

Efecto del Tiempo de Tratamiento con Ultrasonido y Concentración de Ácido Cítrico y Sal (NaCl) sobre la actividad de la Polifenoloxidasa en Pulpa de Palta (Persea americana mill var. Hass)

Effect of Ultrasonic Treatment Time and Concentration of Citric Acid and Salt (NaCl) on the activity of Polyphenoloxidase in Avocado Pulp (Persea americana var mill. Hass)

Hubert Luzdemio Arteaga Miñano¹ | David Joseph Hawmann Díaz²

RESUMEN

El pardeamiento enzimático es un problema en la calidad de los frutos y vegetales frescos y procesados, siendo uno de los principales en pulpa de palta. La responsable del pardeamiento es la enzima polifenoloxidasa (PFO). La inhibición de la actividad de la polifenoloxidasa es un reto constante para la Agroindustria, que busca métodos nuevos que no dañen los nutrientes del alimento. Este trabajo determinó el efecto del tiempo (10min a 30min) de tratamiento con ultrasonido (40kHz), concentración de ácido cítrico (de 0.5 % a 2 % p/p) y sal (0.5 % a 2 % p/p) sobre la actividad de la polifenoloxidasa en pulpa de palta (Persea americana Mill variedad Hass) utilizando la metodología de superficie de respuesta con el diseño compuesto central rotacional (DCCR) totalizando 18 ensayos. Se determinó que el tiempo de tratamiento con ultrasonido a la potencia señalada no tuvo un efecto significativo, en tanto la concentración de ácido cítrico y la concentración de sal presentaron un efecto significativo sobre la actividad de la polifenoloxidasa, llegando a inactivar hasta el 96,73% (14.39 UPFO/g) de la PFO a las condiciones de 20 min, 2% de ácido cítrico y 1.25% de sal.

Palabras claves: Polifenoloxidasa, Palta, Ultrasonido, Ácido cítrico, Sal (Cloruro de Sodio), Alta intensidad.

ABSTRACT

Enzymatic browning is a problem in fruit quality of fresh and processed vegetables, being the enzyme polyphenol oxidase (PPO) one of the leading causes of browning in avocado pulp. The inhibition of polyphenol oxidase activity is a constant challenge for agribusiness, which seeks new methods that do not harm the nutrients of the food. This study determined the effect of time (10 min to 30 min) with ultrasound treatment (40 kHz), citric acid concentration (0.5% to 2% w / w) and salt (0.5% to 2% w / w) on the activity of polyphenol oxidase in avocado pulp (Persea americana Mill Hass) using response surface methodology with central rotational composite design (DCCR) totaling 18 trials. It was determined that ultrasound treatment time at the designated power-level had no significant effect, while the concentrations of citric acid and salt did have a significant effect on polyphenol oxidase activity, causing inactivation to reach 96.73 % (14.39 UPFO / g) of PFO at conditions of 20 minutes, 2% of citric acid and 1.25% of salt.

Key words: Polyphenol oxidase, Avocado, Ultrasound, Citric Acid, Salt (Sodium Chloride), High intensity.

1. INTRODUCCIÓN

La palta es uno de los principales productos de agroexportación del Perú para el mundo, ocupa el cuarto lugar en productos no tradicionales para el año 2014, siendo la variedad Hass la más representativa. Respecto al 2013 hubo un incremento del 56% de volumen exportado (114,628 a 178,862 TM) lo cual representó un 67% en ingresos monetarios (184,188 a 307,655 US\$FOB) (ADEX, 2015) [1]. Estas exportaciones pertenecen a la categoría de fresco, en donde se exige la mejor calidad. Sin embargo, los productos que no cumplen con lo exigido por la categoría fresco se procesan para exportarlo congelados en forma de pulpa la que a su vez se presenta en mitades o chunks, cubos y guacamole. Es en esta categoría de productos donde se necesita tener tecnologías que permitan disminuir los procesos degradativos como es el caso del pardeamiento enzimático, que actualmente se somete a tratamiento térmico y a evitar el contacto con el oxígeno además de utilizar ciertos antioxidantes. Por lo que es preciso, buscar tecnologías físicas que causen la menor pérdida posible en la carga nutricional de los productos y a la vez ofrezca mínimo daño en la calidad del producto, lo que parece presentar el tratamiento con ultrasonido.

El ultrasonido ofrece ventajas en términos de productividad, rendimiento y selectividad, ya que se obtienen mejores tiempos de proceso, mejora de calidad, reduce riesgos químicos y físicos. Se considera una técnica de procesamiento sustentable, porque típicamente emplea menos tiempo, agua y energía [2]. El ultrasonido son ondas acústicas inaudibles de una frecuencia superior a 20 kHz, para la conservación de los alimentos, son más eficaces las ondas ultrasónicas de baja frecuencia (18 a 100 kHz; $\lambda=145\text{mm}$) y alta intensidad (10-1000 W/cm²) [3]. El efecto conservador del ultrasonido está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido; la cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente. Durante la mitad negativa del ciclo depresión, el líquido se encuentra sometido a un esfuerzo tensional y durante la mitad positiva del ciclo experimenta una compresión, el resultado es la formación ininterrumpida de microburbujas cuyo tamaño aumenta miles de veces (se expanden) en la alternancia de los ciclos de presión. Las microburbujas que alcanzan un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original. La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos y focales, que se disipan sin que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado [4] lo que al criterio de muchos autores es lo que causa el retraso de las reacciones enzimáticas.

Las reacciones enzimáticas en vegetales procesados producen alteraciones sensoriales tales como mal olor, pérdida de firmeza y decoloración. El pardeamiento enzimático de la fruta se debe a procesos fisiológicos que tiene lugar durante la maduración, procesos asociados a la recolección, o a tratamientos tecnológicos de post-recolección. El proceso de pardeamiento se desencadena cuando, tras la operación de corte se produce una pérdida de la integridad celular en las superficies de las frutas. Esto provoca una destrucción de la compartimentación de enzimas y sustratos, con lo que se catalizan las reacciones y se produce la formación de metabolitos secundarios no deseados. Para que el fenómeno de pardeamiento enzimático tenga lugar se requiere de la presencia de cuatro diferentes compuestos: el oxígeno molecular, sustratos apropiados, la polifenoloxidasas y la presencia de cobre en el centro activo de la enzima [5]. La principal enzima catalizadora de la alteración del color en los alimentos es la enzima polifenoloxidasas (PFO), ampliamente distribuida en la escala filogenética, encontrándose tanto en organismos procariotas como eucariotas. Recibe distintos nombres según el material biológico del que proceda. Así, se denomina tirosinasa en animales y procariotas, y polifenoloxidasas en vegetales [6]. La polifenoloxidasas se localiza siempre en orgánulos celulares, concretamente en cloroplastos y mitocondrias. Se puede hallar de dos formas distintas, bien unida a membranas, como a la membrana tilacoidal de los cloroplastos, o bien en forma soluble. Es de destacar el hecho de que la proporción de fracción soluble de PFO aumenta durante la maduración del fruto. El nivel de actividad de la PFO depende del tipo de tejido. Aunque se asume que esta afirmación es verdadera, existe cierta controversia al respecto ya que en manzana algunos autores han encontrado que la actividad enzimática era mayor en la piel que en el mesocarpio y otros estudios constatan lo contrario [7]. Para que la enzima actúe sobre el sustrato fenólico, el Cu²⁺ ha de encontrarse reducido a Cu⁺, estado en el que la enzima puede ligar oxígeno. El cobre, situado en el centro activo de la enzima, es esencial para la actividad de la polifenoloxidasas y su acomplejamiento da lugar a la inhibición de la misma [8]. Otro factor para la inactivación de esta enzima es la reducción de pH la cual se consigue con la adición de ácido cítrico el que actúa sobre las enzimas oxidativas en diversas formas: 1. Son reductores con lo cual convierten a las quinonas en sus respectivos difenoles; 2. Tienen la capacidad de secuestrar el Cu²⁺ y 3. Bajan el pH [9]. La investigación realizada por Orozco evaluó el efecto de combinar ultrasonido y adición de cebolla-ajo sobre la actividad del polifenoloxidasas en palta (*Persea Americana Mill*) var. Hass. Las paltas fueron desinfectadas, cortadas, despulpadas y mezcladas. Se

prepararon tres lotes, uno control, uno con ajo 0,5% y otro con cebolla 2% en los cuales se determinó la actividad enzimática tras aplicar ultrasonido de alta intensidad a 130 kHz, 10 min y 17°C. Los resultados mostraron un aumento en la actividad de la polifenoloxidasas por el estrés generado en el tratamiento con ultrasonido [10].

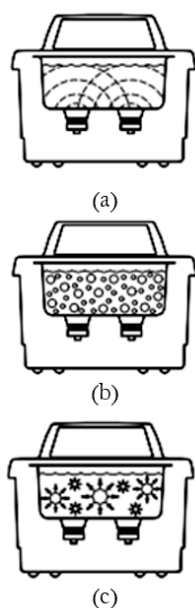
Considerando que la palta en pulpa representa un porcentaje elevado respecto a las exportaciones globales de palta, así mismo considerando que el consumo interno de palta se ha incrementado, es importante buscar nuevos métodos para evitar su pérdida de calidad, por ello la importancia de este trabajo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación y tratamiento de Pulpa de Palta

Se utilizó Palta var. Hass en estado maduro y fresco, de textura firme y peso entre 100 a 180 g. Se eliminó cáscara y la pepa de la palta de manera manual. Con una licuadora se obtuvo la pasta, a la que se le agregó ácido cítrico y sal en % p/p respecto a la pulpa los que se diluyeron en agua a saturación para agregarlo a la pulpa y realizar la homogeneización, tras la cual se envasó en bolsas de polietileno (1 mm espesor) con un peso de 50 g de pulpa de palta y un espesor de producto de 1 centímetro; el sellado se realizó con una selladora manual. Luego de envasado, se colocaron 8 muestras por tratamiento en el equipo de ultrasonido (Branson 8510) donde se expandieron las ondas ultrasónicas a través del agua, se generó la cavitación y la implosión como se muestra en la figura 1. Finalmente los envases fueron almacenados en refrigeración a 12 °C durante 24 horas hasta la determinación de la actividad de la polifenoloxidasas.

Figura 1. Fases del tratamiento con ultrasonido: (a) generación de ondas, (b) Cavitación e implosión.



2.2 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta, utilizando el diseño compuesto central rotacional (DCCR) en el que los niveles de las variables independientes se muestran en la cuadro 1.

Cuadro 1. Niveles de las variables independientes utilizadas en la inactivación de la polifenoloxidasas en pulpa de palta.

VARIABLES	DCCR				
	-1.68	-1	0	1	1.68
X ₁ : Tiempo de Ultrasonido (min)	10	14	20	26	30
X ₂ : Concentración Ac. Cítrico (% p/p)	0.5	0.8	1.25	1.7	2.0
X ₃ : Concentración Sal (NaCl) (% p/p)	0.5	0.8	1.25	1.7	2.0

El análisis estadístico consistió en realizar un análisis de efectos estandarizados por el gráfico de Pareto, la determinación de los coeficientes de regresión a partir de los cuales se pudo construir el modelo del tipo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_1 x_2 + \beta_5 x_1 x_3 + \beta_6 x_2 x_3 + \beta_7 x_1^2 + \beta_8 x_2^2 + \beta_9 x_3^2$$

Donde $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5, \beta_6, \beta_7, \beta_8$ y β_9

son los coeficientes de regresión a estimar para cada variable independiente y sus interacciones, Y es la variable respuesta en este caso la Actividad de la Polifenoloxidasas.

Luego se realizó un análisis de varianza (ANVA) para el modelo obtenido con su respectivo coeficiente de determinación R², los que permiten validar estadísticamente el modelo encontrado. Finalmente se generaron superficies de respuesta, en donde se buscó la zona de interés y por ende la condición que optimiza (minimiza) la actividad de la polifenoloxidasas.

2.3 Actividad de la polifenoloxidasas y pH

Se usaron los métodos: Determinación de la actividad de la polifenoloxidasas [11]. Para el pH se utilizó un potenciómetro.

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Actividad de la Polifenoloxidasas (APFO)

En cuadro 2, se muestra la actividad de la polifenoloxidasas en la pulpa de palta para cada uno de los tratamientos.

Cuadro 2. Actividad de la Polifenoloxidasas sin tratamiento y con tratamientos en la pulpa de palta.

Ensayos	X ₁ (min.)	X ₂ ác. cítrico (% p/p)	X ₃ sal(NaCl) (% p/p)	Y ₁ APFO (UPFO/g)	% activación	pH de pulpa
E ₀	--	--	--	440.46	100.00	6.31
E ₁	14	0.80	0.80	226.69	51.47	3.75
E ₂	26	0.80	0.80	226.81	51.49	3.75
E ₃	14	1.70	0.80	22.63	5.14	3.10
E ₄	26	1.70	2.00	27.80	6.31	3.27
E ₅	14	0.80	1.70	319.68	72.58	3.71
E ₆	26	0.80	1.70	296.43	67.30	3.71
E ₇	14	1.70	1.70	22.63	5.14	3.16
E ₈	26	1.70	1.70	22.63	5.14	3.22
E ₉	10	1.25	1.25	27.80	6.31	3.52
E ₁₀	30	1.25	1.25	19.19	4.36	3.40
E ₁₁	20	0.50	1.25	222.51	50.52	4.07
E ₁₂	20	2.00	1.25	14.39	3.27	3.00
E ₁₃	20	1.25	0.50	66.17	15.02	3.50
E ₁₄	20	1.25	2.00	193.60	43.95	3.58
E ₁₅	20	1.25	1.25	23.37	5.31	3.44
E ₁₆	20	1.25	1.25	15.25	3.46	3.34
E ₁₇	20	1.25	1.25	16.61	3.77	3.48
E ₁₈	20	1.25	1.25	35.67	8.10	3.34

Fuente: Elaboración propia

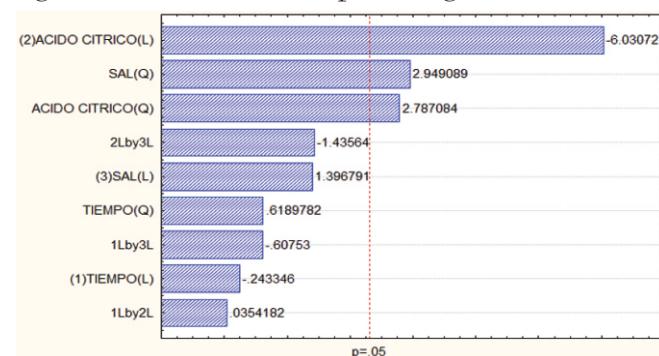
Se aprecia en E₀ correspondiente a la pulpa de palta sin ningún tratamiento, que mostró una actividad de la polifenoloxidasas (PFO) de 440.46 UPFO/g (que representa el 100% de actividad), la cual es mayor comparado con la pulpa que recibió los tratamientos (E₁ a E₁₈).

polifenoloxidasas (PFO) de 440.46 UPFO/g (que representa el 100% de actividad), la cual es mayor comparado con la pulpa que recibió los tratamientos (E₁ a E₁₈). El mejor desarrollo de actividad de la PFO se da en un pH cercano al neutro, esto coincide con Restrepo, (2012)[12] que sostiene que el pH óptimo para el desarrollo de la actividad de la PFO en palta (*Persea americana* Mill var. Hass) es entre 5.5 a 6.54 si el medio donde se encuentra la PFO es alterado este puede reducir mínimamente o drásticamente su actividad, lo que se consiguió agregando el ácido cítrico y sal acompañado del tratamiento con ultrasonido. Guerrero, (2009)[9] menciona que el pardeamiento enzimático puede ser controlado a través del uso de algunos métodos químicos y físicos, a menudo empleados en conjunto para poder inactivar la PFO. El ensayo E₁₂ se obtuvo 14.39 UPFO/g que representa la menor actividad de PFO (3.27% de la actividad respecto a la pulpa fresca).

3.2 Análisis de efectos

En el figura 2 se presentan los efectos de las variables independientes en la variable respuesta APFO.

Figura 2. Efectos estimados por el diagrama de Pareto



Se observa que el porcentaje de ácido cítrico presenta un efecto lineal significativo negativo; es decir, al incrementar su concentración se reduce la APFO, sin embargo en términos cuadráticos su efecto significativo resulta positivo. En tanto el porcentaje de sal a pesar de que presenta efecto significativo en términos cuadráticos indica que al incrementar su concentración, incrementa la APFO al igual que en términos lineales, en este último no evidenció significancia. El tiempo de ultrasonido y las interacciones de las variables independientes no muestra efecto significativo sobre la actividad de la actividad de PFO; pero se puede observar que entre más tiempo de tratamiento se reduce la APFO en términos lineales en tanto en términos cuadráticos se incrementa, en ambos casos es insignificante. Posiblemente, la no influencia del tiempo está asociado con la frecuencia de 40 kHz máxima dotada por el equipo utilizado en esta investigación; además que existen restricciones en la aplicación del ultrasonido tal como lo reporta Gómez y López (2009)[13] en la que para la inactivación enzimática se incrementa al aumentar el poder ultrasónico, la frecuencia, intensidad de cavitación, temperatura y presión del proceso, pero disminuye conforme el volumen a tratar aumenta. Al respecto Orozco et al., (2012)[10] usaron una frecuencia de ultrasonido de 130 kHz y un tiempo de exposición de 10 minutos, lo cual provocó un aumento en la APFO de 2% hasta 52% en puré de palta variedad Hass; lo que coincide con lo reportado por Wu et al., (2002)[14] donde al aplicar Ultrasonido de Alta Intensidad a un frecuencia de 38.5 kHz por un tiempo de 2 minutos en *Panaxginseng* ocasionó que la APFO tenga un aumento significativo por el estrés generado al aplicar el tratamiento. Wang, (2011)[15] asumen que el ultrasonido promueve algunas reacciones de oxidación en los alimentos y esto puede iniciar un incremento de la transferencia de masa lo que genera una mejora en el suministro de reactivos en el sitio activo; caso contrario paso en la investigación realizada por Trujillo et al., (2011)[16] quienes utilizaron varios tratamientos entre uno de ellos ultrasonido de 40 voltios

durante 5 minutos para conservar coliflor, lo cual tuvo un efecto significativo sobre la APFO hasta el día 15 de su almacenamiento; se evidencia que la APFO no es inactivada o relentizada por el tratamiento con ultrasonido a las condiciones trabajadas.

3.3 Coeficientes de regresión

En el cuadro 3 se presentan los coeficientes significativos del modelo cuadrático para la variable respuesta APFO.

Cuadro 3. Coeficientes de regresión.

Factores	Coefficiente de	p	-95.%	+95.%
Promedio	695.914	0.077440	-96.52	1488.347
(1) Tiempo de ultrasonido	-5.970	0.780107	-53.65	41.706
Tiempo de ultrasonido (Q)	0.271	0.553144	-0.74	1.281
(2) Ácido cítrico (L)	-582.309	0.053947	-1177.17	12.556
Ácido cítrico(Q)	217.005	0.023665	37.46	396.552
(3) sal (L)	-213.035	0.393085	-757.28	331.214
Sal (Q)	216.971	0.018451	47.31	386.630
1L x 2L	0.297	0.972614	-19.06	19.651
1L x 3L	-4.729	0.560345	-22.68	13.221
2L x 3L	-149.003	0.189027	-388.34	90.334

Los coeficientes que presentan significancia son los correspondientes a la concentración de Ácido cítrico y sal en términos cuadráticos; sin embargo, se consideraran todos los coeficientes ya que su R_{aj} no mejora al considerar solo los coeficientes significativos [17].

3.4 Análisis de varianza de la regresión

En el cuadro 4 se muestra el Análisis de Varianza de la regresión que describe el comportamiento de la variable respuesta APFO.

$$Y = 695.14 - 5.97X_1 - 582.31X_2 - 213.04X_3 + 0.27X_1^2 + 217.01X_2^2 + 216.97X_3^2 + 0.297X_1X_2 - 4.73X_1X_3 - 149.01X_2X_3$$

Cuadro 4. ANVA de la regresión

Fuente de Variación	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados Medios	Fcal	Ftab
Regresión	1.862E+05	9	20692.166	6.88	3.38
Error	2.404E+04	8	3006.087		
total	2.102E+05	17			

$$R^2=0.885 \text{ y } R^2_{aj}=0.757$$

El ANVA de la regresión donde nos indica que si el valor del Fcal es mayor que el Ftab el modelo representa adecuadamente los datos en la superficie de respuesta, obteniéndose un R_{aj} de 0.757 superior a 0.7 recomendado por Gutierrez y De la Vara (2004) [17].

3.5 Superficies de respuesta

Las superficies de respuesta, en la cual se aprecia el comportamiento de la actividad de la PFO frente a los tiempos de ultrasonido, concentración de ácido cítrico y sal correspondiente a los tratamientos aplicados muestran en la figura 3a, 3b y 3c.

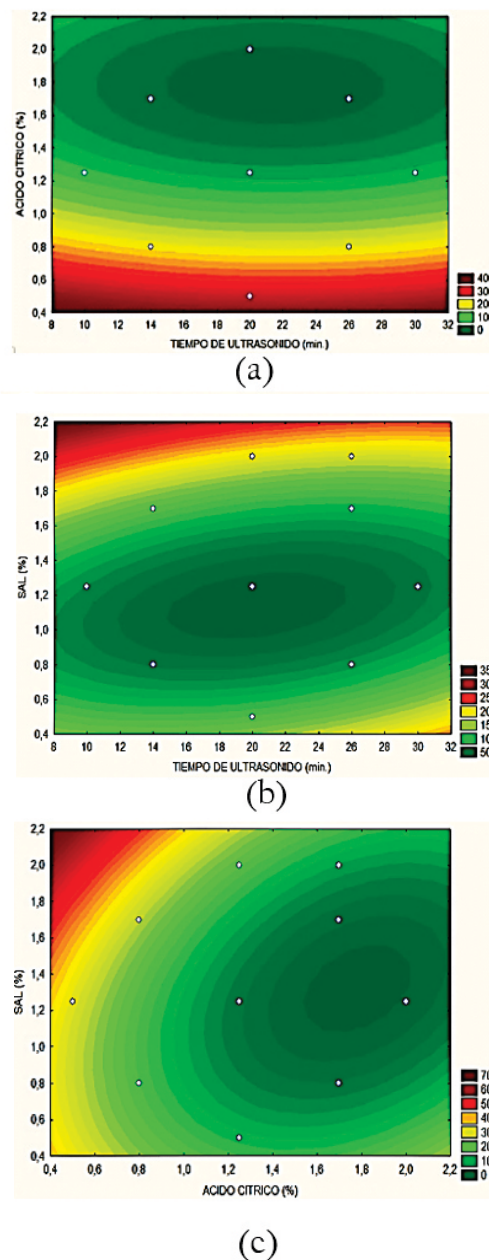


Figura 3. Superficie de repuesta de contornos para la APFO en función del tiempo de ultrasonido y concentración de ácido cítrico (a), tiempo de ultrasonido y concentración de sal (b) y concentración de ácido cítrico y sal (c).

En la figura 3a se muestra que la combinación del tiempo de ultrasonido con % de ácido cítrico, en la que se puede notar que la región mínima de APFO se encuentra entre 15 y 28 minutos y de 1.6 a 2% de ácido cítrico; en la figura

3b muestra que la combinación del tiempo de ultrasonido con % de sal, se observa que la región mínima de APFO se encuentra entre 15 y 26 minutos y de 1 a 1.3% de sal; en tanto, en la figura 3c se observa que la región mínima de APFO se encuentra entre 1.5 y 2% de ácido cítrico y de 1.1 a 1.5% de sal. El tratamiento con ultrasonido no fue tan efectivo en la actividad enzimática como debería ser según lo fundamentado por Robles et al., (2012)[18] que argumentan que el efecto principal que provoca la inactivación y ruptura celular es atribuido a la cavitación acústica que puede ser de dos tipos: transiente y estable; en la primera de ellas cuando las burbujas generadas por la cavitación se llenan con gas o vapor y debido a las oscilaciones irregulares las burbujas implosionan, provocando elevaciones de presión y temperatura y en consecuencia la desintegración de células y desnaturalización de enzimas. La cavitación estable está referida a la oscilación de las burbujas en un comportamiento regular durante los ciclos acústicos, su efecto es debido a la microcorriente que induce en el líquido circundante, lo que pueden estresar las especies biológicas. Se considera que las esporas son más resistentes que las células vegetativas y en el caso de las enzimas su desnaturalización por ultrasonido se debe al efecto de depolimerización.

Las variables de concentración de ácido cítrico y concentración de sal son las que logran tener un efecto significativo sobre la APFO; la combinación de un tratamiento adicional o en la misma combinación con otros agentes inhibidores como ácido cítrico, ácido ascórbico, sal, entre otros como lo demostrado en la investigación de Guerrero (2009)[9] quien uso la adición de ácido ascórbico e isoespintanol sobre la actividad PFO en banano con lo que obtuvo que a partir de la adición de 250 ppm se demuestra una baja en la APFO siendo el efecto del ácido ascórbico del 43,48% contra el 35,65% del Isoespintanol a 2000 ppm. La acción del ácido ascórbico en la inhibición del pardeamiento es debido a que actúa sobre las quinonas reduciéndolas a o-difenoles no coloreados que son compuestos más estables mostrando que a 2000 ppm no hace posible detectar APFO lo que sugiere una inhibición completa; por otro lado Isoespintanol se considera un inhibidor competitivo además muestra gran actividad antioxidante al inhibir la APFO llegando a un 91.31% de inhibición a 2000 ppm. La adición de ácido ascórbico logra una inhibición parcial hasta total sobre la actividad de la polifenoloxidasas como se demostró en Gil et al., (2012)[19] donde se evaluó el ácido ascórbico como referencia para comparar con otros tres nuevos antioxidantes su acción como inhibidor de APFO, presentó la mejor inhibición de 1000 a 1500 ppm demostrando una reducción de la AFPO en un 89.2 y 92% respectivamente; se disminuyó la APFO a medida que

aumentó la concentración del ácido ascórbico, debido a su fuerte propiedad reductora y baja acidez, que puede además reducir el pH del extracto enzimático del banano. Efecto similar sucedió al adicionar el ácido cítrico al puré de palta, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Gasull et al., (2006)[20], donde analizaron el efecto inhibitorio de ácido ascórbico, ácido benzoico y cloruro de sodio en la inactivación de la PFO en pera y manzana, frente a catecol como sustrato, del análisis de los datos obtenidos al determinar el efecto inhibitorio, se encontró que el inhibidor más potente para PFO de las frutas analizadas es el ácido ascórbico, que presenta una inactivación del 50%. El ácido ascórbico actúa más como un antioxidante que como un inhibidor enzimático porque el mismo reduce la quinona formada inicialmente por la enzima al difenol original, antes que se produzcan las reacciones secundarias, las cuales dan lugar a la formación de los pigmentos. El ácido ascórbico también ha sido reportado como causa irreversible de inhibición enzimática (Golan et al., 1984)[21].

3.6 Condiciones óptimas

En el cuadro 5 se muestran los valores de los factores estimados para la obtención de una APFO mínima, las que se obtienen de la aplicación de las derivadas parciales al modelo encontrado e igualando a cero. Sin embargo, para confirmar esta condición es necesario realizar nuevamente experimentación. En tanto en el ensayo E12 se tiene la mínima APFO experimental (3.27%) en la que las condiciones son 20 min, 2% de ácido cítrico y 1.25% de sal; valores que son muy cercanos a las condiciones optimizadas.

Cuadro 5. Condiciones óptimas que minimizan la actividad de la polifenoloxidasas.

Variables Independientes	mínimo	óptimo	máximo
Tiempo de ultrasonido (min.)	10	22	30
Ácido cítrico (%)	0,5	1,79	2
Sal (%)	0,5	1,34	2

4. CONCLUSIONES

El tiempo con ultrasonido a (40 kHz) no tiene un efecto significativo sobre la APFO. En tanto, la concentración de ácido cítrico tiene un efecto significativo negativo y la sal un efecto positivo sobre APFO en pulpa de palta.

La APFO es mucho menor en todos los ensayos en comparación con la muestra sin tratamientos y la que tiene la menor actividad de la polifenoloxidasas es el ensayo E12 cuyas condiciones corresponden a

20 minutos, 2% de ácido cítrico y 1.25% de sal.

4.1 Información y preguntas

Usted puede contactar con el comité editorial de la revista a través del correo:
tecnologiadesarrollo@ucv.edu.pe

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADEX. Boletín informativo. Gerencia de Agroexportaciones. [Accesado Enero, 2015] Disponible en : <http://www.adexdatatrade.com/Boletines.aspx?g=4>
- [2] Chemat, F., Muhammed, K. and Zill-e-Huma. Applications of ultrasound in food technology. Processing, preservation and extraction. 2011. pp. 813 - 835.
- [3] Herrero, A. and Romero, M. innovaciones en el Procesado de Alimentos. s.l. : Revista Médica de la Universidad de Navarra, 2006. pp. 71 - 74.
- [4] McClements, D. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. En: Trends in Food Science and Technology. s.l. : Trends in Food Science and Technology, 1995. pp. 293 - 299.
- [5] Bruns, J. Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the colloquium. 1. s.l. : HortScience, 1995. pp. 14 - 17.
- [6] Valero, E. Caracterización cinética de la polifenoloxidasas de uva Airen. La Mancha; Servicio de Publicaciones de la Universidad de Castilla. 1993.
- [7] Nicolas, J. Enzymatic browning reactions in apple and apple products - Critical Reviews in Food. s.l. : Science and Nutrition, 1994. pp. 109 - 157.
- [8] Mayer, A. y Harel, E. Polyphenoloxidasas and their significance in fruits and vegetables. s.l. : En P.
- [9] Guerrero, C. Inhibición de la Actividad Enzimática de la Polifenoloxidasas Extraída del Banano (Cavendish Valery) Mediante Sistemas Bifásicos Acuósos con Isoespintanol y Ácido Ascórbico. Medellín : Universidad Nacional de Colombia, 2009.
- [10] Orozco, M., Pietro, R. and Díaz, L. Efecto de la Adición de Cebolla, Ajo y la Aplicación de Ultrasonido de Alta Intensidad. Medellín - Colombia : s.n., 2012; 132-134.
- [11] Pizzocaro F, Torreggiani D, Gilardi G. Inhibition of apple polyphenoloxidasas (PPO) by ascorbic acid, citric acid and Sodium Chloride. Journal of Food Processing and Preservation. 1993;17; 21-30.
- [12] Restrepo, A. Alternativas para la conservación de aguacate (*Persea americana* Mill, variedad Hass) en la inhibición del pardeamiento enzimático. 2012.
- [13] Gomez, J y Lopez, A. 2009. Aplicaciones del ultrasonido en el tratamiento de alimentos. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos. 2009; 3-1:59-73.
- [14] Wu, J. y Lin, L. Ultrasound-induced stress responses of Panaxginsen: Enzymatic browning and phenolics production. [ed.] Biotechnol. 2002; 862 - 866.
- [15] Wang, J. Effect of ultrasound on the activity of alliinase from fresh garlic. s.l. : Ultrasonochem. 2011; 534 - 540.
- [16] Trujillo, Y., Cáceres, L. y Silva, J. Conservación de la coliflor (*Brassica Oleraceae* L.) cv. botrytis almacenada en refrigeración. Pamplona : Grupo de Investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos (GINTAL). 201; 9; 31 - 37.
- [17] Gutierrez, H. y De la Vara, R. Análisis y diseño de experimentos. México; Editorial McGraw-Hill; 2004.
- [18] Robles, L. y Ochoa, A. Ultrasonido y sus Aplicaciones en el Procesamiento de Alimentos. Hermosillo : Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha. 2012; 13; 109 - 122.
- [19] Gil, M., Rojano, B. y Guerrero, C. Inhibición de la polifenoloxidasas extraída del banano (cavendish) por medio de algunos derivados del isoespintanol. Medellín. 2012; s.n; 229 - 232.
- [20] Gasull, E. y Becerra, D. Caracterización de polifenoloxidasas extraída de pera (cv. Packam's Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). Inf.

Tecnol. 2006; 69 - 74.

- [21] Golan, A., Goldhirsh, A. y Whitaker, J. Effect of ascorbic acid, sodium bisulfite and thiol compounds on mushroom polyphenoloxidase. s.l. : Journal of Agricultural Food. 1984;1003 - 1009.