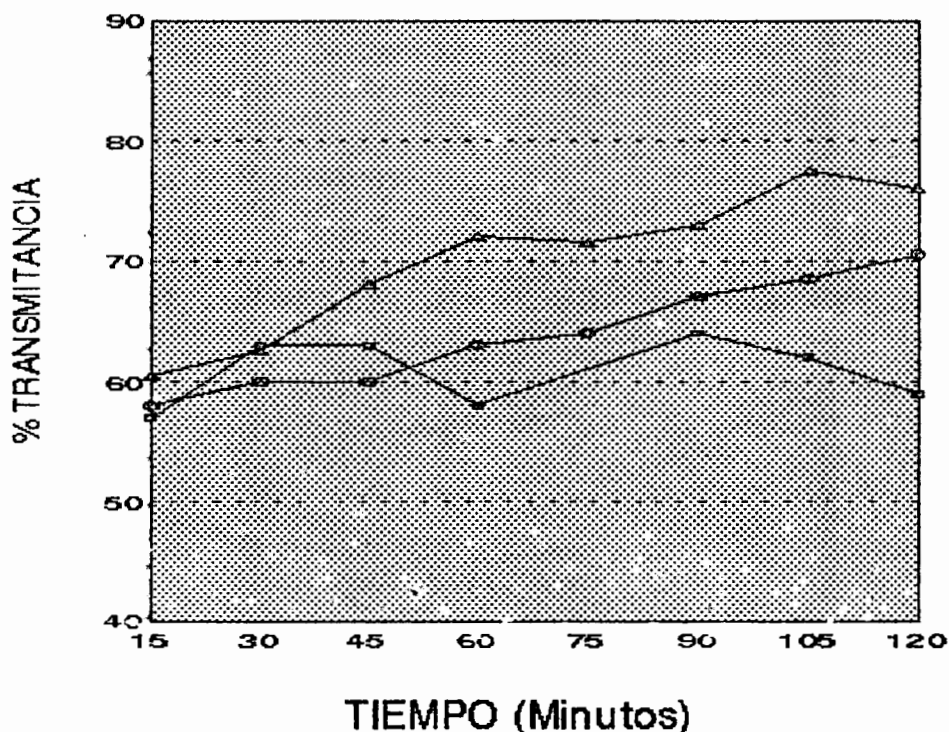


Figura 10. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4).

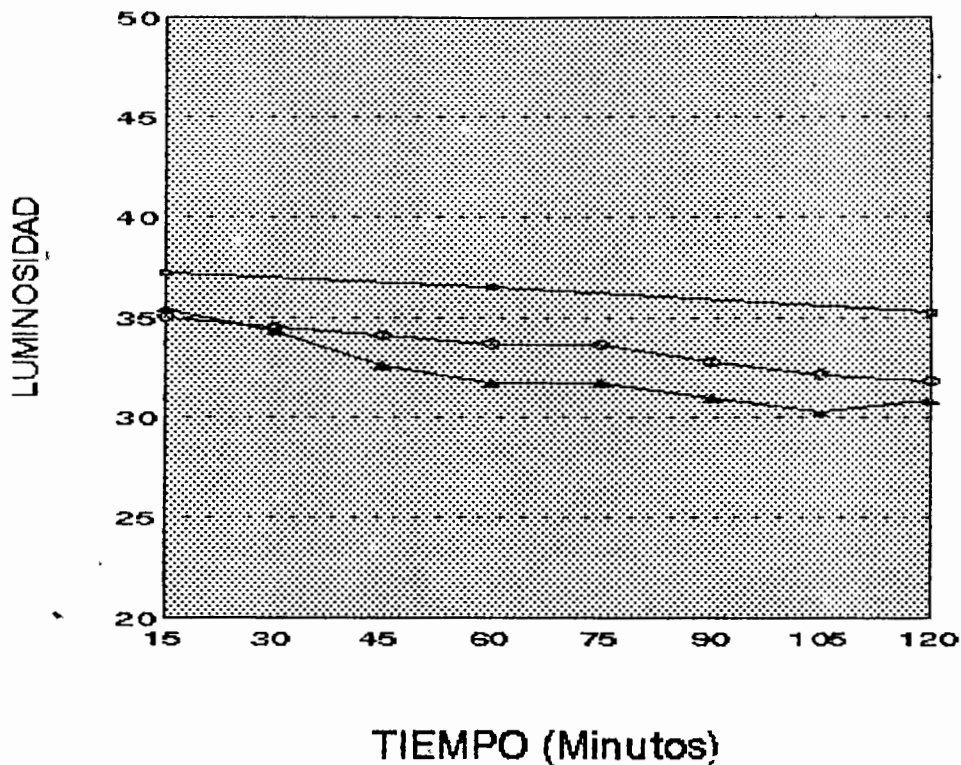


Figura 11. Cambios de luminosidad (L^*) en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4).

Los valores de luminosidad se muestran en la figura 11; el control fue más luminoso que los tratamientos con complejos enzimáticos, el tratamiento con Macerex incubado a 60, 90, 105 y 120min. fue más luminoso que tratamiento con Clarex. En general, en todos los tratamientos disminuye la luminosidad al aumentar el tiempo de incubación. Además se observó que el tratamiento con Macerex está asociado en forma inversa con la turbidez.

Para el valor de a^* se encontró que en todos los tiempos de incubación los tratamientos con complejos enzimáticos mostraron valores mayores al control. Además se observa que los tratamientos con Macerex y Clarex son diferentes a partir de los 45min en adelante; el tratamiento con Macerex produce valores más grandes (figura 12), lo cual indica que mantiene más el valor de a^* que los otros dos tratamientos.

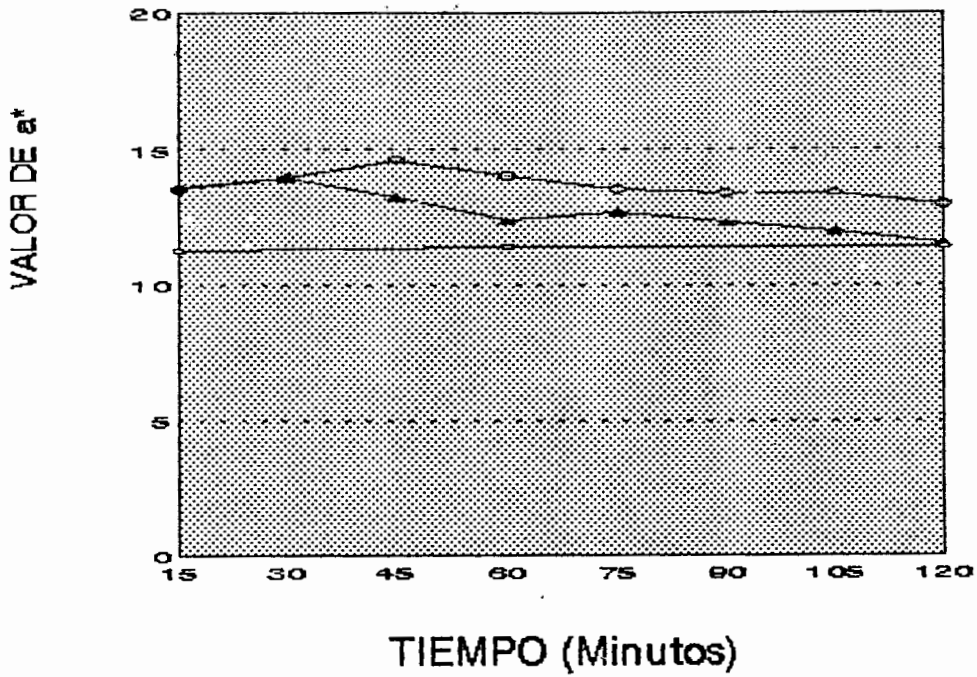


Figura 12. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4).

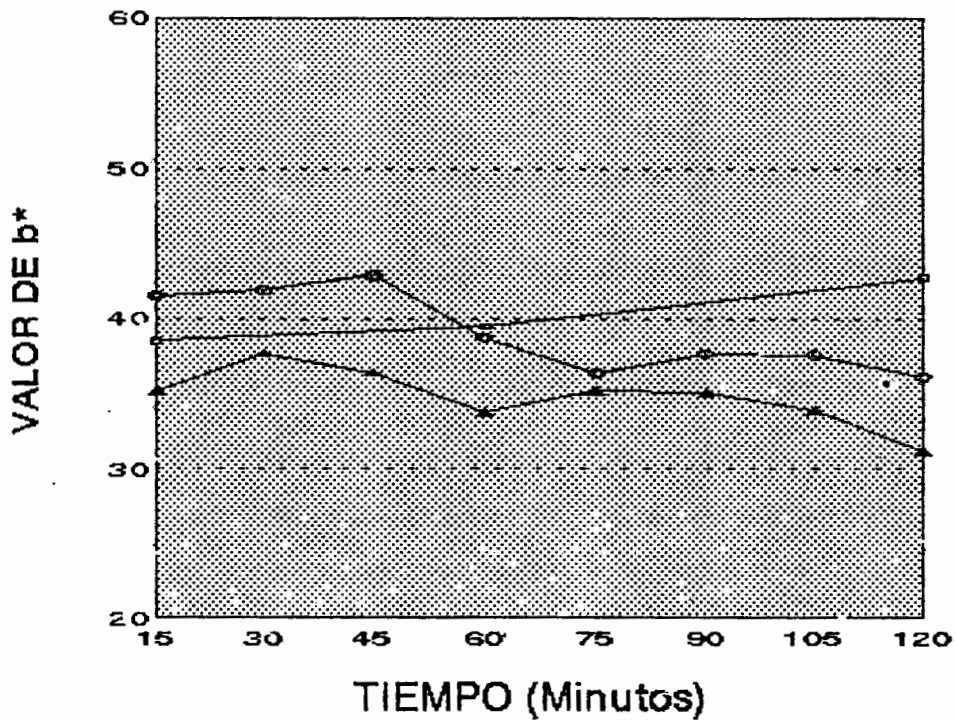


Figura 13. Cambios del valor de b^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4).

Se observó que al incubar el jugo con Clarex 1 ó 2h disminuyó más el valor de b^* con respecto al control, lo mismo sucede para el tratamiento con Macerex a un tiempo de incubación de 2h (figura 13).

En la figura 14 se muestra el efecto del tiempo de incubación contra el matiz. Los tratamientos con complejos enzimáticos dieron un valor mayor que el control en todos los tiempos de incubación. Sin embargo para Clarex los valores de matiz fueron mayores a 15 y 30 min de incubación.

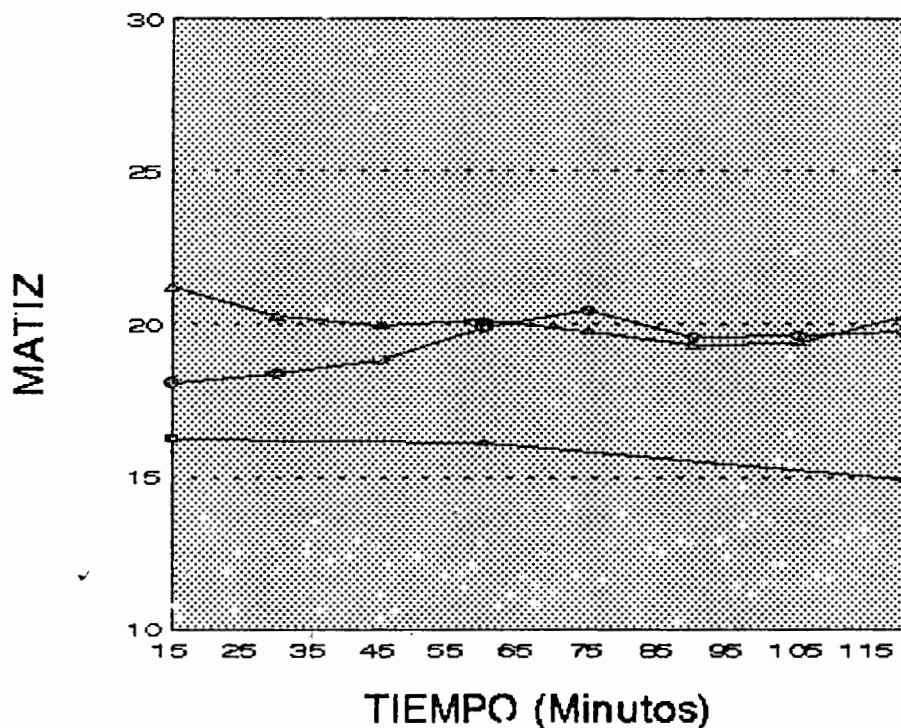


Figura 14. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4).

7.4.2 pH 4.4

La figura 15 muestra la evolución de la turbidez en las muestras de jugo incubadas a un pH 4.4. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos a todos los tiempos de incubación, la única diferencia fué que Clarex era más turbio a los 15 min.

La figura 16 muestra los comportamientos de la luminosidad de los diferentes tratamientos; no se encontraron diferencias entre el control y los tratamientos.

La no significancia de la turbidez y la luminosidad se explica por el hecho de que al cambiar el pH óptimo de los extractos enzimáticos se disminuye su acción y por lo tanto tienden a igualarse al control.

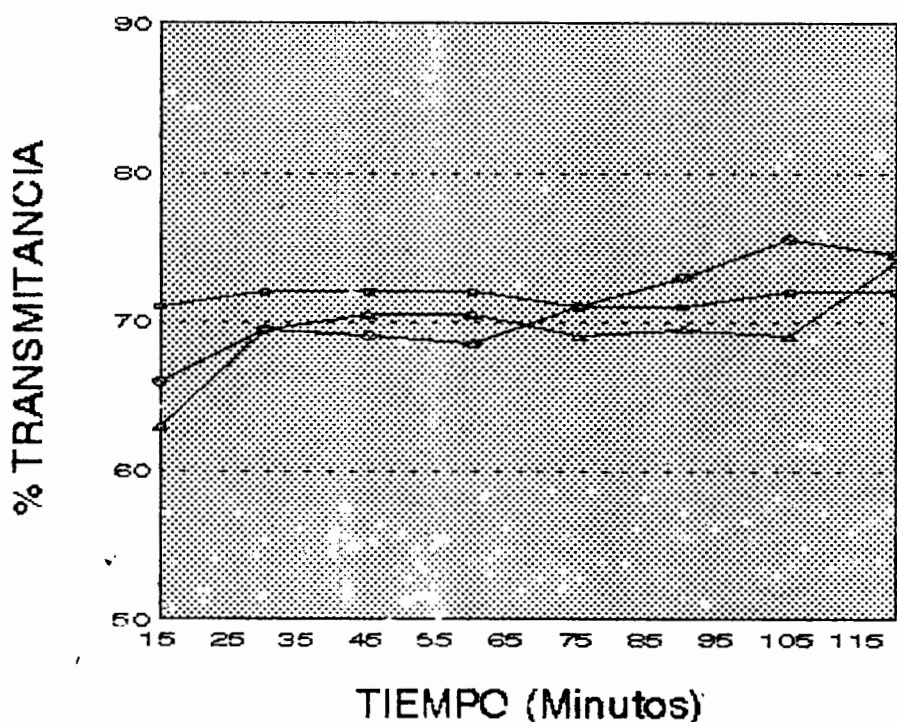


Figura 15. Cambios de la turbidez en % transmitancia en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4).

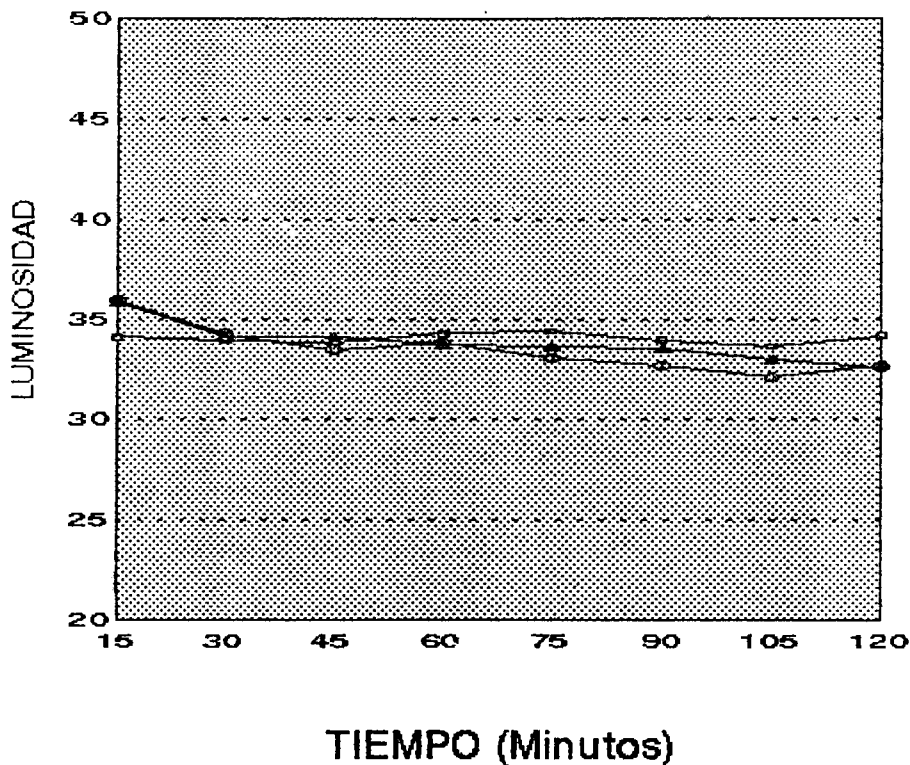


Figura 16. Cambios de luminosidad (L^*) en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4).

En la figura 17 se muestra el cambio del valor de a^* bajo diferentes tiempos de incubación y pH 4.4; se encontraron diferencias entre los tratamientos y el control para todos los tiempos de incubación; los jugos tratados con los extractos enzimáticos dan un valor mayor de a^* sin embargo, entre los 30 y 60 min de incubación para los tratados con Macerex dan valores más altos que Clarex. Es decir, que hay efecto del tiempo de incubación sobre esta respuesta.

El valor de b^* no mostró diferencias entre el tratamiento con Clarex y el control pero el tratamiento con Macerex comparando con el control da valores menores excepto para los tiempos de 45 y 60 min de incubación en los cuales no se encontraron diferencias significativas (figura 18).

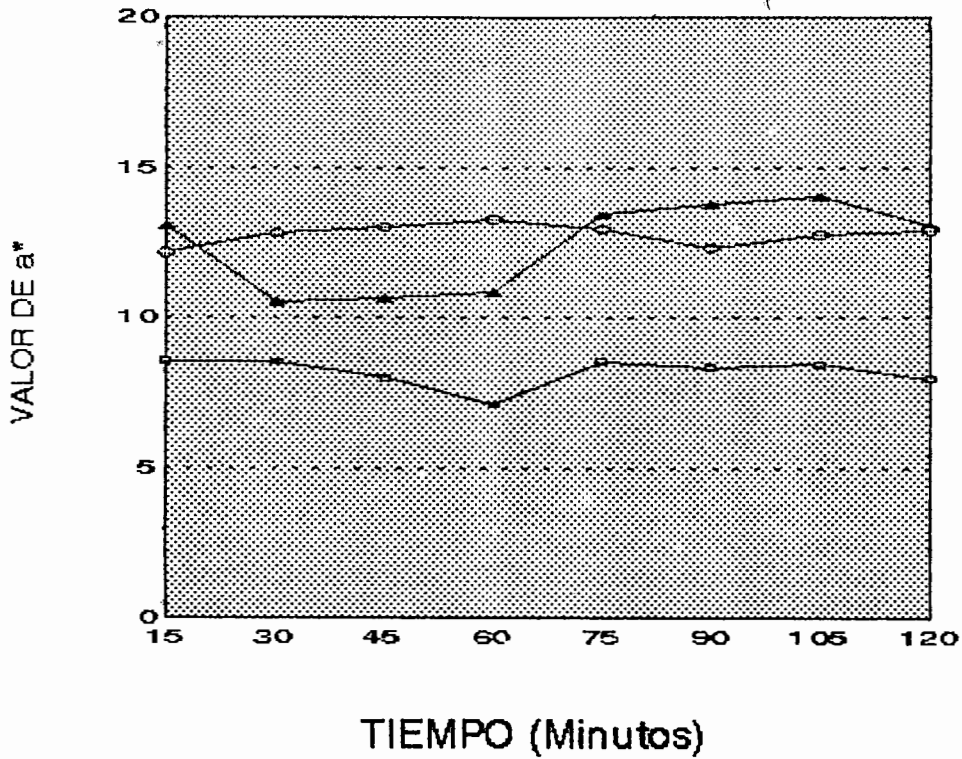


Figura 17. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4).

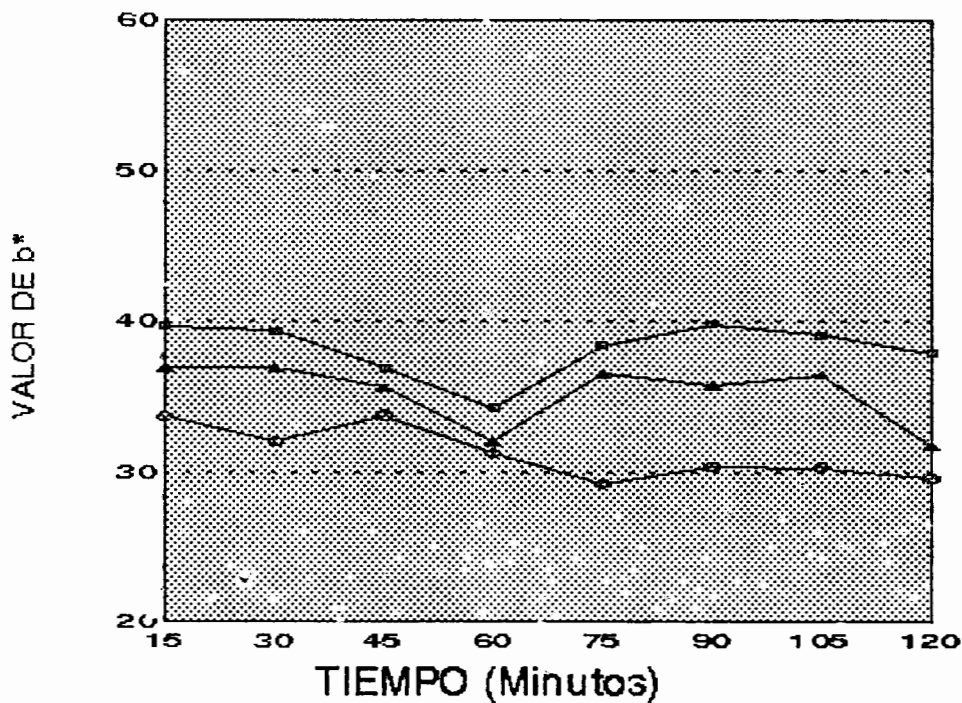


Figura 18. Cambios del valor de b^* en jugo de zanahoria durante el tiempo de incubación (pH 4.4).

Los valores de arco tangente de a^*/b^* o matiz para los jugos tratados con extractos enzimáticos dieron valores más altos que el control (figura 19); sin embargo, entre 30 y 105min Macerex mostró valores mayores que Clarex.

Al hacer comparaciones globales entre los dos pHs estudiados se puede anotar que:

La turbidez en Macerex y el control es mayor a pH 4.0 en tanto que a 4.4 Clarex dió una mayor turbidez entre los 15 y 45min de incubación, entre los tiempos de 60 a 120 min de incubación no se encontraron diferencias.

La luminosidad del jugo de zanahoria después de incubar entre 45 y 60 min con Clarex a pH 4.0 es mayor, no así para el tratamiento con Macerex.

En cuanto a la luminosidad se encontró que el control dió valores mayores a pH 4.0 que a pH 4.4 en los tiempos de incubación entre 15 y 60min. Clarex es mas luminoso entre 45 y 120min a pH 4.0 , sin embargo para Macerex no se encontró diferencia entre los dos pHs.

Para el jugo de zanahoria con Clarex incubado de 15 a 60 min a un pH de 4.0 y de 90 a 120 min a pH 4.4 se obtuvieron valores mayores de a^* con respecto al control. Para el tratamiento con Macerex se obtuvieron valores mayores de a^* incubando a 15, 45 y 90 min.

En todos los tiempos de incubación se encontraron diferencias en Macerex dando valores mayores de b^* a pH 4.0 en comparación con el control el pH 4.4 pero para Clarex y el control no se encontraron diferencias significativas.

Los valores de matiz fueron más altos, para el tratamiento con Macerex pH 4.4 en todos los tiempos de incubación, y para el tratamiento con Clarex a pH 4.0 incubando 15 y 30 min y a pH 4.4 incubando 90 y 120 min.

El aumento o disminución del matiz concuerda más con el color observado visualmente comparando contra el valor de a^* y de b^* .

7.5 ENSAYO A NIVEL LABORATORIO

En base a los resultados anteriores se realizó otro ensayo a nivel laboratorio, donde el tiempo de incubación fue de 30 min, con las mismas concentraciones y pHs que en el caso anterior; las mediciones se hicieron cada 2 días aproximadamente durante 14 días. Dado el comportamiento de los tratamientos se analizó estadísticamente los datos de los días 11 y 14. Los resultados fueron los siguientes:

Para la turbidez se observó que el tratamiento con Clarex a pH 4.0 da un jugo más turbio que el control en el día 11 y 14; también a pH 4.0 el tratamiento con Macerex produce mayor turbidez que el control en el día 14. Sin embargo a pH 4.4 no hubo diferencia entre los tratamientos con complejos enzimáticos y el control. Se observó que a pH 4.0 los jugos son más turbios que a pH 4.4 (figuras 20 y 21).

En los datos de luminosidad se observó que el tratamiento con Clarex fue más luminoso que el tratamiento con Macerex y el control en el día 14.

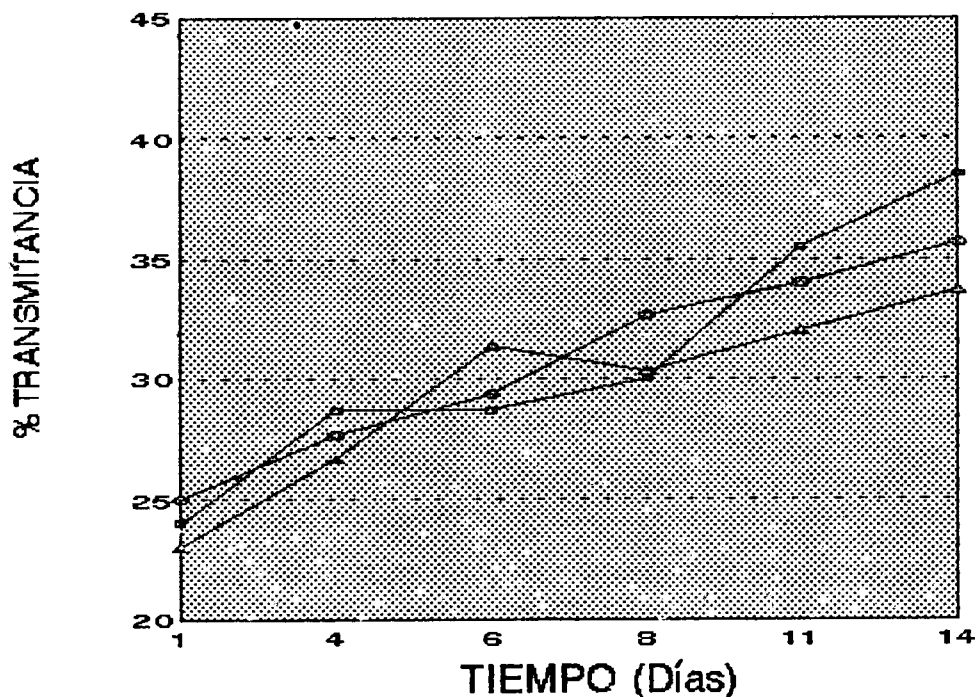


Figura 20. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4).

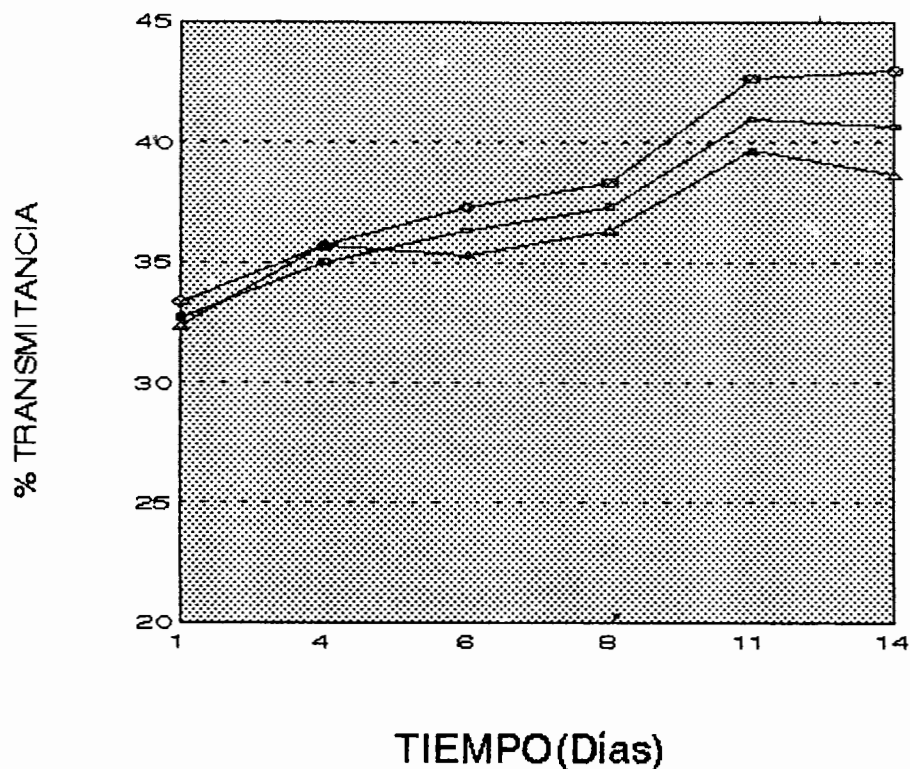


Figura 21. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4).

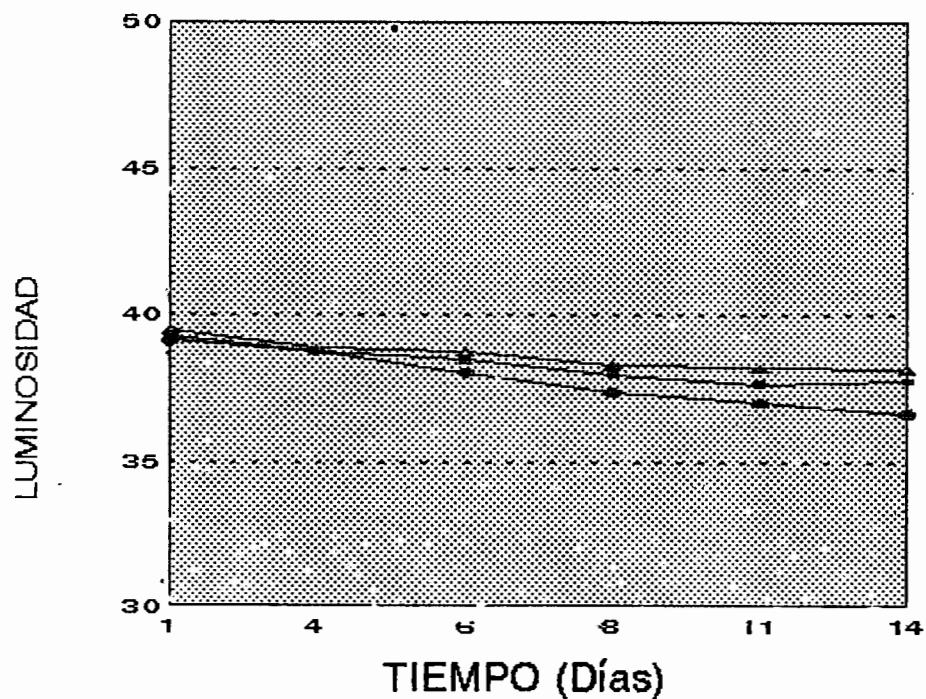


Figura 22. Cambios de luminosidad (L*) en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH4).

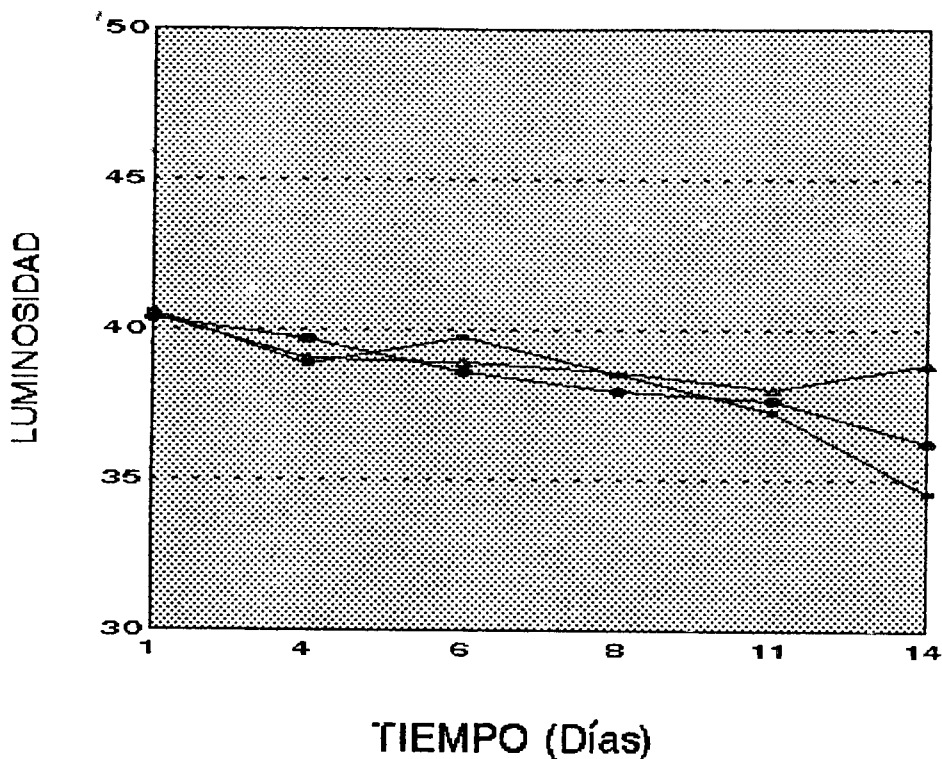


Figura 23. Cambios de luminosidad (L^*) en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4).

El comportamiento de los valores de a^* se muestran en la figura 24, los jugos tratados con Clarex y Macerex conservan mejor el color rojo que el control, a pH 4; en la figura 25 Macerex a pH 4.4 mantiene mejor éste valor. En forma global puede notarse que éste parámetro se conserva mejor a tiempos mayores de almacenamiento con respecto de las muestras no tratadas.

A pH 4.4 (figura 27) los valores de b^* son mayores para los tratamientos en el día 11, pero en el día 14 sólo el tratamiento con Clarex fué mayor que el control. A pH 4.0 (fig.26) no se encontraron diferencias estadísticas.

Los valores de arco tangente de a^*/b^* o matiz muestran que a pH 4 el jugo tratado con Clarex obtuvo un valor mayor que el control (figura 28); sin embargo a pH 4.4 no se presentaron diferencias (figura 29).

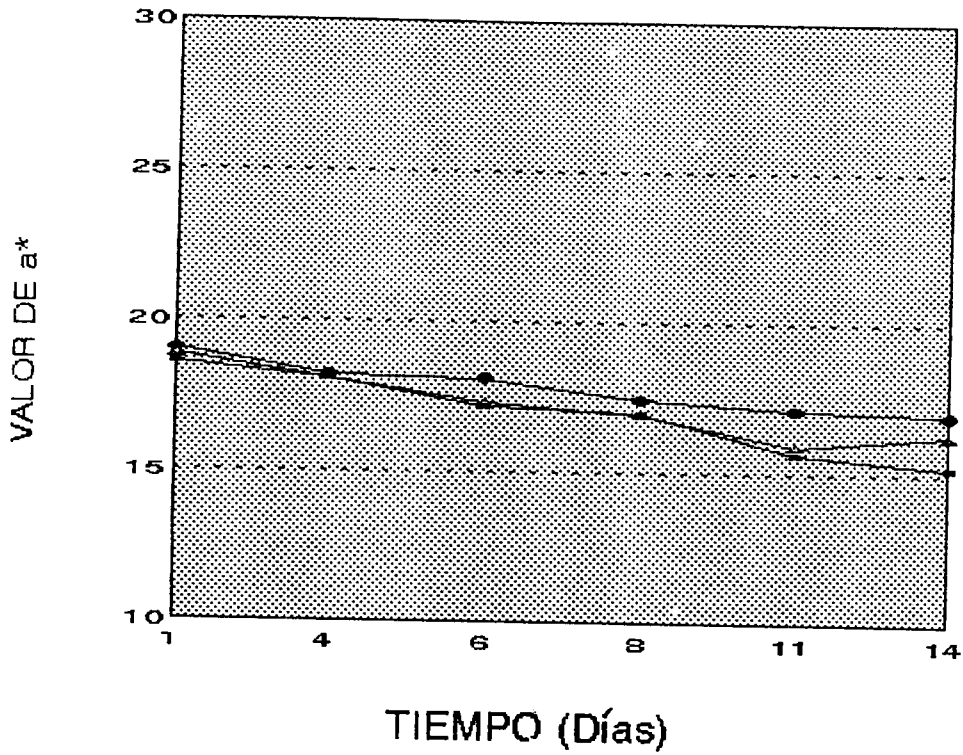


Figura 24. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4).

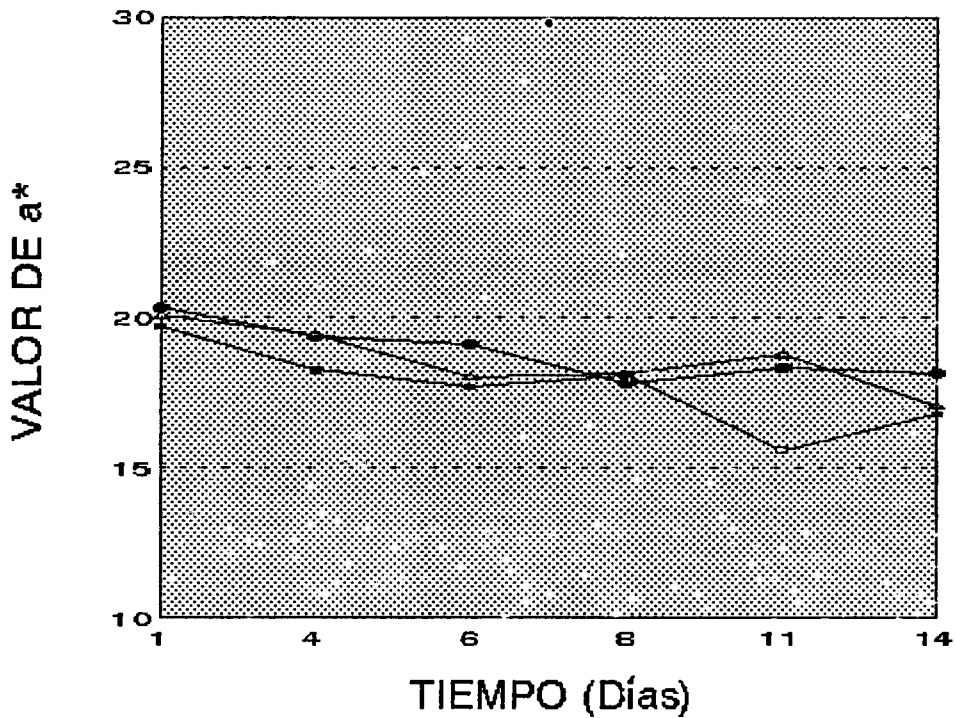


Figura 25. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4).

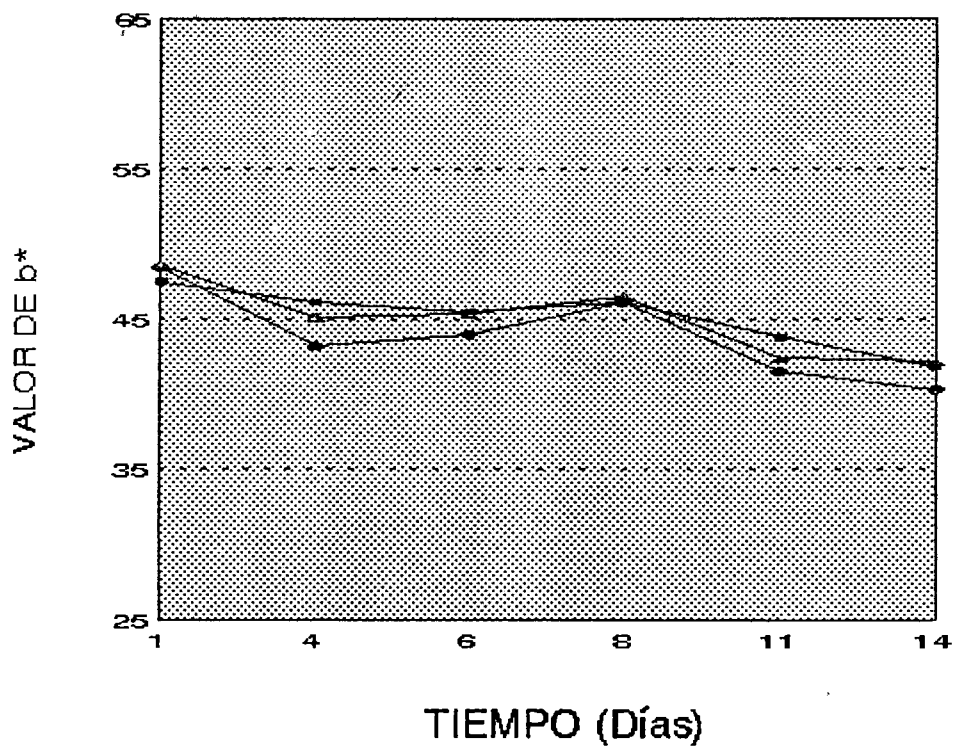


Figura 26. Cambios del valor de b* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4).

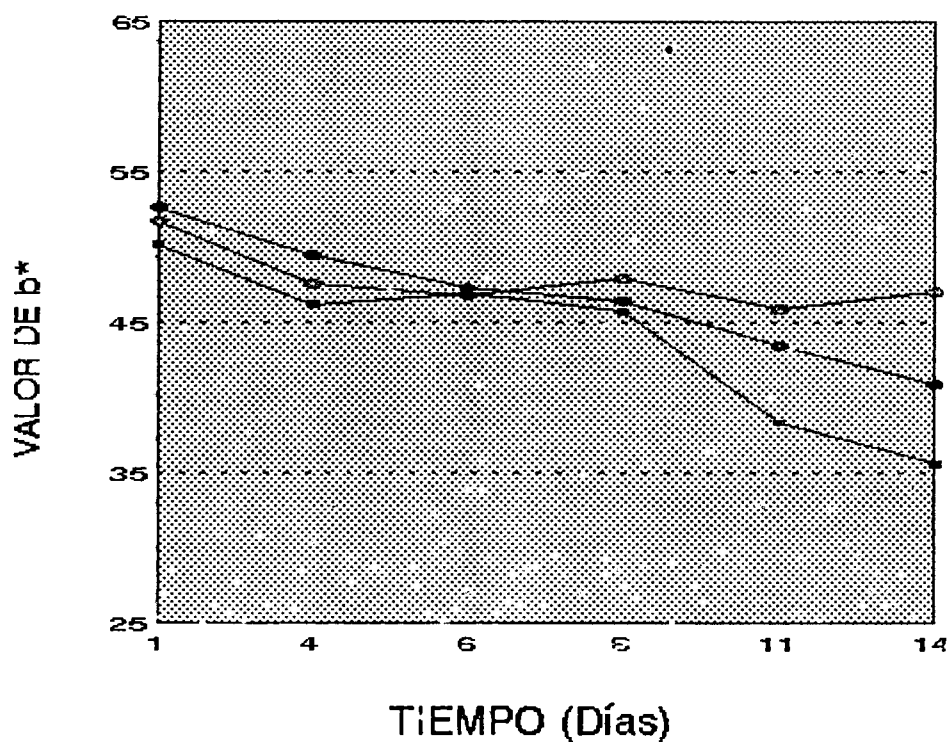


Figura 27. Cambios del valor de b* en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4).

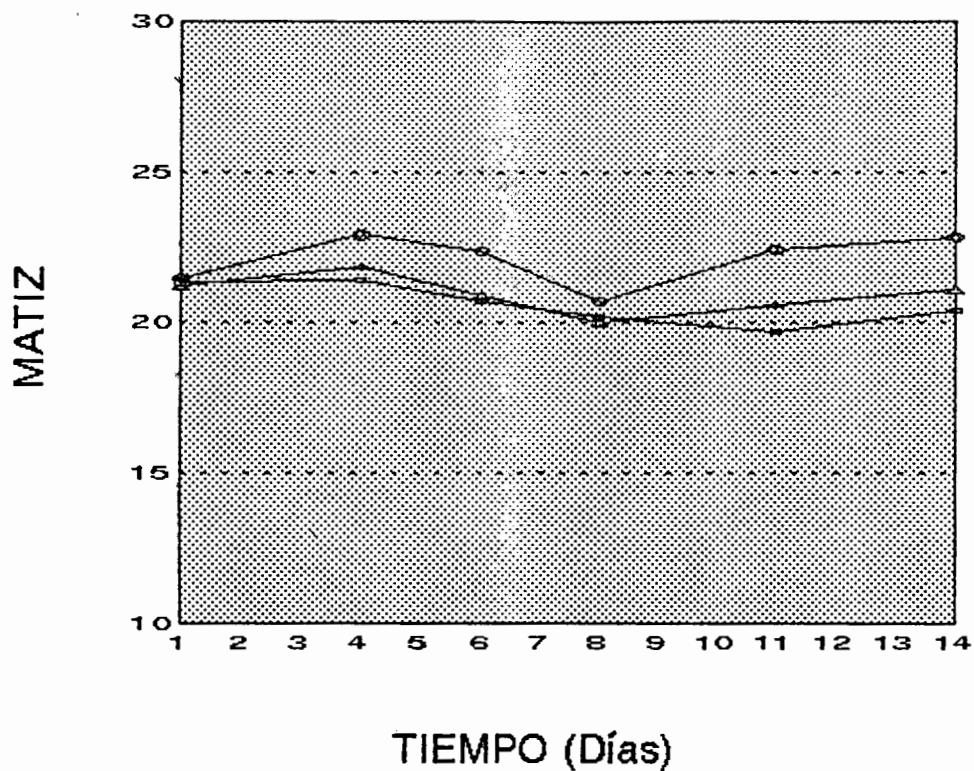


Figura 28. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4).

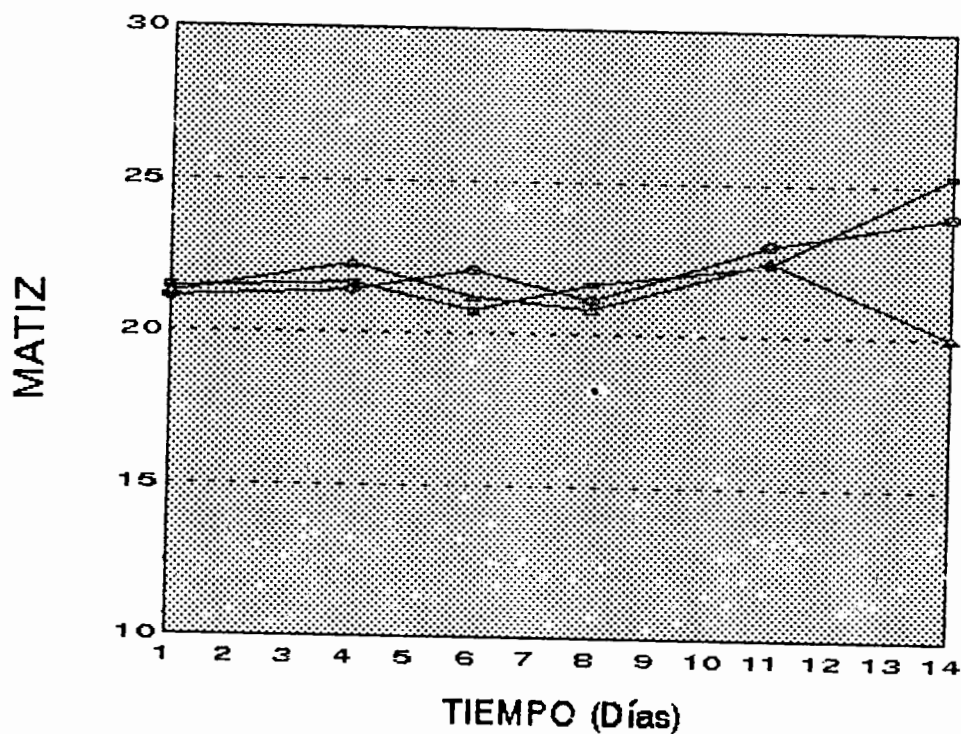


Figura 29. Cambios de matiz del jugo de zanahoria durante el almacenamiento (pH 4.4).

7.6 SEGUNDO ENSAYO A NIVEL PLANTA PILOTO

Con las condiciones establecidas en el laboratorio se hizo un último ensayo a nivel planta piloto. Las concentraciones que se utilizaron fueron 80 y 100 microlitros de extracto enzimático/ litro de jugo para el tratamiento con Clarex y Macerex respectivamente; a pH 4.0 y 4.4, y con tiempo de incubación de 30min. Se analizaron estadísticamente los días 12 y 14 de almacenamiento. Los resultados fueron los siguientes:

Las tablas 6 y 7 concentran los valores de turbidez y color para los tratamientos a pHs de 4.0 y 4.4 respectivamente, durante el almacenamiento a 37°C.

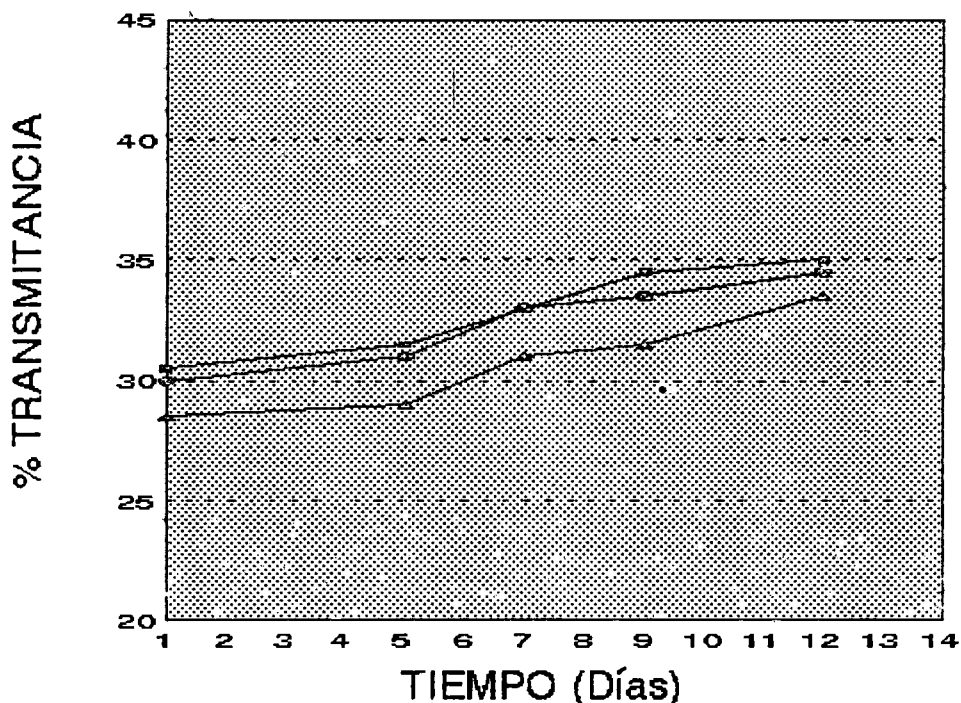


Figura 30. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria a pH 4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto).

El control y los tratamientos con Clarex y Macerex a pH 4 no mostraron diferencias durante el almacenamiento. A pH 4.4 el control fue más turbio en todos los días de almacenamiento analizados con respecto a los tratamientos enzimáticos (figura 31)

Analizando globalmente los datos de turbidez para los tratamientos a pH 4.0 y pH 4.4 se observó que éste parámetro tiene una menor amplitud de variación a pH 4.0 que a pH 4.4 (figuras 30 y 31).

Hasta el día 12 no se encontraron diferencias de luminosidad entre los tratamientos enzimáticos y el control en los 2 pHs (figuras 32 y 33).

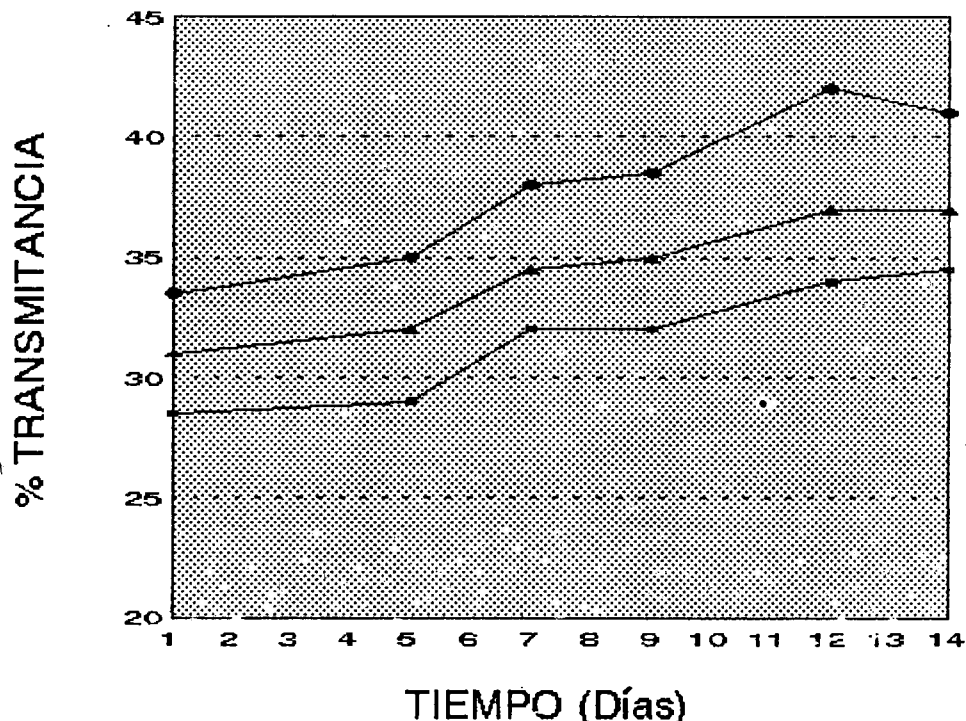


Figura 31. Cambios de la turbidez en % de transmitancia en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2° ensayo a nivel planta piloto).

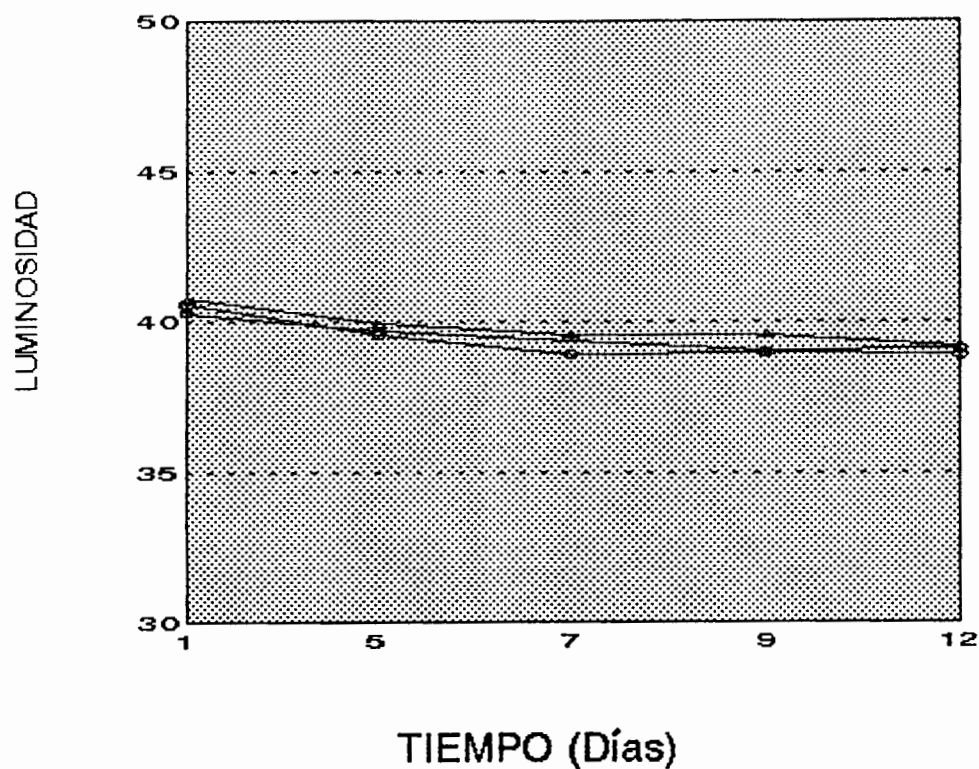


Figura 32. Cambios de la luminosidad (L^*) en jugo de zanahoria a pH 4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto).

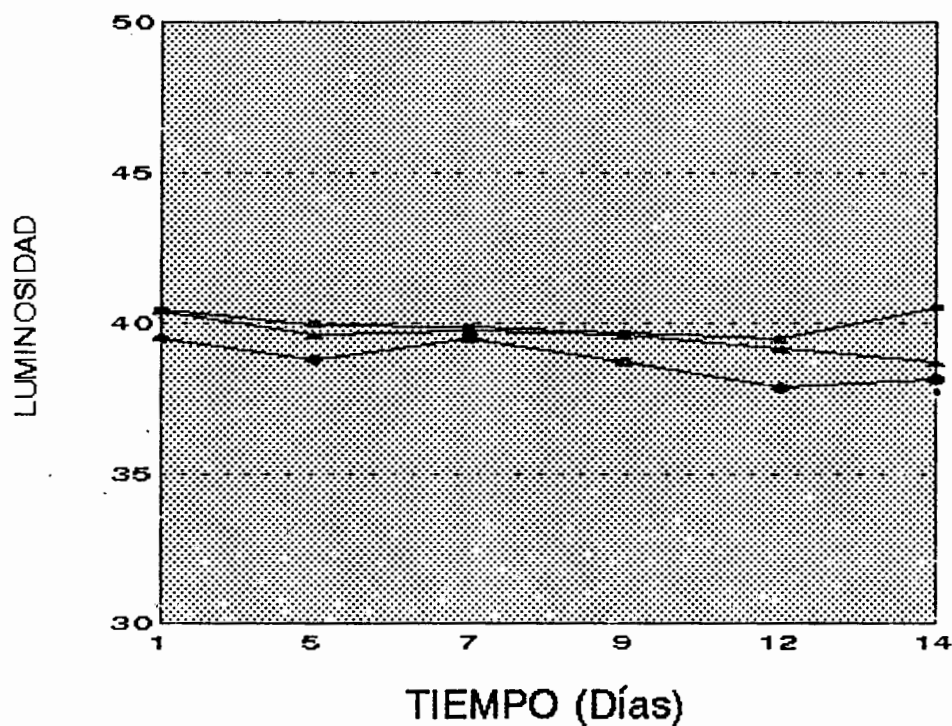


Figura 33. Cambios de luminosidad (L^*) en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2º ensayo a nivel planta piloto).

Los valores obtenidos para a^* mostraron que a pH 4 (figura 34) no se encontraron diferencias significativas; pero a pH 4.4 (figura 35) en el día 12 hubo diferencia entre el control y los jugos tratados enzimáticamente; en las mismas condiciones pero el día 14 se observó diferencia entre el control y tratamiento con Clarex; en todos los casos el control conservó mejor el color rojo. No obstante se puede anotar que las diferencias fueron mínimas.

Para los datos del valor de b^* y de matiz no se encontró diferencia significativa por efecto del pH, en los días analizados (figuras 36,37,38 y 39).

A nivel planta piloto no se obtuvo mejorías con respecto al control; al manejar cantidades mayores se tiene un menor control de las variables.

Un punto crítico en la elaboración fue el tiempo utilizado para la extracción, así como el tiempo de exposición al calor del jugo; el cual fue prolongado, durante éste tiempo se dan reacciones de degradación de los carotenos y aumenta la isomerización trans-cis, en los dos casos hubo un cambio de color de rojo-anaranjado a amarillo, lo cual disminuye la calidad. (Gross, J. 1991).

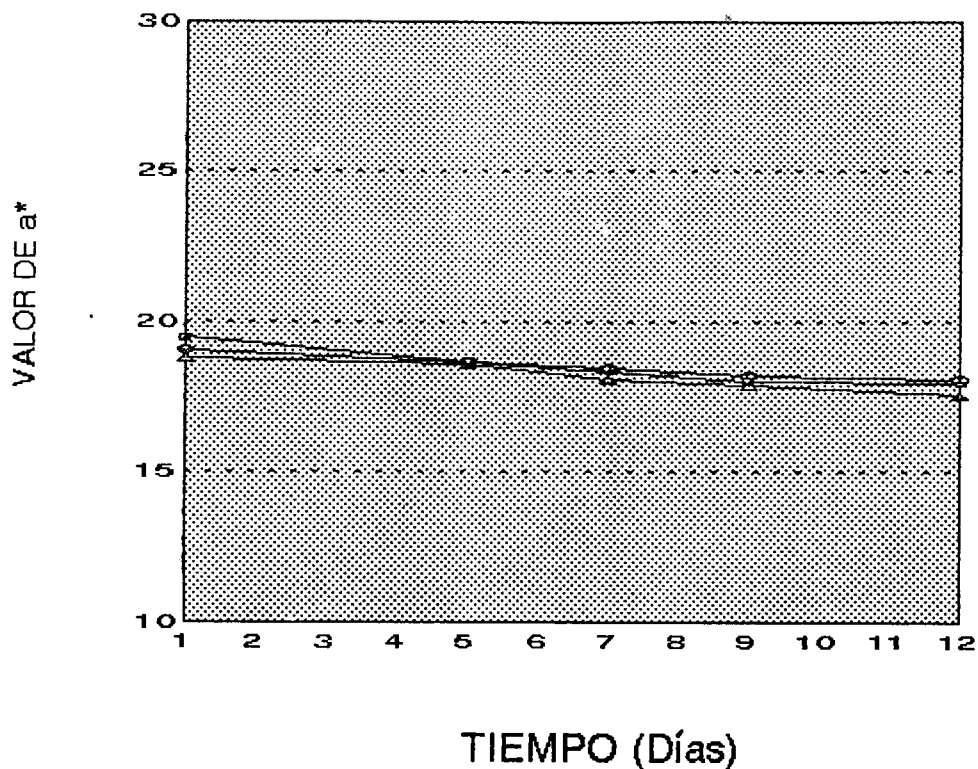


Figura 34. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria a pH 4 durante el almacenamiento (2° ensayo a nivel planta piloto).

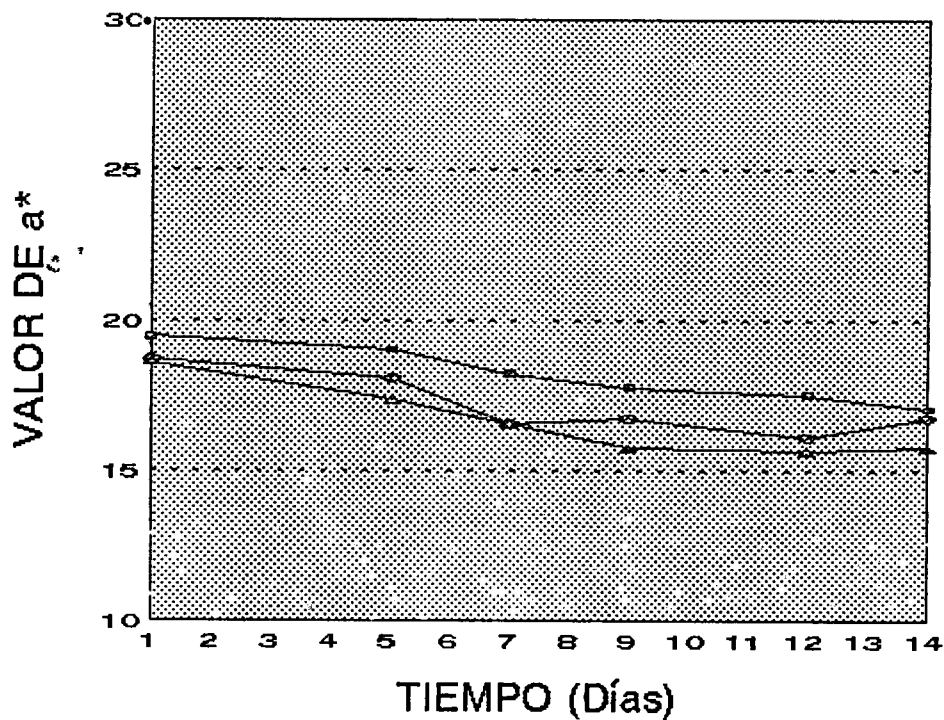


Figura 35. Cambios del valor de a^* en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2° ensayo a nivel planta piloto).

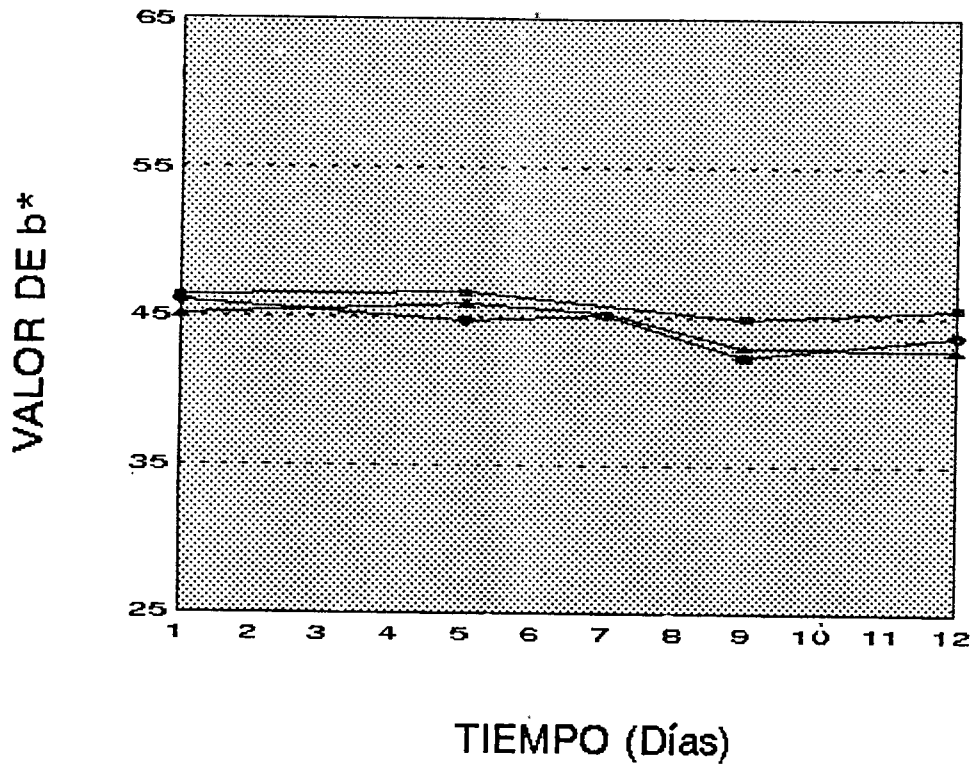


Figura 36. Cambios del valor de b^* en jugo de zanahoria a pH 4 durante el almacenamiento (2° ensayo a nivel planta piloto).

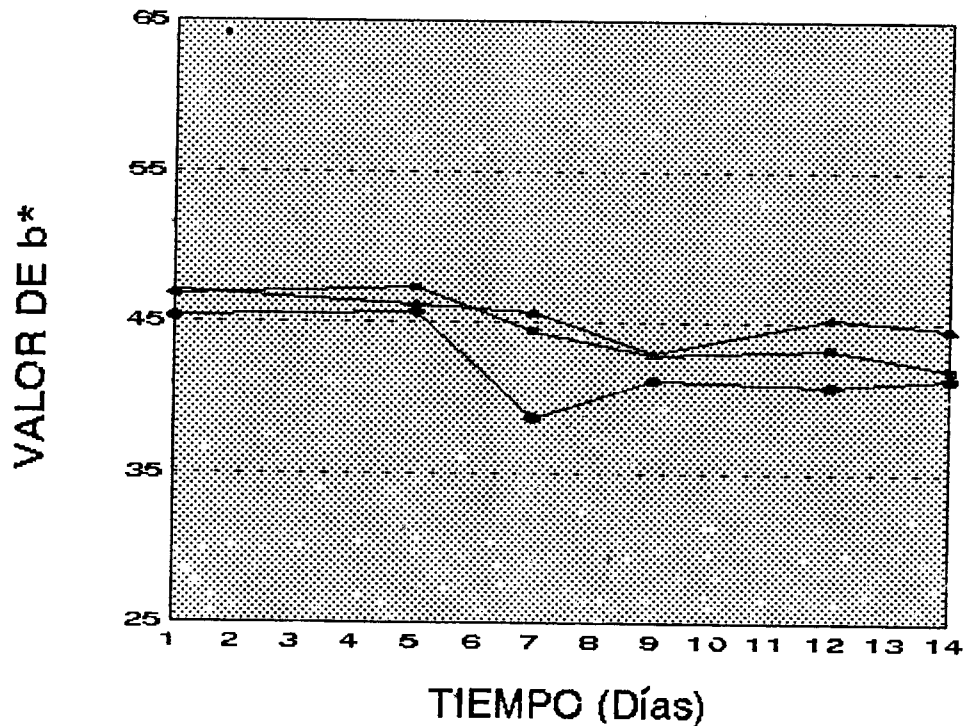


Figura 37. Cambios del valor de b^* en jugo de zanahoria a pH 4.4 durante el almacenamiento (2° ensayo a nivel planta piloto).

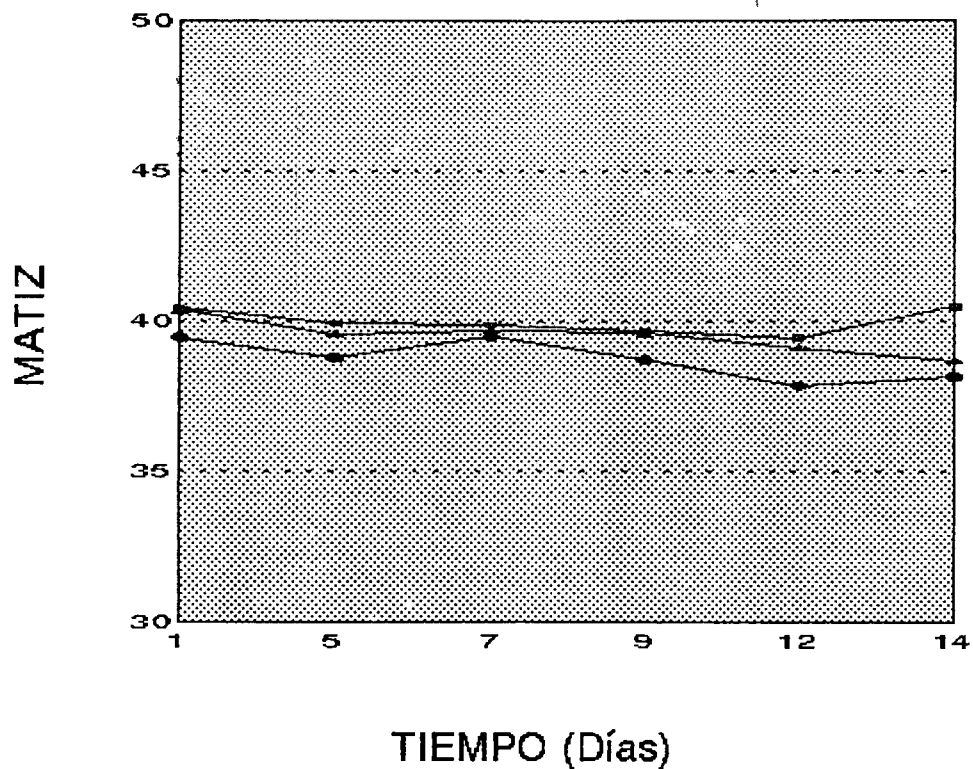


Figura 38. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el almacenamiento a pH 4 (2° ensayo a nivel planta piloto).

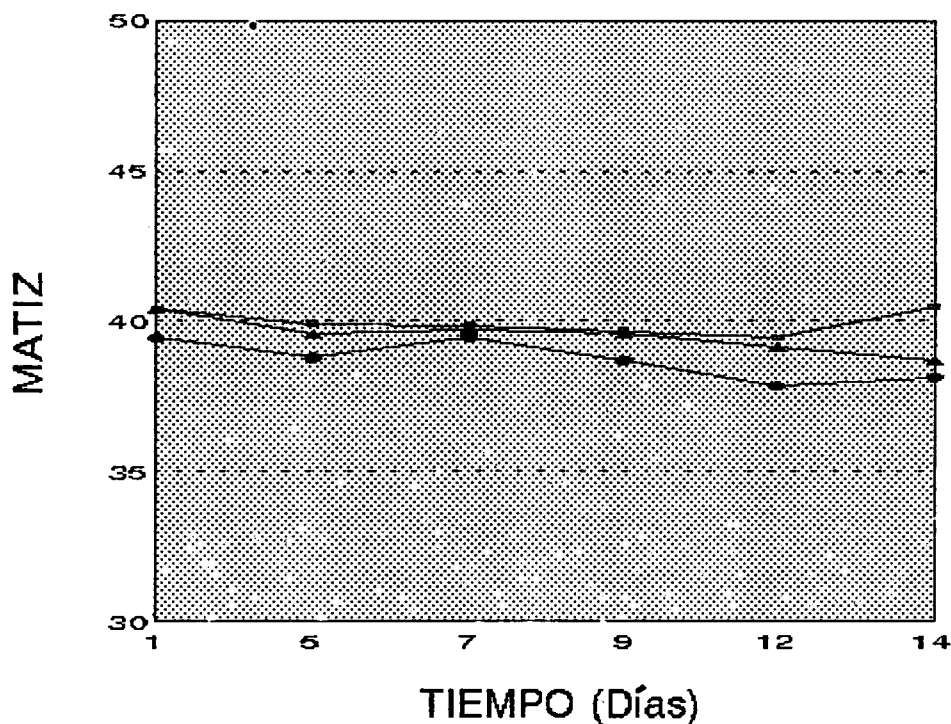


Figura 39. Cambios del matiz en jugo de zanahoria durante el almacenamiento a pH 4 (2° ensayo a nivel planta piloto).

Tabla 6. Valores de % transmitancia (%T), Luminosidad (L*), matiz y el valor de a* y b* del jugo de zanahoria a pH 4.0 (2º ensayo a nivel planta piloto). (el valor () es la desviación estándar).

DIA 12	Control	Clarex	Macerex
% T	35.00 (0.95)	33.50 (0.95)	34.50 (0.95)
L*	39.07 (0.57)	39.18 (0.57)	38.87 (0.57)
a*	17.94 (0.44)	17.52 (0.44)	18.07 (0.44)
b*	45.52 (1.93)	42.70 (1.93)	43.69 (1.93)
Matiz	21.50 (1.10)	22.31 (1.10)	22.47 (1.10)

Tabla 7. Valores de % transmitancia (%T), Luminosidad (L*), matiz y el valor de a* y b* del jugo de zanahoria a pH 4.4 (2º ensayo a nivel planta piloto).

DIA 12

	Control	Clarex	Macerex
% T	34.00 (0.95)	37.00 (0.95)	42.00 (0.95)
L*	39.44 (0.57)	39.12 (0.57)	37.83 (0.57)
a*	17.55 (0.44)	15.64 (0.44)	16.13 (0.44)
b*	43.22 (1.93)	45.25 (1.93)	40.70 (1.93)
Matiz	22.11 (1.10)	19.06 (1.10)	21.63 (1.10)

DIA 14

	Control	Clarex	Macerex
% T	34.50 (0.95)	37.00 (0.95)	41.00 (0.95)
L*	40.49 (0.57)	38.67 (0.57)	38.12 (0.57)
a*	17.05 (0.44)	15.76 (0.44)	16.77 (0.44)
b*	41.83 (1.93)	44.59 (1.93)	41.21 (1.93)
Matiz	22.22 (1.10)	19.49 (1.10)	22.14 (1.10)

En todos los experimentos se observó que el jugo de zanahoria precipitó, éste precipitado se puede dividir en tres: el primero en aparecer (probablemente los pectatos insolubles), el cual era un polvo blanco; posteriormente un precipitado anaranjado claro que parecían partículas de tejido en suspensión y por último un precipitado anaranjado fuerte probablemente parte de los carotenos presentes en el jugo.

8. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados anteriores se llegó a las siguientes conclusiones:

Las condiciones óptimas de los complejos comerciales fueron: para Clarex (poligalacturonasas) 50°C y pH 4, para Macerex (poligalacturonasas, celulasas y hemicelulasas) 45°C y pH 4.

El jugo de zanahoria adicionado de 6.7, 10.0, 20.0, 40.0 y 80.0 microlitros/l de Clarex y 8.3, 12.5, 25.0, 50.0 y 100.0 microlitros/l de Macerex mantuvo más el valor de a^* que el control para Clarex 6.7 microlitros/l y para Macerex 8.3 y 12.5 microlitros/l.

El jugo de zanahoria adicionado con Clarex y con Macerex se incubaron 15, 30, 45, 60, 90, 105 y 120min a pH 4.0 y 4.4, en ambos casos se observó que se mantuvo más el valor de a^* a 15, 30 y 45 min para Macerex y 15min para Clarex.

Para evaluar la estabilidad del jugo de zanahoria se midió el % transmitancia, luminosidad, valor de a^* , valor de b^* y el matiz. De todos ellos el matiz es el que mejor evalúa los cambios en la estabilidad del jugo.

En los tres tratamientos del jugo de zanahoria: a) con Clarex, b) con Macerex y c) sin enzima o control se encontró que tuvieron mayor estabilidad a pH 4.0 comparando con los mismos tratamientos a pH 4.4.

El jugo de zanahoria incubado Macerex durante 30min, tanto a pH 4.0 como a pH 4.4 mantiene más el valor de a^* que el jugo que no contiene complejos enzimáticos. Se observó que los cambios en el valor de a^* afectan el color del jugo, al disminuir el valor de a^* el jugo se veía amarillo con apariencia de jugo de naranja.

De acuerdo a lo anterior se obtiene un jugo más estable si se le adiciona Macerex (100 microlitros/l de jugo) incubado 30 min a pH 4.4. Este tratamiento mejora la calidad del jugo, es semejante el jugo de zanahoria crudo, es decir, el líquido tiene un color anaranjado con partículas en suspensión, sin embargo presentó un sedimento mayor al de los jugos y néctares comerciales de frutas.

La calidad del jugo puede mejorarse usando una combinación de enzimas que ayuden a degradar el tejido a partículas de menor tamaño que se mantengan más tiempo suspendidas. Puede utilizarse pectin lyasas o una combinación de pectin lyasas y poligalacturonasas para degradar el tejido a compuestos de menor tamaño más solubles.

9. BIBLIOGRAFIA

ANASTASAKIS, M. LINDAMOND, J.B. CHISM, G.W: and Hasen, P.M.T.(1987). Enzymatic hydrolysis of carrot for extraction of cloud stable juice. Food Hydrocolloids. 1(3) 247-261.

ARTHEY, D. et al. (1991). Procesado de hortalizas. Acribia. Espana. 41, 42pp.

BAKER, R.A. and BRUEMMER, J.H. (1972). Pectinase stabilization of orange juice cloud. J. Agr. Food Chem. 20:1169.

BATES, R.P. and Koburger, J.A. (1974). High temperature short time processing of carrot juice. Proceedings of the Flo. State Hort. Soc. 87:245-249.

BERGERET, G. (1970). Conservas vegetales: frutas y hortalizas. 2ed. 290, 291 y 354.

BOCK, W.; DONGOWSKI, G. et. al. (1979). Enzymic process for production of carrot juice or hydrolysate. German Democratic Republic Patent. PN Patent Number 137783.

BRADDOCK, R.J. and KESTERSON, J.W. (1979). Use of enzymes in citrus processing. Food Technology. November. 78-82.

CASTALDO, D. et al. (1991). Orange juices and concentrates stabilization by a proteic inhibitor of pectin methylesterasa. Journal Food Science. 56:1632-1634.

CRANDALL, P.G.; MATTHEWS, R.F. and BAKER, R.A. (1983). Citrus beverage clouding agents -review and status. Food Technology. December. 106-109.

DESROSIER, N.W. (1984). Elementos de tecnología de alimentos. Continental. México. 226, 261 y 262pp.

DONGOWSKI, G.; BOCK, W. (1984). Destruction of pectin substances by polygalacturonase during production of carrot juice. Lebensmittel-industrie. 31(4) 161-165.

GRAMPP, E. (1969). Uses of enzymes in the food industry. Deutsche- Lebensmittel-Rundschau. 65(11) 343-347.

Gran Enciclopedia Agropecuaria Aedos. (1973) Frutos de la Tierra. Aedos. Barcelona. 104pp.

GROSS, K.C. (1982). A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanocetamida. Hortscience. 17(6). 933-934.

GROSS, J. (1991). Pigments in vegetables chlorophylls and carotenoids. AVI. USA. 164-179.

GUNES, B. AND BAYINDIRLI, A. (1993). Peroxidase and lipoxigenase inactivation during blanching of green beans, green peas and carrots. Food Science and Technology/ LWT.

HEINEN, E.A. Y TWIST, P. van (1975). Using natural enzymes in the manufacture of carrot and betroot juice. South African Food Review. 2 (1).pp. 43-47.

KADER, A.A. (1992). Postharvest technology of agricultural crops. 2 ed. Division of agriculture and natural resources University of California. U.S.A.

KIM,W.S. (1983). Effect of blanching condition, acid and alkali treatments on the qualities of carrot juices.

Research Reports of Agricultural Science and Technology.
10(1) 135-145.

KLAVONS,J.A. AND BENNETT,R.D. (1985). The nature of protein constituent of commercial lemon juice cloud.
J.Agric. Food Chem. 33: 708-712.

LEE,C.Y. BOURNE,M,C. and BUREN, J.P. (1979) Effect of blanching treatments on the firmness of carrots. Journal Food Science. 44:615.

LEO, P de; TRAVERSI,D. and MICELI,A. (1991). Synergic effects of cellulase, pectinase and hemicellulase on cell wall hydrolysis. Food Hydrocolloids. 5 (1/2) 223-224.

LUH,B. and WOODROOF,J. (1975). Commercial vegetable processing. AVI. USA. 308-312pp.

LUH,B. et al. (1988). Commercial vegetable processing 2ed. AVI. USA: 287

MASSIOT,P.; GUILLER, I.; BARON,A. AND DRILLEAU,J.F. (1992). Cell wall polysaccharides modifications during heat treatment and enzymatic degradation of carrot tissues. Lebensmittel-wissenschaft und Technologie. 25 (6) 559-563.

MUNSCH,M.H. and SIMARD,R.E. (1983). Relations in colour and carotene content of carrot juices. Can.Inst. Food Sci.Technol.J. 16:173-178.

MUNSCH, M.H. and SIMARD, R.E. (1986). Blanching, griding and enzymic maceration during production of carrot juice. I. Effects on yield and some physico-chemical characteristics. *Lebensmittel-wissenschaft und Technologie*. 19(3) 229-239.

PEDERSON, C.S. (1971). Fruit and Vegetable juice. Tressler D.K. and Joslyn M.A. (Eds). AVI. USA. 461-481.

REED, G. (1975). In food processing. Food science and technology. 2ed, Academic Press. USA. 97-117 y 398-438pp.

SCHMITT, R. (1988). Optymized enzyme system for production of carrot and other vegetables juices. *Fluessiges Obst*. 55 (6). pp. 309,310,321-323.

Secretaría de Agricultura y Recursos Hidraulicos.

SIMS, C. et al. (1993). Optimization of carrot juice color and cloud stability. *Journal of food science*. 48: 1129 - 1131.

SINCLAIR, W.B. (1961). The orange its Biochemistry and Physiology. University of California. USA. 392-426pp.

STEPHENS, T. et al. (1971). Stabilization of carrot juice by dilute acid treatment. 36:36-38.

STEPHENS, T.; SALDANA, G.; BROW H.E. U.S. Patent 3 787 689; January 22, 1974.

STHEPENS, T. et al. (1976). Neutralized juice of acid treated carrots. *Journal of food science*. 41:1245-1246.

STRUEBI, P.; ESCHER, F.E. and NEUKOM. (1978). Use of macerating pectic enzyme in apple nectar processing. *Journal of Food Science*. 43:260-263.

TRAVERSI, D.; TAFURO, C. AND LEO, P. (1988). Enzymic liquefaction of vegetables tissues. *Rivista de la Società Italiana di Scienza dell Alimentazione*. 17 (4). pp. 249-254.

TRESSLER, D: et al. (1971). Fruit and vegetable juice. *Processing Technology*. 2ed. AVI. USA. 475-478pp.