

UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS
FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS

**“ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y TIPO DE PRE-
TRATAMIENTO EN EL COLOR DE RODAJAS DE MANZANA VAR.
GRANNY SMITH, DURANTE EL PROCESO DE PARDEAMIENTO
ENZIMÁTICO”**

Para obtener el título profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Presentada por:

Bach. LORENZO CABAÑAS CHÁVEZ

Asesor

Dr. WILSON MANUEL CASTRO SILUPU

Co-Asesor

M.Sc. ELÍAS ALBERTO TORRES ARMAS

CHACHAPOYAS – PERÚ

2017

DEDICATORIA

A Dios en primer lugar que me brindó la oportunidad de vivir, por ser mi guía espiritual, con un inmenso respeto y amor a mis padres, a mis hermanos por estar conmigo y apoyarme siempre, y a todas aquellas personas que me apoyaron en cada paso en mi carrera profesional por su dedicación y apoyo incondicional hicieron que culmine este gran sueño.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso por haber permitido que uno de mis más grandes sueños se cristalice y les haya dado vida a mis seres queridos para ver que este momento ha llegado a mi vida.

A mis asesores Dr. Wilson Manuel Castro Silupu y M.Sc. Elías Alberto Torres Armas mi más sincero agradecimiento y reconocimiento por guiarme y asesorarme en el desarrollo de la presente tesis; quien además han impartido en mí, conocimientos científicos y tecnológicos para mi formación profesional.

A Ever Jaminton García Tuesta y todo el personal técnico de los diferentes laboratorios de la UNTRM–A, por su apoyo y paciencia, durante la labor experimental de la presente investigación.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

Ph.D. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA

Rector

Dr. OSCAR ANDRES GAMARRA TORRES

Vicerrector (e) Académico

Dra. MARIA NELLY LUJAN ESPINOZA

Vicerrectora (e) Investigación

M.Sc. ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERI

Decano Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

VISTO BUENO DEL ASESOR

Yo, Dr. Wilson Manuel Castro Silupu, identificado con DNI N° 40322327 Docente Asociado a Tiempo Completo de la Escuela Profesional de Ingeniería Agronegocios, asesor de la tesis titulada **“ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y TIPO DE PRE-TRATAMIENTO EN EL COLOR DE RODAJAS DE MANZANA VAR. GRANNY SMITH, DURANTE EL PROCESO DE PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO”** presentado por el Bach. **LORENZO CABAÑAS CHÁVEZ**, egresado de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

Por lo indicado doy testimonio y visto bueno, que el Bach. **LORENZO CABAÑAS CHÁVEZ**, ha ejecutado la tesis mencionada, por lo que en fé a la verdad firmo la presente.

Dr. Wilson Manuel Castro Silupu

Asesor

VISTO BUENO DEL Co-ASESOR

Yo, M.Sc. Elías Alberto Torres Armas, identificado con DNI N° 18033004 Docente Asociado a Tiempo Completo Escuela Profesional de Ingeniería en Agronegocios, co-asesor de la tesis titulada **“ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA Y TIPO DE PRE-TRATAMIENTO EN EL COLOR DE RODAJAS DE MANZANA VAR. GRANNY SMITH, DURANTE EL PROCESO DE PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO”** presentado por el Bach. **LORENZO CABAÑAS CHÁVEZ**, egresado de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

Por lo indicado doy testimonio y visto bueno, que el Bach. **LORENZO CABAÑAS CHÁVEZ**, ha ejecutado la tesis mencionada, por lo que en fé a la verdad firmo la presente.

M.Sc. Elías Alberto Torres Armas

Co-asesor

JURADO EVALUADOR

Ing. Heli Humberto Aguirre Zaquinaula

Presidente

M.Sc. Elena Victoria Torres Mamani

Secretario

M.Sc. Polito Michael Huayama Soplá

Vocal

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	II
AGRADECIMIENTOS	III
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS	IV
VISTO BUENO DEL ASESOR	V
VISTO BUENO DEL Co-ASESOR	VI
JURADO EVALUADOR... ..	VII
ACTA DE EVALUACION DE TESIS.....	VIII
ÍNDICE GENERAL	IX
ÍNDICE DE TABLAS	XI
INDICE DE FIGURAS.....	XII
ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS	XIII
RESUMEN	XIV
ABSTRACT.....	XV
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. FUNDAMENTO TEÓRICO	4
II.1. Calidad visual y cambios de color en alimentos	4
II.2. Importancia comercial y medición del color.....	6
a) Evaluación sensorial.....	7
b) Aplicación de sistemas de visión artificial.....	8
II.3. Pardeamiento enzimático.....	8
a) Enzimas responsables	11
b) Substratos de la reacción	11
c) Mecanismo y productos de reacción.....	12
d) Factores que condicionan el proceso de pardeamiento	16
II.4. Control del pardeamiento enzimático	17
a) Métodos físicos.....	18
a.1) Tratamientos térmicos.....	18
a.1.1) Aplicación de alta temperatura.....	19
a.1.2) Empleo de bajas temperaturas	20
a.1.3) Ondas electromagnéticas.....	20
a.2) Aplicación de tecnologías no térmicas	21
a.2.1) Reducción de la disponibilidad de oxígeno.....	21
- Atmósferas modificadas	22
- Recubrimientos comestibles	23
a.2.2) Irradiación.....	24
a.2.3) Altas presiones	24
a.2.4) Pulsos eléctricos.....	25
b) Métodos químicos.....	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	29
III.1. Materiales	29

a)	Materia prima	29
b)	Material de vidrio	29
c)	Reactivos	29
d)	Equipos.....	29
e)	Otros.....	30
III.2.	Métodos	30
a)	Aplicación de diferentes condiciones de temperatura y pre-tratamiento a rodajas de manzana para analizar el pardeamiento enzimático	31
b)	Extracción de información del color durante el proceso de pardeamiento enzimático.....	34
c)	Relacionar los cambios en el color, la temperatura y el pre-tratamiento.....	36
IV.	RESULTADOS	38
IV.1.	Aplicación de diferentes condiciones de temperatura y pre-tratamientos a rodajas de manzana para promover el pardeamiento enzimático	38
IV.2.	Obtención de información del color durante el proceso de pardeamiento enzimático.....	42
IV.3.	Relación entre los cambios del color, la temperatura y el pre-tratamiento.....	47
V.	DISCUSIONES	56
VI.	CONCLUSIONES.....	59
VII.	RECOMENDACIONES.....	60
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	61
	ANEXOS	67
A. 1)	Sistema de adquisición y tratamiento de imágenes	68
A. 2)	Fotografías de proceso de aprovisionamiento de material biológico.....	69
A. 3)	Acondicionamiento de material biológico	70
A. 4)	Código fuente e interfaces de usuario	71
A. 5)	Análisis cualitativo de actividad de catalasa y peroxidasa en escaldado.....	77
A. 6)	Datos medios de parámetros L, a* y b*	79

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Aditivos de interés para el procesamiento de FMP	28
Tabla 2. Combinación de tratamientos y pre-tratamientos.....	38
Tabla 3. Imágenes de distintas combinaciones de tratamientos a t=0 min.	39
Tabla 4. Imágenes de distintas combinaciones de tratamientos a t= 120 min.	40
Tabla 5. Imágenes de distintas combinaciones de tratamientos a t= 240 min.	41
Tabla 6. Resumen de análisis de normalidad de L	47
Tabla 7. Resumen de análisis de normalidad de a*	48
Tabla 8. Resumen de análisis de normalidad de b*.....	49
Tabla 9. Análisis de la Varianza para L	50
Tabla 10. Análisis de la Varianza para a	51
Tabla 11. Análisis de la Varianza para b.....	51
Tabla 12. Análisis de regresión múltiple de la variable L	52
Tabla 13. Análisis de regresión múltiple de la variable a.....	53
Tabla 14. Análisis de regresión múltiple de la variable b*.....	54
Tabla 15. Valor medio del parámetro L	79
Tabla 16. Valor medio del parámetro a*	80
Tabla 17. Valor medio del parámetro b*	81

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Algunos ejemplos de cambios en la apariencia de frutas y hortalizas, almacenadas durante 24h a 10°C	5
Figura 2. Estructuras del ácido quínico y el ácido shiquímico	12
Figura 3. Reacciones catalizadas por la polifenol oxidasa	13
Figura 4. Reacciones de las <i>o</i> -quinonas con compuestos no fenólicos	15
Figura 5. Obtención de rodajas de manzana.....	31
Figura 6. Esquema experimental para la determinación de la influencia del tipo de pre- tratamiento y la temperatura en el color de rodajas de manzana var. Granny Smith durante el proceso de pardeamiento enzimático.....	32
Figura 7. Sistema de adquisición de imágenes.....	33
Figura 8. Representación matricial de imagen en formato *.JPG	34
Figura 9. Resultado de la aplicación del algoritmo de segmentación.....	35
Figura 10. Resultados de la aplicación de función L, a*, b*	36
Figura 11. Valor promedio de L en muestras sin tratamiento	42
Figura 12. Valor promedio de L en muestras escaldadas	43
Figura 13. Valor promedio de L en muestras sulfitadas.....	43
Figura 14. Valor promedio de a* en muestras sin tratamiento	44
Figura 15. Valor promedio de a* en muestras escaldadas.....	44
Figura 16. Valor promedio de a* en muestras sulfitadas	45
Figura 17. Valor promedio de b* en muestras sin tratamiento.....	45
Figura 18. Valor promedio de b* en muestras escaldadas	46
Figura 19. Valor promedio de b* en muestras sulfitadas	46
Figura 20. Ajuste de datos de L a distribución normal.....	47
Figura 21. Ajuste de datos de a a distribución normal	48
Figura 22. Ajuste de datos de b a distribución normal	49
Figura 23. Variación media de L durante el estudio	50
Figura 24. Variación media de a durante el estudio	51
Figura 25. Variación media de b durante el estudio	52
Figura 26. Parámetro L predicho vs observado.....	53
Figura 27. Parámetro a predicho vs observado	54
Figura 28. Parámetro b predicho vs observado	55
Figura 29. Interface de usuario del programa de análisis de color	76

ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS

	Pág.
Fotografía 1. a y b Sistema de adquisición de imágenes	68
Fotografía 2. a y b adquisición de muestras en el mercado central de Chachapoyas	69
Fotografía 3. a, b y c acondicionamiento de muestras	70

RESUMEN

La presente tesis tuvo como objetivo el evaluar el efecto de la temperatura y el pre-tratamiento en el color en rodajas de manzana var. Granny Smith, medidos en el espacio CIELab utilizando un sistema de visión por computadora, durante el proceso de pardeamiento enzimático. La metodología aplicada consto de las siguientes actividades

- Aplicación de diferentes condiciones de temperatura (10, 25 y 40 °C) y pre-tratamiento (control, escaldado y sulfitado) a rodajas de manzana para analizar el pardeamiento enzimático,
- Extracción de información del color durante el proceso de pardeamiento enzimático y
- Relacionar los cambios en el color, la temperatura y el pre-tratamiento.

Los resultados de la labor experimental muestran que a lo largo del proceso de pardeamiento se produce la reducción de los parámetros L e incremento de parámetros a^* y b^* ; asimismo, que existen diferencias significativas en los parámetros L, a^* y b^* cuando se aplican diferentes pre-tratamientos y temperaturas. Finalmente las ecuaciones, que modelan las relaciones entre los parámetros L, a^* y b^* , en función de los factores pre-tratamiento (P), tiempo (T_p), y temperatura de almacenamiento (T_a) confirman que los parámetros L, a^* y b^* tienen relación con los factores en evaluación. Sin embargo, por los bajos valores de R^2 , no es posible utilizarlos para predecir el proceso.

ABSTRACT

The present work had as objective evaluate the effect of temperature and pre-treatment in color apple slices var. Granny Smith, measured it in CIELAB space using a computer vision system, during the process of enzymatic browning. The applied methodology consist of the following activities a) Application of different conditions of temperature (10, 25 and 40 ° C) and pre-treatment (control, blanching and sulphited) to apple slices to analyze enzymatic browning, b) Extraction of information color during the process of enzymatic browning and c) relate the changes in color, temperature and pre-treatment. The results show that the experimental work along the browning process occurs reduction and increased parameters L, a* and b* parameters, also significant differences in the parameters L, a* and b* when applied different pre-treatments and temperatures. Finally the equations that model the relationship between the parameters L, a* and b*, based on the factors pre-treatment (P), time (Tp), and storage temperature (Ta) confirm that the parameters L, a* b* are related to the evaluation factors. However, the lower values of R², it is not possible to use them to predict the process.

I. INTRODUCCIÓN

El aspecto y el color de la superficie del alimento es el primer parámetro de calidad evaluado por los consumidores y es crítico en la aceptación del producto; esto debido a que mediante su observación es posible detectar ciertas anomalías o defectos que pueden presentar los alimentos (Xul y col., 2009). En base a ello que algunos investigadores han intentado relacionar la distribución del color con otros datos como la temperatura y la distribución de contenido de humedad (Kit y Spyridon, 2004). Por tanto; es frecuentemente necesario, en Ingeniería de Alimentos, el analizar el color superficial de muestras alimentarias y expresar este cualitativa o cuantitativamente. Este análisis cuantitativo implicar la obtención de la distribución del color y las medias, así como su representación en forma de histogramas (Kit y Spyridon 2004).

La determinación del color se puede realizar mediante inspección visual o mediante un instrumento de medición del color, colorímetro, espectrofotómetro, entre otros. Sin embargo; a fin de llevar a cabo un análisis de color objetivo, se pueden usar estándares de color como material de referencia (León, 2006).

Por otro lado y no obstante a existir actualmente equipos para la medición del color se presentan dificultades en su aplicación al campo alimentario; entre estas se encuentra que la mayoría de los instrumentos comerciales no son adecuados para la investigación en Ingeniería de Alimentos, ya que están diseñados principalmente para el control de calidad y sólo proporcionan valores medios (Briones y Aguilera 2005; Kit y Spyridon 2004).

Entre los elementos más utilizados para medición del color en múltiples campos se encuentran los colorímetros comerciales. Sin embargo; no permiten el análisis global de la superficie del alimento, restringiéndose a medir áreas uniforme y pequeña ($<2 \text{ cm}^2$).

Es así que la medición no es representativa en materiales heterogéneos como productos alimentarios (Lunadei y col. 2011; Kang y Sabarez 2009; León, 2006). Una opción es que la muestra de alimento se homogenice mediante una trituradora o un molino para conseguir un color uniforme, pero este método destruye la información útil (por ejemplo, los patrones de color) y hace la muestra no utilizable para los estudios longitudinal en el tiempo.(Briones y Aguilera 2005; Kit y Spyridon 2004).

Ante estas dificultades se han desarrollado otros métodos de análisis, tales como los basados en sistemas de visión por computador para el análisis de color de los alimentos Kang y Sabarez (2009), Briones y Aguilera (2005) y Du y Sun (2005). Estos sistemas, como lo mostraron en sus trabajos Lunadei y col. (2011), Mendoza y col. (2007) y León (2005), han sido usados para medir objetivamente el color de diferentes alimentos debido a que permiten la adquisición de imágenes de muestras completas, que pueden ser analizadas pixel por pixel, permitiendo una medida más aproximada en cada punto de la superficie y la cuantificación de las características superficiales y defectos.

Todas las ventajas de los sistemas basados en visión por computadora muestran el gran potencial de aplicación de estas técnicas para la industria alimentaria, listándola entre las diez primeras industrias que utilizan técnicas de visión por computadora y análisis de imágenes para la evaluación objetiva y no destructiva de algunos productos alimenticios (Du y Sun, 2004).

Las limitantes de los sistemas de visión por computadora descritos en la literatura son el empleo de equipo especializado o algoritmos, no accesibles a la mayoría de los investigadores, y la dependencia de las condiciones externas a las cuales se toman las imágenes, tales como la iluminación. (Du y Sun, 2005; Kit y Spyridon 2004).

Con todo lo anterior existen interesantes trabajos relacionados con las mediciones de las propiedades de materiales alimentarios y el análisis de imágenes (Lunadei y

col.2011; Kang y Sabarez 2009; Mendoza y col. 2007; Du y Sun, 2005; Briones y Aguilera 2005; Paschos y Petrou 2003) tanto para medir las características de color u morfológicas como para relacionar estas con las propiedades del material.

En el trabajo de Lunadei y col. (2011) se mostró la capacidad de este tipo de sistemas en la medición del color durante el desarrollo de patrones de color, proceso de pardeamiento enzimático en cortes de manzana, demostrando ser un sistema capaz de convertirse en un índice de este tipo de procesos dejando de lado los indicadores bioquímicos. En el caso de esta investigación se aplicó el análisis imágenes y la representación del color en coordenadas CIElab, utilizando el valor L^* en el desarrollo de indicadores del pardeamiento.

Una reciente opción al análisis en el espacio $CIE L^*a^*b^*$ es el uso de histogramas para analizar imágenes. Esto debido a que tiene las ventajas de no ser sensitivos a la rotación, escalado y pequeñas deformaciones de los objetos e inmune al ruido. Otro merito de los histogramas, el cual atrae nuestro interés para el desarrollo de sistemas de análisis en tiempo real y sus operaciones es su gran simplicidad reduciendo significativamente los costos computacionales (Brosnan y Sun, 2004). Las buenas propiedades mencionadas arriba han llevado a muchos investigadores al desarrollo de algoritmos basados en los histogramas. Estos histogramas pueden ser utilizados directamente caracterizando a este mediante algunas de sus propiedades, tales como los picos principales, momentos, etc., o comparación de los histogramas de diferentes imágenes con fines de reconocimiento (Guoping y col. 2004; Paschos y Petrou 2003; Yoo y Il-Seok 1999).

II. FUNDAMENTO TEÓRICO

II.1. Calidad visual y cambios de color en alimentos

Los materiales alimentarios y sus productos derivados contienen sustancias, pigmentos, naturales o generadas por los procesos productivos responsables de su color característico. Los pigmentos propios de vegetales pueden estar constituidos por uno o varios de los siguientes grupos de compuestos: carotenoides, antocianinos, clorofilas y compuestos fenólicos. En el caso de frutas y hortalizas estas deben su atractivo al alto contenido en pigmentos. Es así que la preservación del color es de vital importancia para mantener la calidad de frutas y hortalizas.

Los cambios de color (Figura 1) en frutas y hortalizas pueden tener orígenes diferentes. La disminución de la pigmentación verde hacia colores amarillos, por ejemplo en lechuga puede ser el resultado de la senescencia, exposición al calor o a la acidificación; la decoloración o pardeamiento de hongos, de rodajas de manzanas y peras es provocado a través de la acción de enzimas como la polifenol oxidasa. Por otro lado, en hortalizas procesadas como, las zanahorias, es frecuentemente observar el desarrollo de una capa blanquecina, asociada a la presencia de lignina, cicatrizante natural de los tejidos (Bolin y Huxsoll, 1991), aunque también se ha vinculado a la deshidratación de las células muertas (Avena-Bustillos y col., 1994).

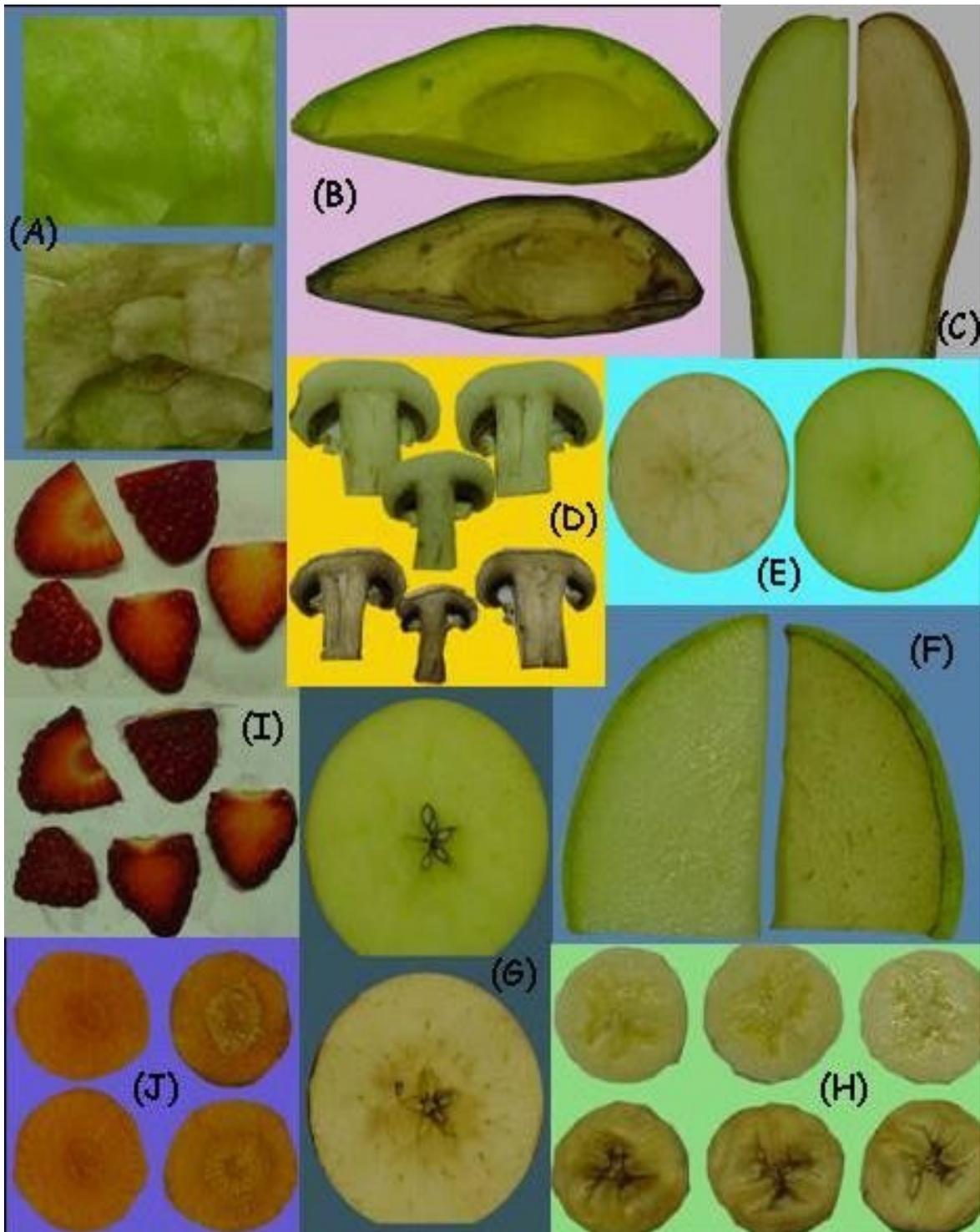


Figura 1. Algunos ejemplos de cambios en la apariencia de frutas y hortalizas, almacenadas durante 24h a 10°C.

El pardeamiento se observa en las fotos A-H; (A) lechuga var. *Iceberg*, (B) aguacate var. *Hass*, (C) pera var. *Conferencia*, (D) champiñón var. *Lange*, (E) manzana var. *Granny Smith*, (F) pera var. *Blanquilla*, (G) manzana var. *Royal gala*, (H). La pérdida de antocianos en fresa var. *Camarosa*, (I). La presencia de coloración blanca en zanahoria var. *Nantes* (J).

Fuente: Bolin y Huxsoll, 1991

Según Dorantes-Álvarez y Chiralt (2000), El color de las frutas y hortalizas frescas que han sido procesadas se ve alterado por:

- Oxidación de compuestos fenólicos catalizada por la polifenol oxidasa
- Conversión de clorofilas en feofitinas por acidificación
- Modificación de antocianos por oxidación y acidificación del medio
- El contenido de carotenos totales se afecta por acidificación y
- tratamientos térmicos suaves sólo moderadamente

II.2. Importancia comercial y medición del color

La importancia del color del producto alimentario comercial es indiscutible, pues en los puntos de venta se valora el alimento sólo por la apariencia. Es así que, generalmente, es asumido “*Si luce bien, sabe bien*”. El parámetro de calidad que contribuye a la primera impresión del producto alimentario es su apariencia visual, determinada por el color y la forma. Sólo en segundo lugar, cuando el alimento se ha evaluado con los ojos y juzgado seguro para comer, éste se valora a través de otros sentidos al saborearse, paladearse y olerse, momento en que otros componentes de la calidad sensorial, flavor y textura, se convierten en criterios de valoración. Además el producto puede ser rechazado si la impresión visual que nos produce no coincide con el estándar al que estamos acostumbrados. La cualidad del color acusa especialmente este fenómeno de rechazo (Clydesdale, 1993). Además, el color es el único criterio de elección que actúa como indicador cuantificador de la vida útil del producto (Brennan y col., 2000). También el color, es uno de los principales criterios por los que los consumidores juzgan la frescura y calidad de muchos alimentos. Es totalmente decisivo al comprar un producto. Por ejemplo, se asocia el color marrón con tejidos excesivamente maduros, heridos o almacenados por tiempo excesivo. Al contrario,

colores amarillos, verdes o rojos claros y brillantes son los preferidos (Pérez y col., 2001).

Entre las modificaciones indeseables del color sufridas en FMP, el pardeamiento es una de las alteraciones más frecuentes (Eckert, 1978). Con algunas excepciones (ciruelas pasas, dátiles y higos, entre otros), los cambios que se producen como consecuencia del pardeamiento perjudican la calidad de los frutos, tanto desde el punto de vista organoléptico como el nutricional (Brennan y Col., 2000).

a) Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es un aspecto clave en el desarrollo de nuevos productos. Sin embargo, el control rutinario de la calidad requiere la realización de medidas instrumentales que impliquen mayor comodidad, rapidez y reproducibilidad y a su vez que estén relacionadas con la percepción sensorial del producto (Brosnan y Sun, 2004).

Por tanto, frecuentemente, los resultados procedentes de las determinaciones instrumentales no se correspondan con los obtenidos sensorialmente, en lo referente a la preferencia de los consumidores, y que en ello influyen diferentes parámetros psicológicos que son difíciles de evaluar (Fennema, 2000).

Las medidas instrumentales de los parámetros relacionados con la calidad de las frutas, como por ejemplo °Brix, acidez, textura o color, se han convertido en la base de las determinaciones realizadas en este tipo de producto (Segnini., 1999). A menudo, la industria fija estándares de calidad basándose en las medidas instrumentales. Sin embargo, la relevancia de estos resultados dependerá de su correlación con los atributos sensoriales que describen a cada producto (Brosnan y Sun, 2009).

b) Aplicación de sistemas de visión artificial

Los sistemas de visión artificial se han convertido en una solución eficaz para los problemas cotidianos de control presentes en la agricultura. Los excelentes resultados obtenidos han incrementado el interés por el desarrollo de proyectos aplicados a diferentes procesos agrícolas, especialmente en las etapas de cosecha de cultivos y en el control de calidad (Brosnan y Sun, 2004). Ejemplos de estas aplicaciones son: análisis de cambios en la superficie de chocolates, Briones y Aguilera, 2005, la clasificación de gradientes de calidad en frutas, Blasco y col. 2003, clasificación de aceite de palma, Abdullah y col., 2001, clasificación de carcasas de res, Boggaard, 1996,

II.3. Pardeamiento enzimático

La alteración del color de los productos hortofrutícolas está fundamentalmente relacionada con el pardeamiento enzimático (Sapers, 1993), siendo éste uno de los principales factores que limitan la vida útil de los productos MP. Las reacciones enzimáticas en vegetales mínimamente procesados producen alteraciones sensoriales tales como mal olor, pérdida de firmeza y decoloración. El pardeamiento enzimático de la fruta se debe bien a procesos fisiológicos que tiene lugar durante la maduración, bien a procesos asociados a la recolección, o bien a tratamientos tecnológicos de postrecolección. 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 substratos, con lo que se catalizan las reacciones y se produce la formación de metabolitos secundarios no deseados (Burns, 1995). Para que el fenómeno de pardeamiento enzimático tenga lugar se requiere de la presencia de cuatro diferentes compuestos: el oxígeno molecular,

substratos apropiados, la polifenol oxidasa y la presencia de cobre en el centro activo de la enzima.

Estos factores determinan la velocidad de pardeamiento, que puede tener lugar muy rápidamente, incluso en 30 min (Laurila y col., 1998). Esta velocidad dependerá de factores tales como la concentración y actividad de la enzima, la cantidad y naturaleza de los compuestos fenólicos, pH, temperatura, actividad del agua y de la cantidad de oxígeno disponible en el entorno del tejido vegetal (Mayer, 1987). Otros factores intrínsecos que influyen en la intensidad del pardeamiento son: la especie, la variedad y el estado fisiológico de los frutos (Amiot y col., 1995).

Las especies cultivadas comercialmente importantes, como peras y manzanas, así como sus productos tales como zumos o néctares son muy sensibles al pardeamiento enzimático debido a su alta concentración en polifenoles y polifenol oxidasa. En vinos y uva, el oscurecimiento también es causa significativa de pérdida de calidad. Otras frutas particularmente sensibles a la oxidación enzimática son los albaricoques, melocotones, aguacates, plátanos, lichis o mangos, y también hortalizas como champiñones y patatas. Aparentemente, ciertas frutas como los cítricos o la piña contienen relativamente pocos substratos fenólicos, no contienen polifenol oxidasa o su actividad es tan baja que se acepta que, el pardeamiento enzimático no causa problemas de coloraciones (Robards y col., 1999). Estos problemas también se consideran ausentes en otros frutos como el melocotón variedad Sunbeam, que contienen las enzimas, pero no los substratos de reacción (Cheftel y Cheftel, 1976).

Sin embargo, la formación de este color oscuro no es siempre un inconveniente. Así, se busca un ligero pardeamiento en la maduración de los dátiles, en la preparación de la sidra, fermentación del té, secado de los granos fermentados del cacao, o en el secado

del tabaco (McEvily y col., 1992). Ya sea una consecuencia indeseable del procesado de frutas o un efecto buscado en ciertos productos, el pardeamiento enzimático es un fenómeno que caracteriza los alimentos de origen vegetal.

Se ha interpretado de varias formas la función que la polifenol oxidasa y el oscurecimiento pueden jugar en la fisiología vegetal. Cheftel y Cheftel (1976) aseguran que las reacciones de pardeamiento enzimático poseen un papel de protección contra microorganismos. En efecto, se considera que los polímeros coloreados que se forman cuando un tejido se lesiona, pueden constituir una defensa contra la penetración de microorganismos, o incluso retrasar su proliferación (Cheftel y Cheftel, 1976). Valero-Ruiz (1993) considera que la participación de la polifenol oxidasa en procesos fisiológicos tan diversos como la biosíntesis de ligninas, la esclerotización de la cutícula de artrópodos y la biosíntesis de melaninas se debe a la gran variedad de posibles substratos y la elevada reactividad de las o-quinonas, productos primarios de reacción generados por la actividad de esta enzima.

El pardeamiento enzimático no ocurre en los alimentos de origen animal. No obstante, los alimentos de origen animal sí pueden modificar su color debido a otro pardeamiento no enzimático que conlleva también alteraciones de la tonalidad en elaborados de frutas. El pardeamiento no enzimático también se conoce como reacción de Maillard, caramelización o formación de melanoidinas (Primo, 1997).

La denominación de pardeamiento no enzimático designa un conjunto de reacciones muy complejas que conducen en diversos alimentos a la formación de pigmentos pardos o negros llamados melanoidinas, así como a modificaciones, favorables o no, del olor y sabor. Los substratos de estas reacciones son compuestos carbonilo y grupos amino libres. Entre los compuestos que contienen funciones carbonilo, los más

implicados en las reacciones de Maillard son azúcares reductores, pero también intervienen el ácido ascórbico, la vitamina K, aromas naturales o productos de oxidación de lípidos. Los grupos amino que se combinan con los carbonilo provienen de aminoácidos y proteínas. La condensación entre funciones carbonilo y grupos aminos supone un descenso de la disponibilidad nutricional de amino ácidos esenciales como la lisina, así como una menor solubilidad y digestibilidad de las proteínas.

a) Enzimas responsables

El pardeamiento enzimático está mayoritariamente asociado con la acción de las polifenol oxidasas (PPO), sin embargo existen otras enzimas responsables es menor grado. La principal catalizadora de la alteración del color en los alimentos, la polifenol oxidasa (PPO) es una enzima 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 polifenol oxidasa en vegetales (Valero-Ruiz, 1993). El nivel de actividad de la PPO depende del tipo de tejido. Aunque se asume que esta afirmación es cierta, 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 (Nicolas y col., 1994).

b) Substratos de la reacción

La gran diversidad estructural y funcional característica de los compuestos fenólicos y polifenoles ha dificultado la tarea de definir este extenso conjunto de sustancias naturales a las que se agrupó por el hecho de poseer un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo, como queda reflejado literalmente en su nomenclatura. Esta definición, basada en la estructura bioquímica, no se ajusta por varios motivos a la

totalidad de compuestos que tradicionalmente se consideran polifenoles. En primer lugar, existen compuestos fenólicos que ni siquiera contienen un anillo aromático, como el ácido shiquímico, el ácido quínico y el elenólico (Figura 2). En segundo lugar, la denominación de “poli”fenoles no es acertada porque no todos ellos son derivados polihidroxilo; por ejemplo, el ácido gálico, el ácido ferúlico y el sinápico junto con el ligstrósido son compuestos que tan sólo poseen un grupo –OH.

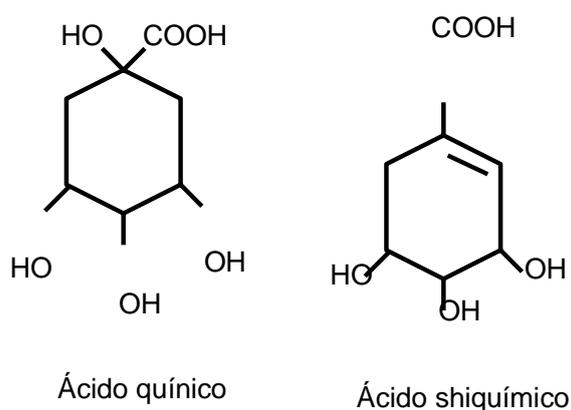


Figura 2. Estructuras del ácido quínico y el ácido shiquímico

Fuente: Adaptado de Cheftel y Cheftel (1976)

c) Mecanismo y productos de reacción

El pardeamiento enzimático puede contemplarse como una transformación que conlleva dos etapas, una catalizada por enzimas y otra posterior no enzimática. La primera fase enzimática se traduce en una conversión de monofenoles en quinonas. Esta transformación tiene lugar en dos pasos: hidroxilación de monofenoles en o-difenoles, y oxidación de estos o-difenoles a o-quinonas, que corresponden a las dos actividades consecutivas realizadas por la polifenol oxidasa (Figura 3). Se necesita aquí oxígeno molecular, indispensable para que actúe la enzima.

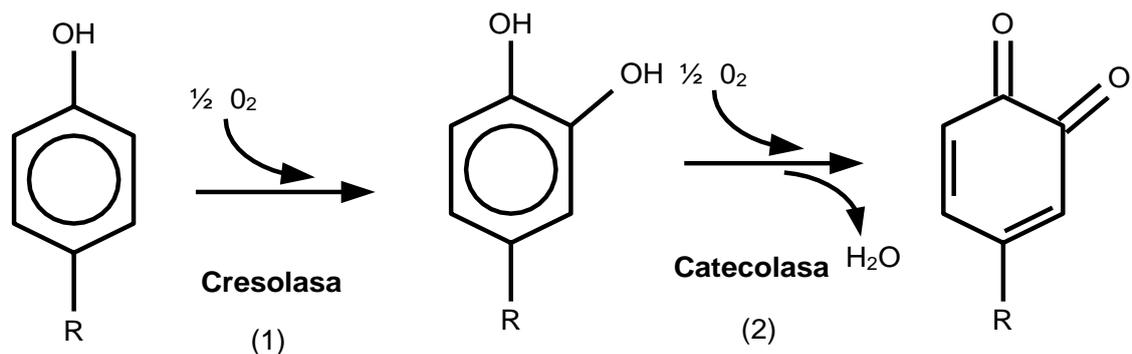


Figura 3. Reacciones catalizadas por la polifenol oxidasa

Fuente: Adaptado de Walker (1977)

Existen compuestos fenólicos, como los glicósidos de flavonoles y antocianinas, que no son substrato de la polifenol oxidasa pero sí son igualmente degradados; esto ocurre en reacciones posteriores acopladas (Robards y col., 1999). El primer producto de la oxidación enzimática son las oquinonas.

Estas moléculas tienen diferentes propiedades espectrales y su color depende básicamente del pH y del fenol que lo origina. Así por ejemplo, tras la oxidación, la catequina es amarilla brillante con un máximo de absorbancia a 380 nm, el ácido clorogénico es amarillo anaranjado suave con su máximo a 420 nm, y la o-dihidroxifenilalanina es rosa con el máximo cercano a 480 nm (Nicolas, 1994). Las reacciones que se suceden a partir de las o-quinonas son similares sin reparar en si la quinona se formó enzimáticamente o por oxidación no enzimática. La única diferencia real entre estas dos posibles vías es cinética, pues enzimáticamente el pardeamiento siempre ocurre a mayor velocidad (Robards y col., 1999).

La segunda fase del pardeamiento, que no es de carácter enzimático, presenta mayor complejidad, pues las o-quinonas producidas en la primera fase son inestables en disolución acuosa e increíblemente reactivas. Para entender cómo se desencadena el oscurecimiento se han empleado, en combinación con otros métodos analíticos,

soluciones modelo que contienen uno o dos compuestos fenólicos. Estas soluciones modelo han sido especialmente útiles para establecer los productos resultantes de la oxidación.

Las quinonas reaccionan con el agua y dan trihidroxibencenos; éstos reaccionan posteriormente con otras quinonas para formar hidroxiquinonas, que en realidad son la base de una condensación oxidativa, donde todavía se consume oxígeno, que conduce a polímeros del tipo que presenta. Además de reaccionar consigo mismas para formar melaninas y polímeros, las o-quinonas se pueden transformar combinándose con compuestos no fenólicos como los que muestra la

Figura 4:

- Aniones inorgánicos
- Grupos tiol
- Grupos amino de aminoácidos y proteínas
- Agentes reductores

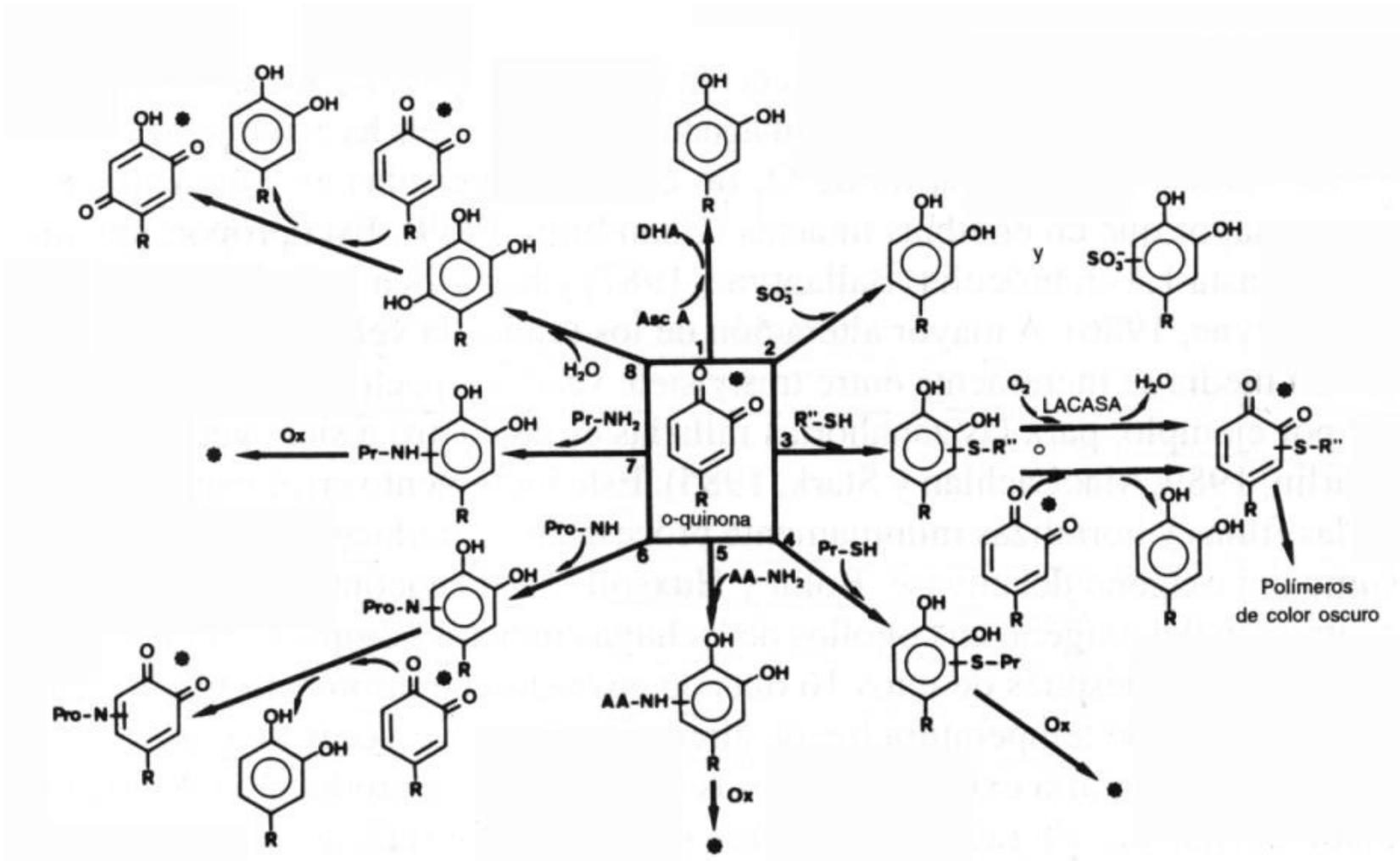


Figura 4. Reacciones de las *o*-quinonas con compuestos no fenólicos

(Nicola., 1994).

Estas reacciones pueden ocurrir por oxidación no enzimática debido a que en el medio existen compuestos cuyo potencial redox es inferior al de las quinonas (NADH₂, ácido ascórbico, glutatión reducido, cisteína y antocianos entre otros) (Cheftel y Cheftel, 1976). Hablamos entonces de oxidaciones acopladas. Es el caso de la oxidación de vitamina C que implica pérdida de valor nutritivo. La reacción entre las quinonas, producidas en la primera etapa enzimática del pardeamiento, y esta vitamina soluble concluye con la regeneración del fenol y la formación de ácido dehidroascórbico. También las quinonas son capaces de combinarse por adición con grupos amino de aminoácidos y péptidos, por ejemplo con serina, prolina y cisteína, bien libres o bien ligadas a largas proteínas, resultando compuestos no tan oscuros como las melaninas (Nicolas, 1994).

d) Factores que condicionan el proceso de pardeamiento

Existe gran heterogeneidad en los resultados de las publicaciones referentes a parámetros que afectan a la actividad enzimática de la polifenol oxidasa (pH óptimo, latencia, especificidad por el substrato, etc.) entre especies y dentro de la misma especie, entre variedades y diferentes estados de desarrollo (la actividad enzimática es más elevada en frutos jóvenes que en los maduros), aunque la causa de estas diferencias pueda deberse exclusivamente a los diferentes resultados de la extracción y purificación de la polifenol oxidasa, cuya metodología no ha sido muy homogénea hasta la fecha (Robards y col., 1999).

Las posibles vías bioquímicas de pardeamiento que comprenden la degradación de o-quinonas dependen del pH, el fenol implicado, la concentración relativa de reactivos y la cantidad de oxígeno disponible (Primo, 1997). Se ha publicado frecuentemente que el pH óptimo para la actuación del enzima comprende valores entre 5.0 y 7.0, mientras que en arándanos se ha estimado que este pH óptimo ronda un valor de 4.0 (Robards y col., 1999).

Ashie y col. (1996) afirmaron que generalmente las polifenol oxidasas procedentes de varias fuentes son inactivadas a valores de pH inferiores a 4. El factor pH es determinante en el pardeamiento enzimático. La intensidad y cromatismo resultante del oscurecimiento varían ampliamente dependiendo del fenol precursor y de las condiciones químicas ambientales, entre ellas el pH (Nicolas, 1994). Así para las quinonas surgidas del 4-metilcatecol pueden observarse varias vías de reacción. A pH ácidos, tras la hidroxilación, siguen oxidaciones acopladas con otra o-quinona y se regenera el metilcatecol de partida. Sin embargo, con valores de pH más altos se favorecen las reacciones de polimerización (Robards y col., 1999) y con ellas, lógicamente, los colores oscuros, pardos. Por otro lado, la eficiencia de los antipardeantes depende estrechamente del pH (Janovitz-Klapp y col., 1990a). Algunos trabajos han puesto de manifiesto, que el pardeamiento enzimático aumenta con la actividad de agua en el caso de la uva (Cheftel y Cheftel, 1976) y observaciones peculiares, como que durante la recolección del champiñón la disminución en el tamaño del estípite, reduce el pardeamiento enzimático, aunque se desconoce el mecanismo de este hecho (Ashie y col., 1996).

II.4. Control del pardeamiento enzimático

Los diferentes métodos desarrollados para controlar, minimizar o inhibir el proceso de pardeamiento enzimático suelen ser preventivos. Se pueden describir de dos maneras diferentes los múltiples métodos de inhibición que se han utilizado o ensayado para limitar el pardeamiento enzimático en vegetales.

La primera corresponde a la típica descripción de procedimientos de inhibición enzimática, que comprende cuatro categorías según si la práctica inhibitoria actúa sobre la enzima, el sustrato, la disponibilidad de O₂ o sobre los productos de la reacción, bien según el tipo de control que ejerzan, inhibición química y/o física. La segunda atiende al

modo en que los tecnólogos de alimentos acostumbramos a ordenar los métodos de conservación de los productos alimentarios, esto es, distinguiendo entre: métodos físicos de conservación como los térmicos, y métodos químicos de conservación como la adición de productos químicos. El modo de descripción seguido es este último, ya que suele ser más práctica si se considera que, por ejemplo, algunos inhibidores químicos pueden actuar simultáneamente sobre varios de los componentes de la reacción y serían de muy difícil clasificación.

a) Métodos físicos

El creciente interés por parte del consumidor a tratamientos alternativos a la aplicación de agentes químicos, ya que son considerados gran parte de ellos como perjudiciales para el hombre y el medio ambiente ha creado la necesidad de buscar alternativas a su aplicación. Entre las innovaciones más destacadas en este campo, además de la aplicación de calor y la conservación en refrigeración, podemos citar la conservación bajo una atmósfera variable, controlada y programada y los recubrimientos comestibles.

a.1) Tratamientos térmicos

El tratamiento térmico es generalmente considerado como el método más efectivo para la inactivación de la PPO y, consecuentemente para la inhibición del pardeamiento (Fennema, 2000).

Las técnicas convencionales actuales para prevenir el pardeamiento incluyen los métodos de autoclave y escaldado con temperaturas de 75-95 °C por tiempos de 1 a 10min, dependiendo de los requerimientos de los productos y procesos. Estos procesos convencionales están inherentemente relacionados a importantes pérdidas de peso y calidad nutricional del producto (Krokida, 2001).

a.1.1) Aplicación de alta temperatura

El tratamiento de inactivación enzimática por calor causa la desnaturalización de proteínas y ha sido uno de los más estudiados, ya que con este es posible observar el comportamiento de la enzima expuesta a distintas temperaturas. La desnaturalización de las enzimas es provocada por numerosos factores, usualmente es irreversible y se ajusta a una cinética de primer orden (Fennema, 2000). A pesar de la eficacia del tratamiento térmico, normalmente su utilización sólo se recomienda cuando se trata de inhibir el pardeamiento en frutas o vegetales que son destinadas a congelación y a producciones en conserva debido a los efectos de cocción, causantes de pérdidas de textura y al desarrollo de reacciones de pardeamiento no enzimático (Ashie y col., 1996). Sin embargo, existen algunos trabajos donde se ha estudiado la aplicación de tratamientos térmicos de baja intensidad en pera mínimamente procesada mediante la inmersión en soluciones isotónicas a bajo pH (2.5) o por la exposición a vapor (Luo, 1994). En el primero de estos estudios, se observó que con los tratamientos de inmersión a temperatura de 95°C durante 3 min se obtiene una buena estabilidad enzimática y microbiológica durante el almacenamiento del producto, manteniendo una textura aceptable. A través de estudios previos de viabilidad, se puede llegar a determinar las condiciones adecuadas de procesado térmico que reduzcan al máximo las pérdidas de calidad, con la obtención de resultados viables, si el grado de sensibilidad del producto al calor es aceptable. También, se ha utilizado con éxito un pre- tratamiento térmico (45°C durante 2h) aplicado en manzanas antes del corte para disminuir el pardeamiento enzimático una vez procesadas en rodajas (McEvity y Col., 1992).

a.1.2) Empleo de bajas temperaturas

Una de las medidas normalmente usadas para controlar la actividad enzimática de productos frescos es el uso de bajas temperaturas durante el manejo, el procesamiento y el almacenamiento de frutas y hortalizas MP. A temperaturas bajas, no sólo se reducen o inactivan las actividades enzimáticas que son responsables del pardeamiento, de manera que se preserve la calidad del producto, sino que además las velocidades metabólicas disminuyen significativamente, ambas disminuciones contribuyen a incrementar la vida útil del producto. Asimismo, durante el procesamiento total de frutas y hortalizas MP, es decir desde su recolección hasta su venta, resulta ineludible el mantenimiento de bajas temperaturas para moderar o impedir el desarrollo de microorganismos (McEvity y Col., 1992).

a.1.3) Ondas electromagnéticas

El principio básico del calentamiento mediante microondas es debido a la interacción de moléculas polares con el componente eléctrico del campo electromagnético, lo que genera calor debido a la fricción producida cuando las moléculas intentan orientarse en el interior del campo oscilante. El agua y las sales son los principales determinantes de la absorción de las microondas en la mayoría de los sistemas alimenticios (Murata, 2001). El efecto de la energía de microondas en la inactivación enzimática ha sido generalmente atribuido a efectos térmicos, aunque hay alguna evidencia de efectos no térmicos (Robards y Col., 1999). Estos últimos efectos son considerados como controvertidos, ya que la energía asociada a las microondas es varios órdenes de magnitud menor que la requerida para romper enlaces covalentes. Sin embargo la energía de microondas puede romper interacciones moleculares como los puentes de hidrógeno entre la proteína y moléculas de agua asociadas a su estructura. Sin embargo, son necesarios más estudios para determinar

si los índices de inactivación más rápidos al usar microondas son debidos a efectos térmicos o no-térmicos. El efecto inhibitorio de las radiaciones de microondas sobre la PPO sí ha sido objeto de varias investigaciones. En el control del pardeamiento de rodajas de plátano, el tratamiento de inactivación a 650 W durante 2 minutos mostró grandes variaciones de eficiencia según la madurez del producto tratado. Con un tratamiento a 475 W durante 60 segundos se obtuvo una inactivación del 70% de la PPO en purés de kiwi y fresa. La disminución de la actividad polifenol oxidasa en ambos productos fue casi lineal a la potencia utilizada en el tratamiento. No obstante, el color de los productos tratados térmicamente con microondas se modificó como consecuencia de la alteración que la radiación provocó sobre las clorofilas en kiwi y sobre los antocianos en fresa (Ancos y col., 1999). En el caso de champiñón, se ha propuesto un tratamiento combinado con microondas y baño de agua caliente para conseguir satisfactoriamente la completa inactivación a tiempos cortos de la PPO (Sapers, 1993).

a.2) Aplicación de tecnologías no térmicas

En un contexto en el que el consumidor demanda productos más naturales, mínimamente procesados y exentos de agentes químicos potencialmente perjudiciales para él y el medio ambiente, los métodos no-térmicos tienen su actuación.

a.2.1) Reducción de la disponibilidad de oxígeno

El modo más satisfactorio de inhibir el pardeamiento enzimático es eliminando por completo el oxígeno. Esto puede obtenerse por desoxigenación a vacío, borboteo de nitrógeno o apelando a la acción combinada de la glucosa oxidasa y la catalasa (Cheftel y Cheftel, 1976). Sin embargo, es importante considerar que el oxígeno es un requisito de los tejidos vivos. En el caso de sólidos, como las porciones de frutas y hortalizas, la eliminación del oxígeno más sencilla es por inmersión en soluciones como jarabe,

salmueras o agua para retardar la difusión del oxígeno. Sin embargo, el tejido pardeará cuando entre en contacto nuevamente con el aire. Además, durante el tiempo el cual en el que el tejido está inmerso, el equilibrio osmótico puede producir una pérdida de solutos y la imbibición de la solución de inmersión, en algunas ocasiones no deseada. Otra alternativa sería el envasado del producto en atmósfera inerte. Pero el desarrollo de metabolismo anaerobio alteraría las propiedades organolépticas de las frutas hace este tratamiento inaplicable. Frecuentemente se usan atmósferas modificadas para la comercialización de frutas y hortalizas MP.

- **Atmósferas modificadas**

El confinamiento en atmósferas modificadas resulta ser la tecnología idónea del envasado de los productos vegetales mínimamente procesados. Ésta es una técnica aplicada a alimentos metabólicamente activos, los cuales son reclusos en una atmósfera esencialmente empobrecida en O₂, entre el 2 y el 8%, y enriquecida en CO₂ entre el 5 y 15% con respecto al aire respirable (Sapers, 1993). La inyección de mezclas conocidas de gases (O₂, CO₂, CO y/o N₂) o la generación interna de atmósferas, por parte de la interacción producto-envase prolonga generalmente la vida útil (Cheftel y Cheftel, 1976) La modificación de las concentraciones relativas de ambos gases resulta posible, económica y fácil mediante el empleo de envases sellados, herméticos y fabricados con polímeros de permeabilidad selectiva a los gases (Robards y col., 1999). Al disminuir la concentración de O₂ se inhiben o reducen las reacciones enzimáticas del pardeamiento, y al aumentar la concentración de CO₂ se inhibe la síntesis de metabolitos fenólicos. La excesiva producción de CO₂ (>10%) por parte del metabolismo propio de las FMP o por inyección, dan lugar a la atenuación de sabores y olores característicos, mientras que bajas concentraciones de O₂ (<5%) promueven la creación de medios anaerobios, que conllevan

la formación de metabolitos de fermentación indeseables tales como etanol y acetaldehídos (Valero-Ruiz, 1993).

Se debe tener siempre presente que la acción sinérgica del frío y de la atmósfera modificada, ya que bajo condiciones adecuadas, inhibe el desarrollo fúngico y bacteriano. En casos muy excepcionales, esta combinación de tratamientos tiene efectos letales significativos sobre los microorganismos.

- **Recubrimientos comestibles**

Otro posible método de envasado para evitar el pardeamiento en frutas MP es la aplicación de películas o recubrimientos, que son considerados como ingredientes o aditivos alimentarios dependiendo de la actividad que desempeñen. Su función primordial es la de estabilizar y extender la vida útil de frutas MP. Los diferentes tipos de recubrimientos poseen en su mayoría la función de crear una micro-atmósfera controlada que restringe el intercambio de gases. Esto conlleva la limitación de entrada al O₂, una disminución de la tasa de respiración, retraso en la producción de etileno, reducción en las pérdidas de humedad y de compuestos volátiles deseables (Robards y col., 1999). Generalmente los compuestos utilizados para la formulación de los distintos tipos de recubrimientos son: lípidos, proteínas, polisacáridos e hidrocoloides, entre otros. Además, una ventaja adicional de los recubrimientos comestibles es que pueden utilizarse como soporte para determinados agentes antioxidantes y acidulantes y también de fungicidas y bactericidas (Sapers, 1993) que pueden coadyuvar en la prevención del pardeamiento y del crecimiento de microorganismos, respectivamente.

Los cambios en la temperatura y humedad relativa durante el almacenamiento tienen efectos significativos tanto en las propiedades de los recubrimientos, en lo que concierne al

intercambio y/o formación de barreras para gases, como en el grado de adhesividad con el producto que se desea recubrir (Nicolas, 1994).

a.2.2) Irradiación

La aplicación de irradiaciones (radiación ionizante) a frutas y a hortalizas se emplea para la desinfestación de insectos y control de enfermedades, así como para retardar la maduración, el crecimiento y la germinación, como en el caso de los tubérculos. Recientemente, la irradiación ha sido propuesta como método para la obtención de frutas y hortalizas mínimamente procesadas (Ke y col., 1991).

Parece que las actividades enzimáticas que provocan la degradación del tejido vegetal como lo son la poligalacturonasa, la pectilmetilesterasa y la betagalactosidasa se ven reducidas por la aplicación de irradiación en rebanadas de papaya (Sapers, 1993).

La aplicación de tecnologías denominadas alternativas están siendo investigadas actualmente por los tecnólogos de alimentos, e incluyen tratamientos de altas presiones o pulsos eléctricos entre otros.

a.2.3) Altas presiones

Se trata de una técnica prometedora ya que inactiva microorganismos y enzimas dejando las propiedades nutritivas y la calidad del alimento prácticamente intactas. Provoca una inactivación enzimática irreversible, y por lo tanto, es una alternativa a la elevación de temperatura. Pero debe tenerse en cuenta que el pH, la adición de solutos, azúcares u otros compuestos y la temperatura a la que se procesa condicionan los parámetros del tratamiento con altas presiones (Sapers, 1993). A partir de ahora podemos hablar ya, al igual que de la termosensibilidad o termoestabilidad de las enzimas, de su estabilidad frente a altas presiones.

Además de la inactivación de la PPO por altas presiones, también se ha observado una inducción de la actividad enzimática estimulada por bajas presiones tanto en manzana y pera, como en fresa o cebolla (Pérez y col., 2001).

a.2.4) Pulsos eléctricos

El uso de campos eléctricos pulsantes es una reciente tecnología que se ha planteado para la inactivación de microorganismos y de enzimas, donde se da un aumento mínimo de temperatura con lo cual es conservada la calidad nutricional de los productos. Los productos alimenticios se comportan como conductores eléctricos por su alta concentración de iones y su capacidad para transportar cargas eléctricas. El mecanismo de inactivación se basa en la electroporación de la membrana celular, es decir, en la rotura eléctrica de la membrana (Dovenspeck, 1960). La aplicación de campos eléctricos pulsantes genera estrés y desestabiliza la membrana celular (Zimmermann, 1986; Jin y col., 1998), y en algunos casos el daño en la membrana celular es irreversible (Calderón-Miranda y col., 1999). Esta lesión altera los procesos de transporte de iones (Kim y col., 2001) y cambia la conformación de la estructura de las enzimas (Vega-Mercado y col., 1997) con esta técnica se han conseguido diferentes porcentajes de inactivación (30 al 99%) de enzimas responsables de importantes alteraciones en alimentos tales como tripsina, lactato deshidrogenasa, galactosidasas, plasminas, proteasas, fosfatasa alcalina, lipasas, glucosa oxidasa, -amilasa, peroxidasa, polifenol oxidasa, pectin metilesterasa y papaina (Vega- Mercado y col., 1997; 2001; Ho y col., 1997; Yeom y col., 1999; Giner y col., 2000; Castro y col., 2001; Palomeque y col., 2001; Van Loey y col., 2002). Dichos niveles de inactivación enzimática son considerados el resultado de los cambios en las estructuras secundarias y terciarias de las proteínas, que modifican ciertas uniones moleculares en los centros activos y la configuración globular. Concretamente en el caso de nuestro producto (Giner y col., 2000) expusieron extractos enzimáticos de pera (var. Blanquilla) y

melocotón (var. Miraflores) a campos eléctricos pulsantes obteniendo una inactivación del 62 y 70% respectivamente.

b) Métodos químicos

La metodología más extendida para evitar el pardeamiento consiste en la utilización de agentes químicos que actúan como inhibidores, interaccionando directamente sobre las enzimas, los substratos o los productos de las reacciones enzimáticas. La existencia de compuestos químicos que poseen propiedades antipardeantes ha llevado al desarrollo y aplicación de métodos adecuados para la disminución del pardeamiento en FMP. Su aplicación está reglamentada por los organismos correspondientes (FAO/OMS; Codex Alimentarius, FDA, etc.) y su dosificación o aplicación están restringidos total o parcialmente en algunos de ellos, por consideraciones toxicológicas y/o impactos organolépticos en sabor, aroma, color y textura. También existen agentes considerados antipardeantes que no tienen aplicación industrial debido a su poca disponibilidad comercial, a un alto costo o a un método de aplicación no rentable. Un agente antipardeante apropiado es un factor clave para permitir la industrialización de FMP sin la necesidad del uso de otros métodos de control.

Con las desventajas mostradas por parte de los sulfitos en el ámbito de la salud humana surge la necesidad de encontrar nuevos agentes que actúen sobre componentes implícitos en el fenómeno de pardeamiento y que sean seguros para los consumidores (Fennemna, 2000). Recientemente, se han encontrado diversos productos naturales que actúan como agentes antipardeantes, con los que se han obtenido resultados satisfactorios en la reducción del pardeamiento y del deterioro organoléptico de varias frutas y hortalizas MP (Lu, 2007). Se han recopilado aquellos que presentan un mayor potencial de uso en la industria de frutas mínimamente procesadas (IFMP), junto con su función en el producto y

mecanismo de acción. La forma de aplicación más extendida es la inmersión de la fruta en disoluciones que contengan estos compuestos, aunque algunos de estos aditivos pueden aplicarse más eficientemente por infiltración a presión (Luo, 1997).

Los antipardeantes se pueden clasificar según actúen sobre la enzima, sobre los substratos o sobre los productos de reacción, y su efecto puede ser temporal, irreversible o reversible (Murata, 2001). Cada compuesto posee con respecto a la acción antipardeante, sus puntos fuertes y débiles, en términos de efectividad variable, disponibilidad, seguridad y costo, siendo su efectividad altamente dependiente del tipo de sistema al que se pretenda proteger (Sapers, 1987).

Los compuestos utilizados como antipardeantes actúan como agentes antioxidantes, quelantes o como acidulantes. Los ácidos policarboxílicos (cítrico, málico, tartárico, oxálico y succínico), polifosfatos, el EDTA y otras macromoléculas como proteínas y porfirinas se utilizan para secuestrar el cobre del centro activo del enzima. Bajando el pH, con agentes acidulantes, a valores inferiores a 3 también se inhibe la acción de la enzima, aunque el control del pH en frutas es complejo, ya que se puede alterar el tejido y causar rupturas celulares que derivan en la potenciación del pardeamiento junto con la aparición de sabores residuales (Sapers, 1987). Los agentes reductores o antioxidantes actúan reduciendo las quinonas, los difenoles o formando con las quinonas productos de adición menos coloreados.

Tabla 1. Aditivos de interés para el procesamiento de FMP

Compuesto	Clasificación	Función	Mecanismo de Acción
4-hexilresorcinol (4-HR)	E586 ¹⁾	Agente de retención de color y antioxidante	Inhibición directa de la enzima
Ácido ascórbico (AA) y su sal (NaA)	E300 ¹⁾ 1611 ²⁾	Antioxidante	Reduce o-quinonas a difenoles incoloros de baja reactividad
Ácido isoascórbico (ácido eritórbico ER) y su sal (NaE)	E315 ¹⁾ 2057 ²⁾		
Etilendiami-notetraacético (EDTA)	E386 ¹⁾ 405 ²⁾	Antioxidante, conservante sinérgico y secuestrante.	Quelante del centro activo Cu ⁺⁺
Propionato cálcico	E282 ¹⁾ 1817 ²⁾	Conservador	Antimicrobiano de superficie (antimohos)
Cloruro de calcio	E509 ¹⁾ 1792 ²⁾	Agente de firmeza regulador de acidez	Formación de pectatos de Calcio insolubles
Lactato de calcio (LC)	E327 ¹⁾ 1804 ²⁾		
Ácido cítrico (AC)	E330 ¹⁾ 1937 ²⁾	Antioxidante, regulador de acidez y secuestrante	Acidulante del medio y secuestrador de iones metálicos (Cu ⁺⁺)
Ácido Oxálico (AO)	-----	Secuestrante y regulador de acidez	
L-cisteína L-cistina (Acis)	284 ²⁾ 287 ²⁾	Antioxidantes sulfhidrilos	Reduce o-quinonas a difenoles de baja coloración
Ácido tartárico	E334 ¹⁾ 1617 ²⁾	Antioxidante sinérgico, regulador de acidez y secuestrante	Acidulante del medio
Sorbato de potasio (KS)	E202 ¹⁾ 2606 ²⁾	Conservante	Antimicrobianos (fungicidas)
Benzoato de sodio	E211 ¹⁾ 2725 ²⁾		

Fuente: Adaptado de Pérez y col. (2001)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III.1. Materiales

La labor experimental de la presente tesis se desarrollo en los ambientes del Laboratorio de Ingeniería de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias en la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; contando, para el desarrollo de la labor experimental, con los siguientes materiales:

a) Materia prima

Muestras de manzanas Var. Granny Smith, adquiridas en el mercado local de la ciudad de Chachapoyas y determinando visualmente que estas muestras se encuentren en estado de madurez comercial.

b) Material de vidrio

- Placas Petri de 150 x 25 mm.
- Termómetro de mercurio de -10 a 120 °C.

c) Reactivos

- Agua oxigenada, 5 %.
- Bisulfito de sodio (NaHSO₃), grado reactivo.

d) Equipos

- Congeladora 87.0 cm x 151.0 cm x 68.5 cm, rango de temperatura de -20 a 5 °C.
- Equipo de sistema de visión computacional, véase detalles en el anexo A-1
- Estufa de secado, 10 a 120 °C.

e) Otros

- Cronometro digital
- Cocina eléctrica, 200 Watts.
- Cuchillos
- Jarras 1 L
- Ollas de aluminio.
- Balanza analítica.

III.2. Métodos

Los objetivos específicos, cuya consecución permitió lograr el objetivo principal “Estudiar la influencia de la temperatura y el tipo de pre-tratamiento en el color de rodajas de manzana Var. Granny Smith, durante el proceso de pardeamiento enzimático” de la presente tesis, fueron:

- a *Aplicación de diferentes condiciones de temperatura y pre-tratamiento a rodajas de manzana para analizar el pardeamiento enzimático.*
- b *Extracción de información del color durante el proceso de pardeamiento enzimático.*
- c *Relacionar los cambios en el color, la temperatura y el pre-tratamiento*

Por tanto el procedimiento metodológico utilizado para lograr cada uno de dichos objetivos se describe a continuación:

a) **Aplicación de diferentes condiciones de temperatura y pre-tratamiento a rodajas de manzana para analizar el pardeamiento enzimático.**

- *Recolección de muestras*; las muestras fueron adquiridas en el mercado local, realizando inspección visual del estado de calidad, fotografías en el anexo A-2.
- *Preparación de muestras*; las muestras fueron lavadas frotando estas bajo el agua, luego se cortaron discos de 0.5 cm de espesor, en sentido transversal al eje y a media altura del mismo, **Figura 5**, fotografías en el anexo A-3.

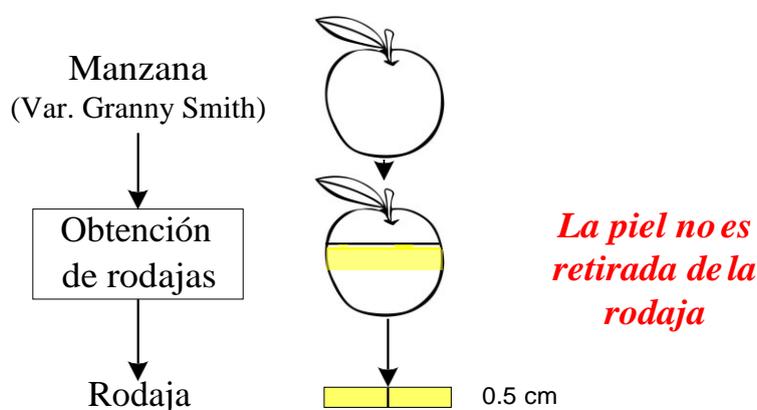


Figura 5. Obtención de rodajas de manzana

- *Pre-tratamiento*; las muestras fueron pre-tratadas según como se describe en los siguientes puntos
 - o Muestra sin tratamiento.
 - o Muestra escaldada, a temperatura de 70 °C, por 1 minuto¹.
 - o Muestra sulfitada, inmersión por 1 minuto en solución de bisulfito de sodio 0.05 g/100 ml.

Los pre-tratamientos, previamente planteados en el proyecto de la presente tesis se plasman a continuación:

¹El tiempo de escaldado se determinó mediante prueba cualitativa de la acción de catalasa y peroxidasa, reacción con peróxido de hidrógeno.

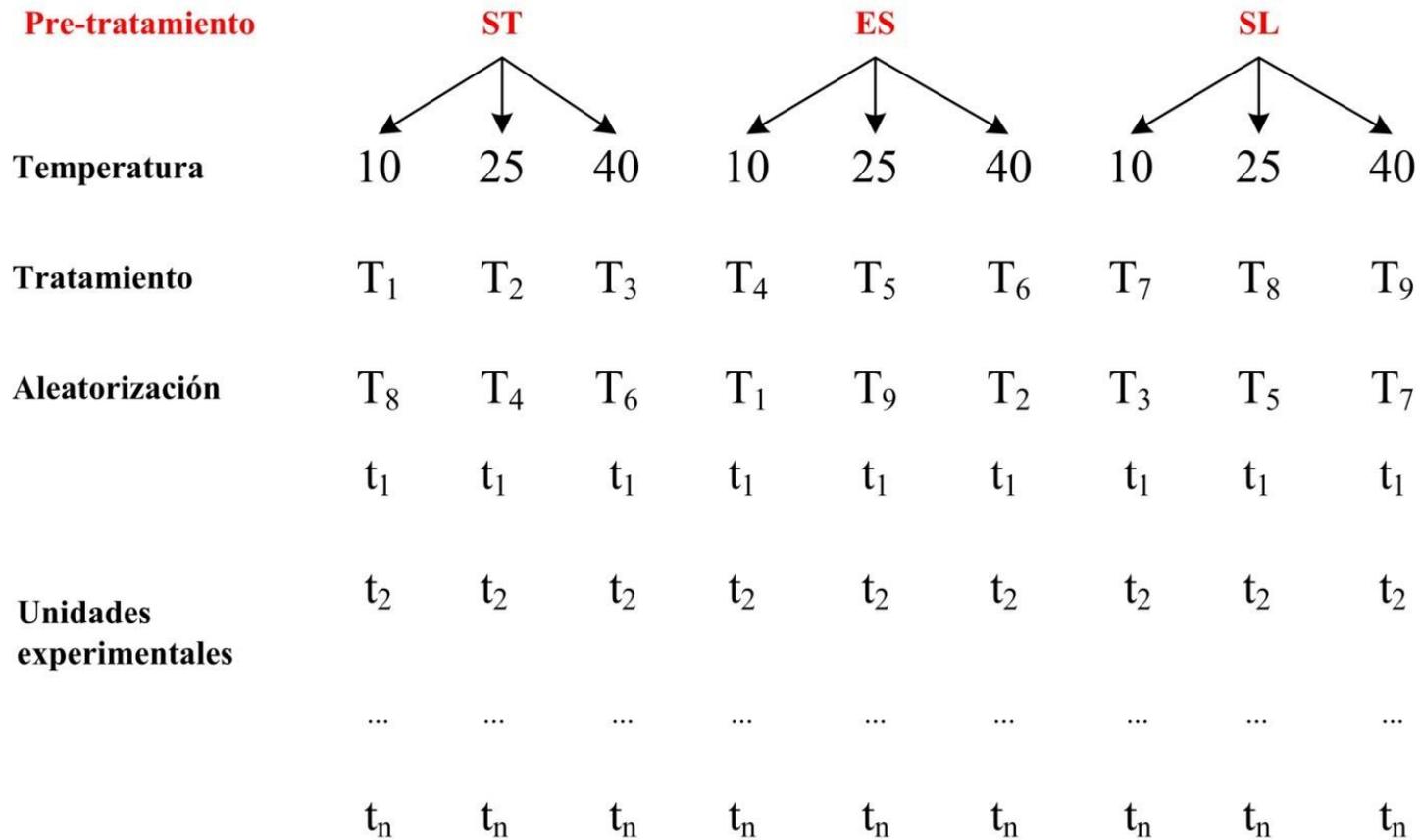


Figura 6. Esquema experimental para la determinación de la influencia del tipo de pre-tratamiento y la temperatura en el color de rodajas de manzana var. Granny Smith durante el proceso de pardeamiento enzimático.

- *Adquisición de imágenes*; las muestras fueron ubicadas en el sistema²de adquisición de imágenes, mostrado en la siguiente figura MMM, registrando imágenes cada 30 minutos hasta alcanzar 4 horas.

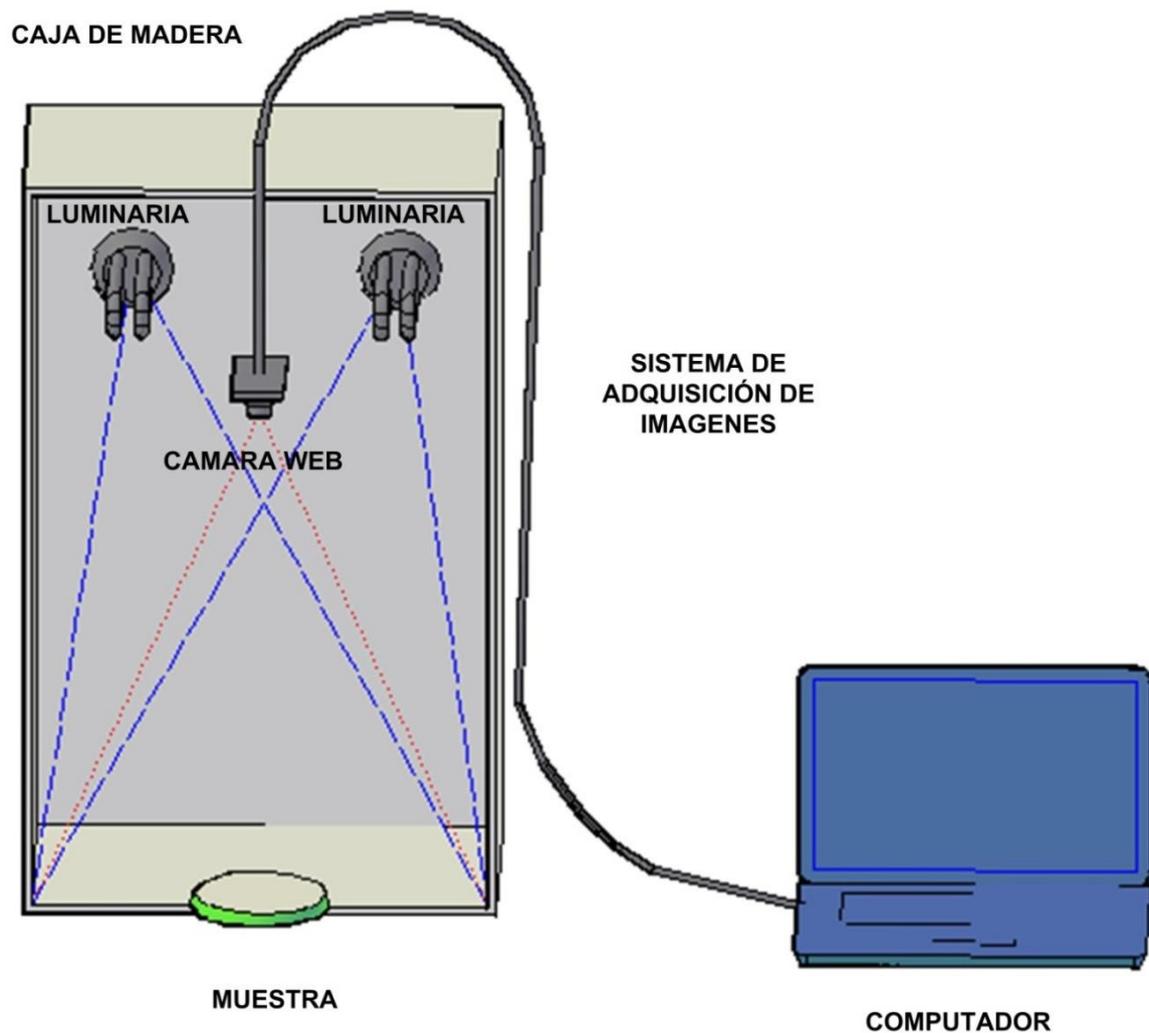


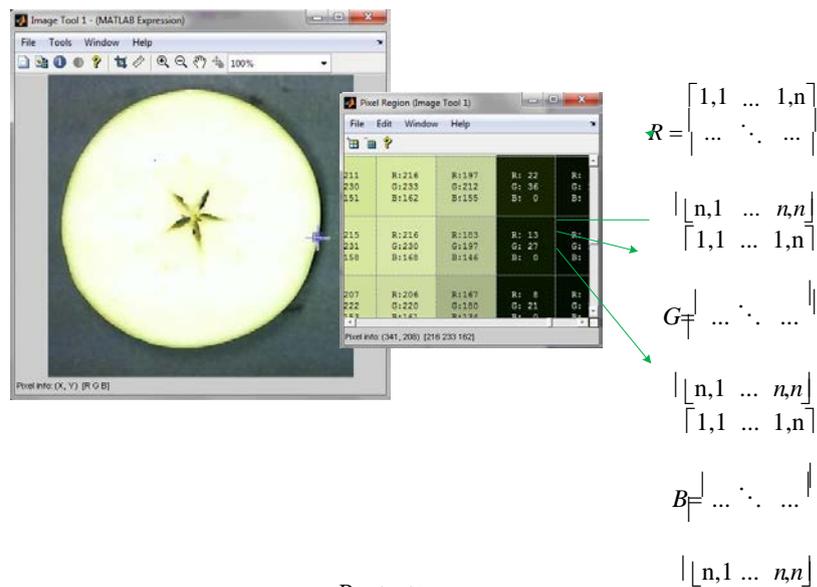
Figura 7. Sistema de adquisición de imágenes

²El sistema está constituido por elementos físicos y elementos informáticos; la parte física se diseñó con el fin de distribuir proporcionalmente los haces de luz sobre la superficie de la muestra y los no incidentes sean absorbidos. En cuanto al software, este fue modificado a partir del desarrollado por Huamán y Saldaña. (2012), a fin de obtener una adecuada separación de los elementos de interés, paso necesario para proceder a la determinación de los parámetros de color.

b) Extracción de información del color durante el proceso de pardeamiento enzimático.

- *Determinación de parámetros de color;* para el desarrollo de esta etapa se utilizó el software proporcionado por Huamán y Saldaña (2012), fotografías en el anexo C, el cual separa las labores de determinación de los parámetros de color en los siguientes pasos:

- *Pre-procesamiento de imágenes.* Las imágenes, en formato .JPG, son cargadas a la computadora, en forma de matriz tridimensional. Matemáticamente esta matriz puede representarse tal como se muestra en la figura inferior. A partir de esta matriz se aíslan los elementos de interés, imagen del tomate, del fondo determinando que pixeles contienen la información de color y morfología. Esta información es guardada en memoria de operación para su posterior análisis.



Por tanto

$$JPG = [R] + [G] + [B]$$

Figura 8. Representación matricial de imagen en formato *.JPG

Las imágenes almacenadas fueron pre-procesadas, a fin de eliminar el fondo de la imagen y permitir una adecuada segmentación, aislamiento de los elementos de interés. Los programas, en lenguaje “.m”, fueron proporcionados por Huamán

y Saldaña (2012), cuyo detalle del algoritmo se aprecia en el Anexo 1

y su resultado al aplicarse en el presente trabajo de investigación se puede apreciar en la siguiente figura.



Figura 9. Resultado de la aplicación del algoritmo de segmentación

- o *Determinación de parámetros de color.* Los parámetros de color fueron obtenidos mediante las funciones propuestas por Huamán y Saldaña (2012). Esta función analiza el color de la imagen obtenida al aplicar la función de segmentación. En dicha imagen al ser, esencialmente, una matriz tridimensional el valor de los pixeles que conforman la matriz se encuentra en el rango de [0 a 255]. Por tanto, al aplicar la función LAB, véase anexos, funciones propuestas por (Huamán y Saldaña 2012), los valores numéricos de cada pixel del elemento

de interés, así como su histograma; véase figura siguiente.

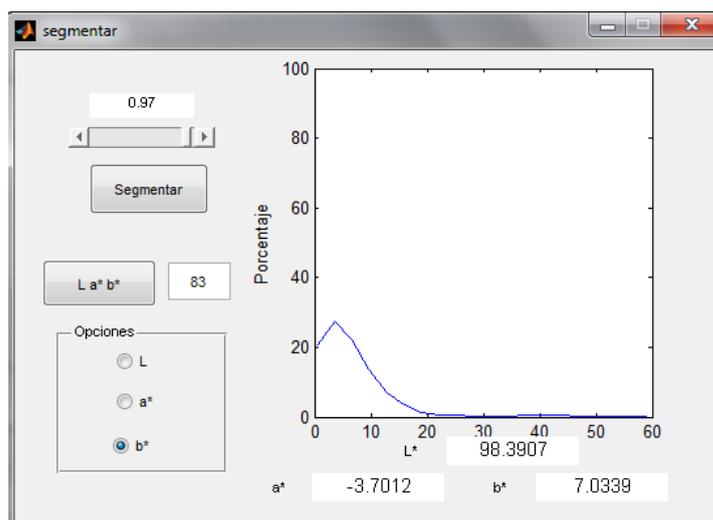


Figura 10. Resultados de la aplicación de función L, a*, b*

Los resultados así obtenidos son registrados para cada una de las muestras previamente codificadas en una hoja de cálculo, formato *.xlsx . La posición de cada dato es automáticamente rastreado para colocar en secuencia ordenada los datos a analizar.

c) Relacionar los cambios en el color, la temperatura y el pre-tratamiento

El análisis de la relación entre los parámetros de color, temperatura y pre-tratamiento requirió de los siguientes pasos:

- Análisis de la normalidad, determinando mediante este análisis la validez estadística de la data colectada.
- Análisis de varianza, mediante el análisis de varianza se determino el efecto estadístico de cada uno de los factores (temperatura, pre-tratamiento y tiempo) así como sus combinaciones en los valores medios de los parámetros de color.

- Relacionar entre la temperatura, el pre-tratamiento y el tiempo, se aplicó el análisis estadístico mediante regresiones lineales múltiples, determinando de esta manera modelos lineales aditivos como el siguiente:

$$\Psi = a_1. P_1 + a_2. P_2 + a_3. P_3 + \varepsilon$$

Donde

Ψ = Variable dependiente (color en coordenadas L, a*, b*)

a_i = Constante de la variable independiente i

P_i = Variable independiente i ; (T° , Pre-tratamiento, tiempo)

ε = Error

IV. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados obtenidos de acuerdo a los objetivos planteados para la presente tesis:

IV.1. Aplicación de diferentes condiciones de temperatura y pre-tratamientos a rodajas de manzana para promover el pardeamiento enzimático.

Los tratamientos aplicados para el estudio del pardeamiento enzimático se organizaron de acuerdo a como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 2. Combinación de tratamientos y pre-tratamientos

Combinaciones		Pre-tratamiento		
		P ₀	P ₁	P ₂
Temperatura	T ₁	T ₁ P ₀	T ₁ P ₁	T ₁ P ₂
	T ₂	T ₂ P ₀	T ₂ P ₁	T ₂ P ₂
	T ₃	T ₃ P ₀	T ₃ P ₁	T ₃ P ₂

Donde:

T₁=10 °C

T₂ = 25 °C

T₃ = 40 °C

P₀= Sin tratamiento

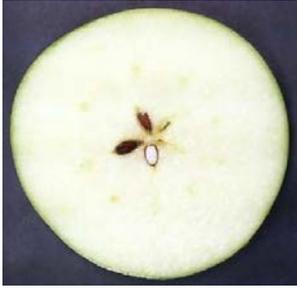
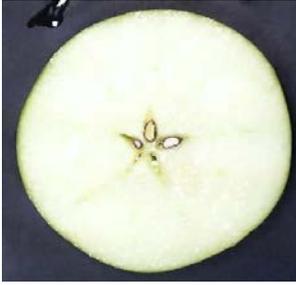
P₁ = Escaldado

P₂ = Sulfitado

Las imágenes obtenidas, mediante el sistema de adquisición de imágenes, se muestra en las tablas 2 a 4. En dichas tablas se muestran algunas imágenes de las muestras antes, durante y después del proceso de pardeamiento, organizadas de acuerdo a la tabla anterior.

En la tabla 3 se aprecian las imágenes iniciales de algunas muestras a $t=0$, es decir al inicio del tiempo de evaluación.

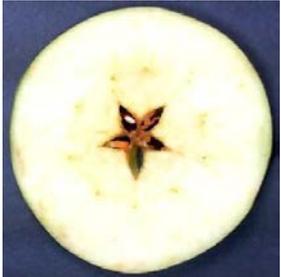
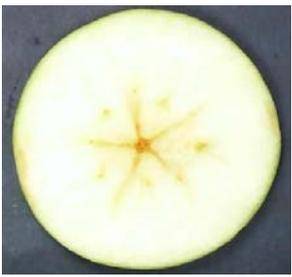
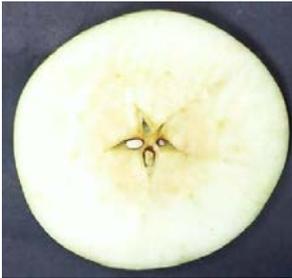
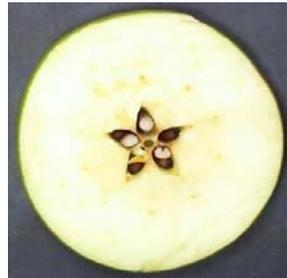
Tabla 3. Imágenes de distintas combinaciones de tratamientos a $t=0$ min.

Combinaciones		Pre-tratamiento		
		P0	P1	P2
Temperatura	T1			
	T2			
	T3			

En la tabla 4 se aprecian las imágenes adquiridas en las muestras luego de 120 minutos, se observa la vibración de la coloración verde claro a coloración marrón

difuminada. Las muestras con mayor viraje de color, de acuerdo a la apreciación visual, son las muestras que recibieron el pre-tratamiento P₁, escaldado.

Tabla 4. Imágenes de distintas combinaciones de tratamientos a t= 120 min.

Combinaciones		Pre-tratamiento		
		P0	P1	P2
Temperatura	T1			
	T2			
	T3			

En la tabla 5 se aprecia que, al final del tiempo de análisis, las muestras han incrementado la tonalidad del color marrón, se aprecia que al igual que en la tabla 3 que las muestras escaldadas tienen mayor viraje en comparación con las muestras sin pre-tratamiento.

Tabla 5. Imágenes de distintas combinaciones de tratamientos a t= 240 min.

Combinaciones		Pre-tratamiento		
		P0	P1	P2
Temperatura	T1			
	T2			
	T3			

Tal como puede apreciarse de las tablas anteriores, al iniciar, durante y al finalizar el tiempo de estudio, existen diferencias entre los tratamientos y el color de las muestras debido al proceso de pardeamiento enzimático.

IV.2. Obtención de información del color durante el proceso de pardeamiento enzimático

En las siguientes figuras se muestran las graficas de los valores medios de los parámetros L, a* y b*, véase las tablas en el anexo A-7.

- *Parámetro L*

Tal como puede apreciarse en la figura 11 para el parámetro L existe una ligera tendencia decreciente en las muestras sin pre-tratamiento durante el proceso de pardeamiento enzimático; se aprecia asimismo, que las muestras sometidas a una temperatura de 25 °C tienen la mayor disminución de este parámetro de color.

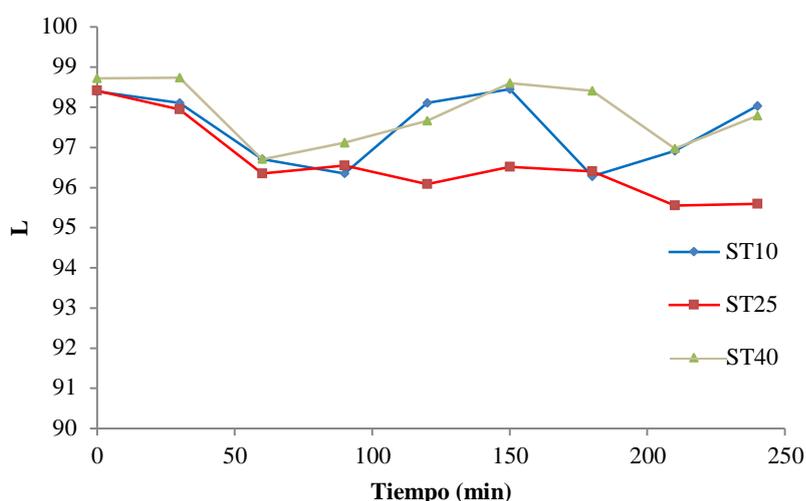


Figura 11. Valor promedio de L en muestras sin tratamiento

En la figura 12, al igual que en la figura 11, se aprecia que el parámetro L tiene tendencia decreciente; sin embargo, es más pronunciada que en las muestras sin tratamiento y no se aprecia que existan diferencias sensibles entre las temperaturas.

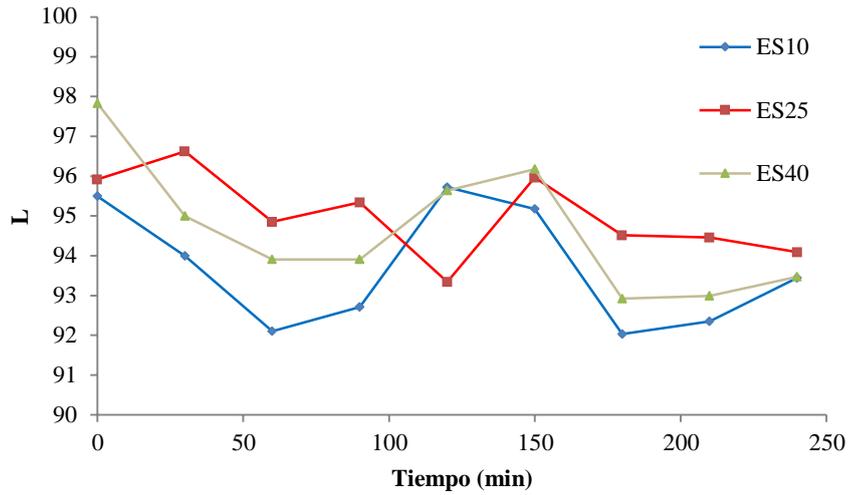


Figura 12. Valor promedio de L en muestras escaldadas

Por último en la figura 13 se aprecia que en las muestras sulfitadas casi no ha existido cambio en el parámetro L.

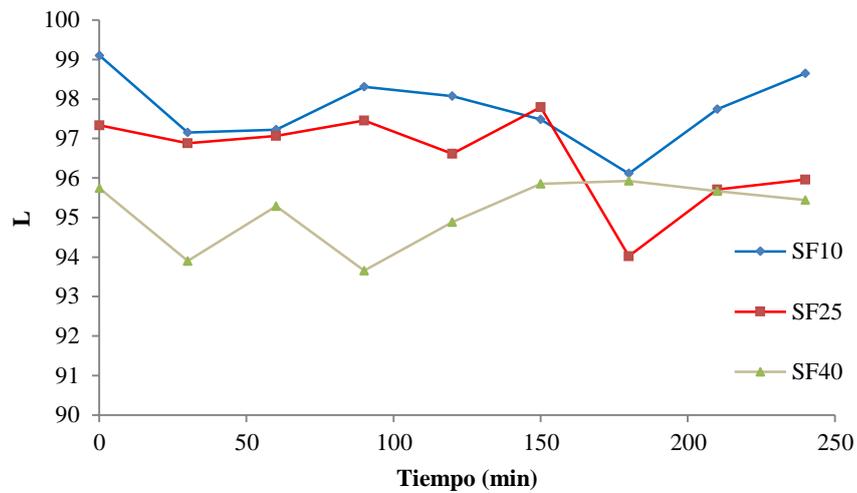


Figura 13. Valor promedio de L en muestras sulfitadas

Por tanto; el parámetro L para todas las muestras decrece, es decir estas pierden luminosidad, a lo largo del periodo de evaluación, siendo más pronunciado en aquellas muestras que se almacenaron a 25 °C. Salvo en el caso de las muestras escaldadas en las cuales la temperatura de 40 °C incrementa velocidad de reducción de la luminosidad.

- **Parámetro a^***

En la figura 14 se aprecia que existieron cambios en el valor del parámetro a^* , tendencia creciente, de esto se infiere que existió la disminución de las tonalidades verdes e incremento de tonalidades rojizas.

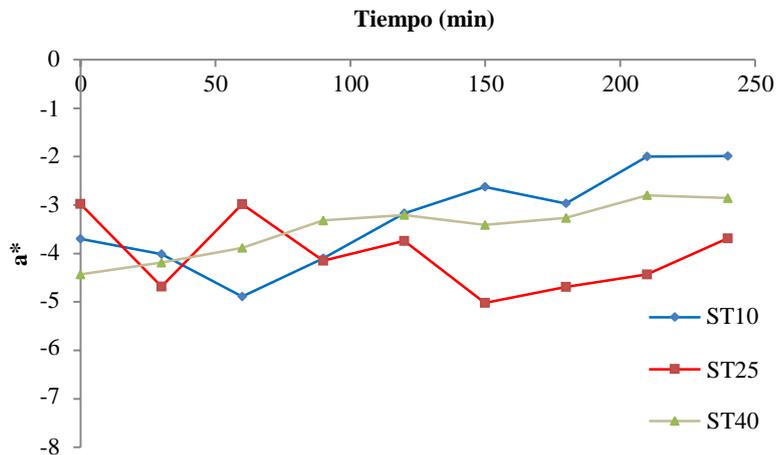


Figura 14. Valor promedio de a^* en muestras sin tratamiento

En la figura 15 se aprecia que los valores de a^* para las muestras escaldadas se mantuvo prácticamente constante, verificándose posteriormente este resultado con el análisis estadístico.

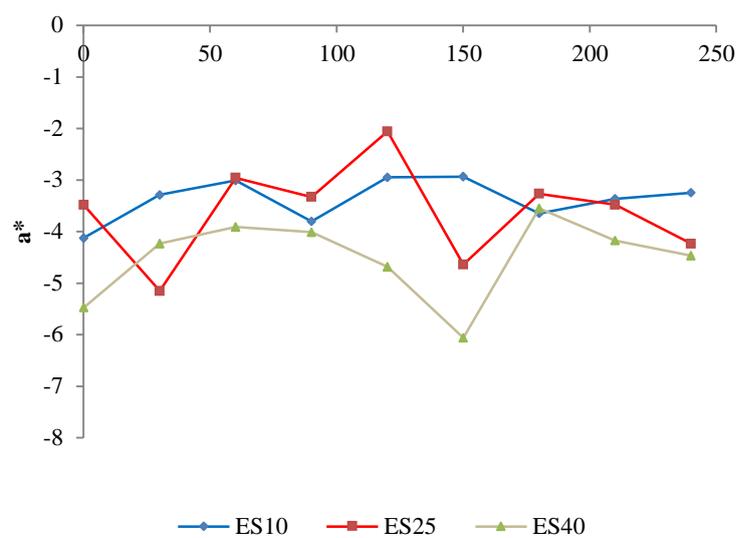


Figura 15. Valor promedio de a^* en muestras escaldadas

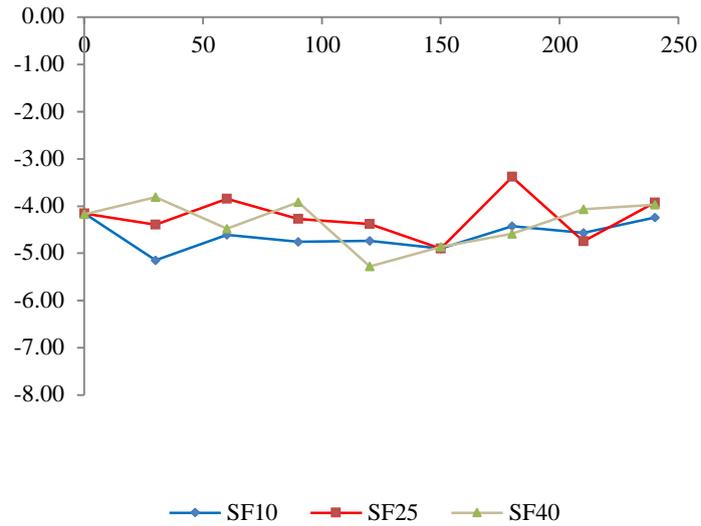


Figura 16. Valor promedio de a* en muestras sulfitadas

De todo lo anterior se aprecia que el parámetro a* aumenta, reducción de tonalidades verdes e incremento de tonalidades rojas; sin embargo, es un incremento poco sensible en todos los casos.

- **Parámetro b***

En las figura 17 a 19 se aprecia que existieron cambios en el valor del parámetro b*,

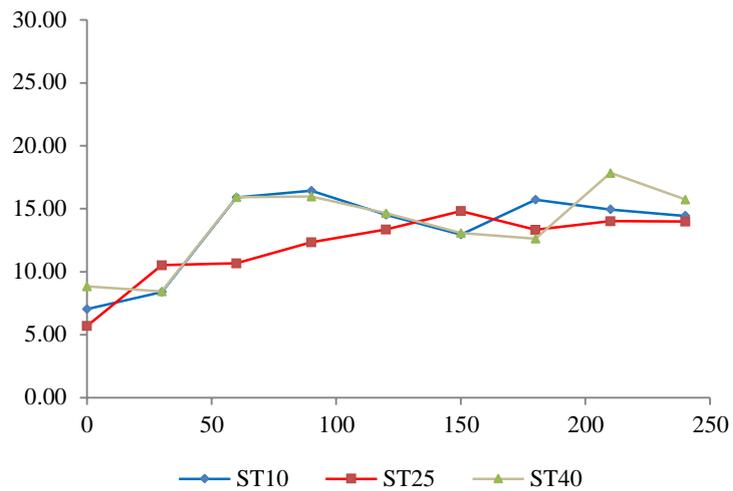


Figura 17. Valor promedio de b* en muestras sin tratamiento

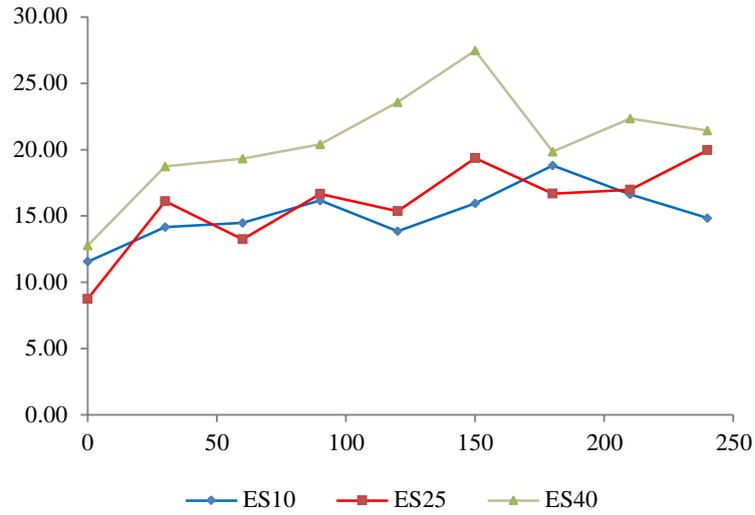


Figura 18. Valor promedio de b^* en muestras escaldadas

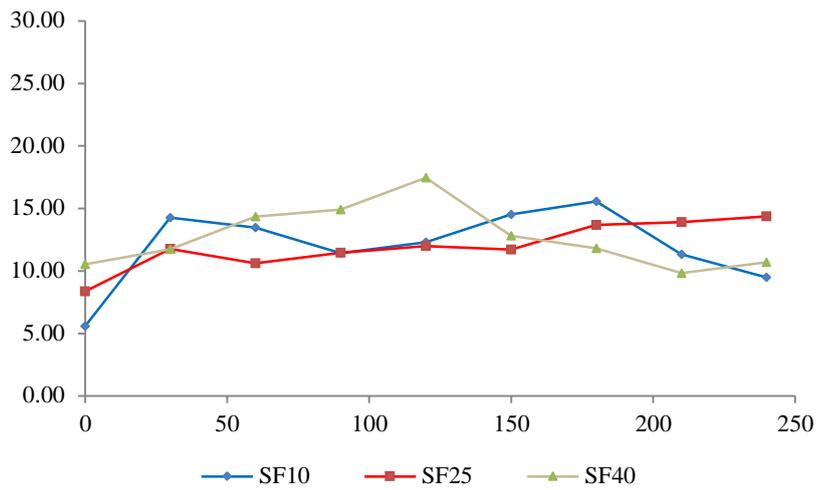


Figura 19. Valor promedio de b^* en muestras sulfitadas

El parámetro b^* se incrementa, aumento de tonalidades amarillas, a lo largo del proceso de evaluación, siendo más pronunciado en temperaturas de 40 °C.

IV.3. Relación entre los cambios del color, la temperatura y el pre-tratamiento.

A fin de determinar la relación entre los cambios de color, la temperatura y el pre-tratamiento se procedió a realizar el análisis estadístico de los resultados previamente obtenidos

a. Análisis de la normalidad

Tabla 6. Resumen de análisis de normalidad de L

Descripción	Parámetro L
Numero de valores:	81 (valores comprendidos desde 92.04 hasta 99.1)
Tipo de distribución:	Normal
Media:	96.0802
Desviación típica:	1.78257
P-valor	
Chi-cuadrado:	0.3045044
W de Shapiro-Wilks:	0.00752064
Puntuación Z para asimetría:	0.26356
Puntuación Z para curtosis:	0.172213

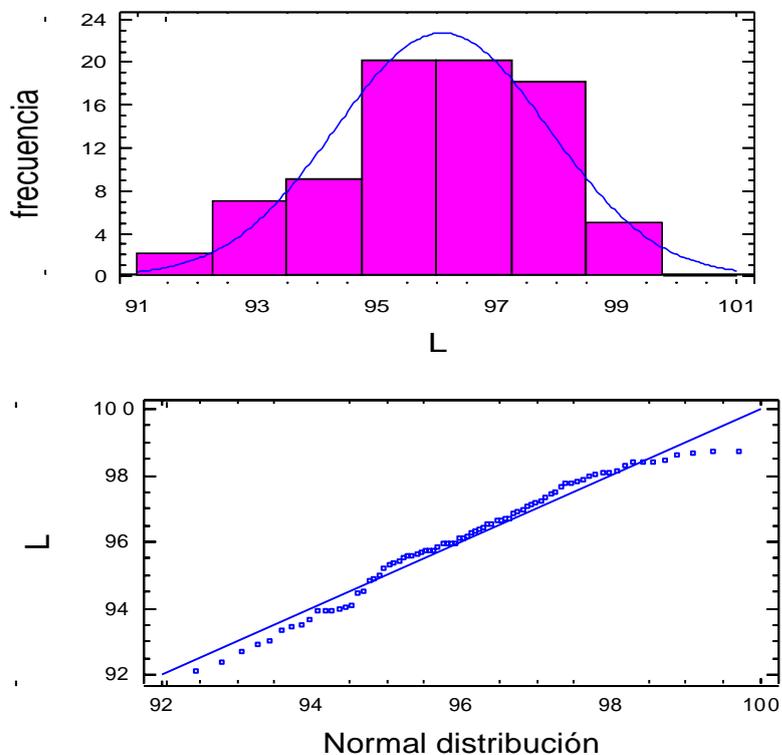


Figura 20. Ajuste de datos de L a distribución normal

El p-valor más bajo de los tests realizados es igual a 0.00752064. Dado que el p-valor para este test es inferior a 0.01, podemos rechazar que L procede de una distribución normal con un nivel de confianza del 99%.

Tabla 7. Resumen de análisis de normalidad de a*

Descripción	Parámetro a*
Numero de valores:	81 (valores comprendidos desde -6.06 hasta -1.99)
Tipo de distribución:	Normal
Media:	-3.94568
Desviación típica:	0.802987
P-valor	
Chi-cuadrado:	0.878651
W de Shapiro-Wilks:	0.651279
Puntuación Z para asimetría:	0.587228
Puntuación Z para curtosis:	0.799286

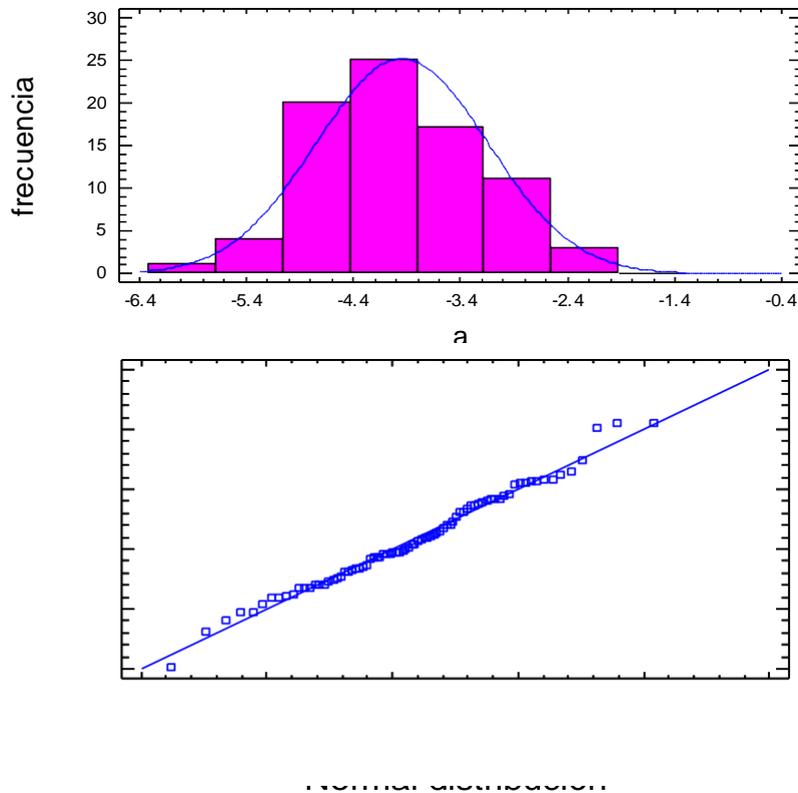


Figura 21. Ajuste de datos de a a distribución normal

El p-valor más bajo de los tests realizados es igual a 0.587228. Dado que el p-valor para este test es superior o igual a 0.10, no podemos rechazar que a proceda de una distribución normal con un nivel de confianza de al menos el 90%.

Tabla 8. Resumen de análisis de normalidad de b*

Descripción	Parámetro b*
Numero de valores:	81 (valores comprendidos desde 5.58 hasta 27.47)
Tipo de distribución:	Normal
Media:	14.1614
Desviación típica:	3.8882
P-valor	
Chi-cuadrado:	0.236256
W de Shapiro-Wilks:	0.449758
Puntuación Z para asimetría:	0.176325
Puntuación Z para curtosis:	0.059296

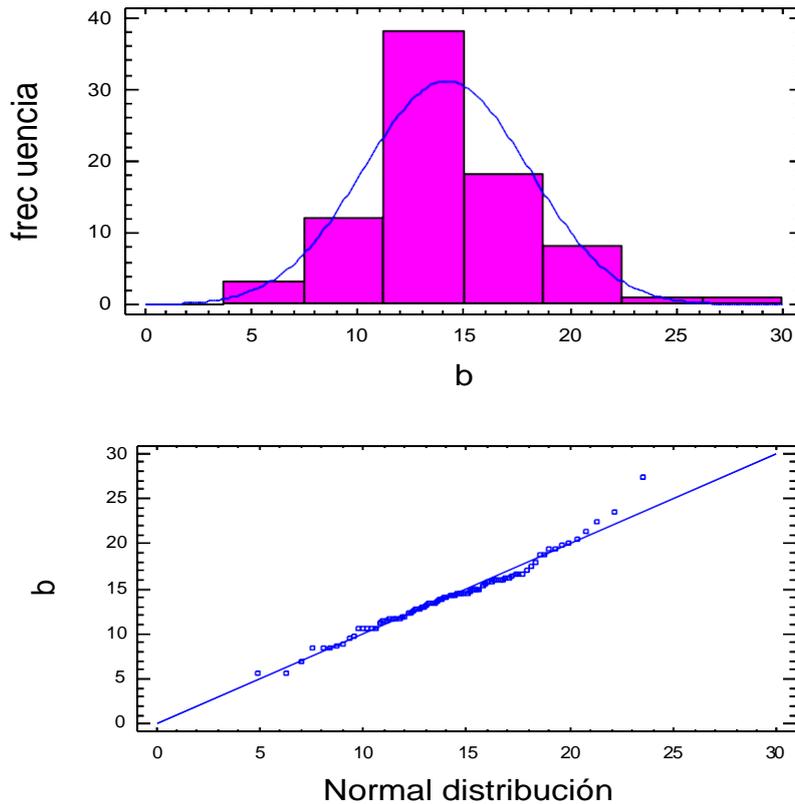


Figura 22. Ajuste de datos de b a distribución normal

El p-valor más bajo de los tests realizados es igual a 0.059296. Dado que el p-valor para este test es inferior a 0.10, no podemos rechazar que b procede de una distribución normal con un nivel de confianza del 90%.

b. Análisis de varianza múltiple

Tabla 9. Análisis de la Varianza para L

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Pretratamiento	117.221	2	58.6104	96.92	0.0000
B:Temperatura	2.42122	2	1.21061	2.00	0.1517
C:Tiempo	40.03	8	5.00375	8.27	0.0000
INTERACCIONES					
AB	44.2964	4	11.0741	18.31	0.0000
AC	14.1685	16	0.885534	1.46	0.1747
BC	16.7146	16	1.04466	1.73	0.0920
RESIDUOS	19.3523	32	0.604758		
TOTAL (CORREGIDO)	254.204	80			

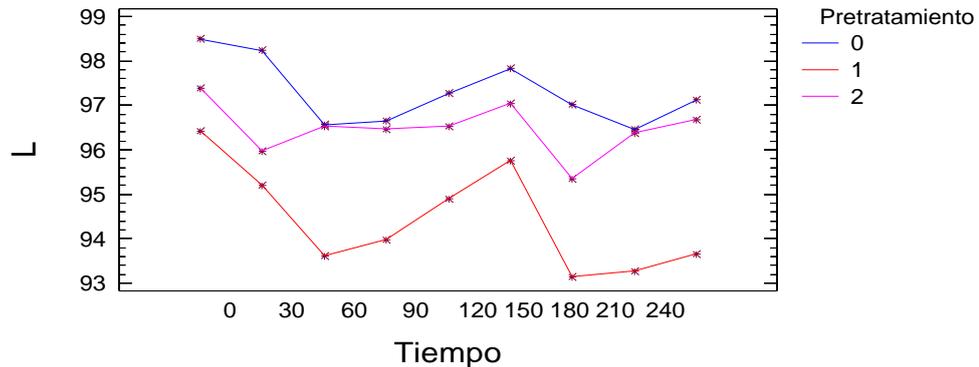


Figura 23. Variación media de L durante el estudio

Los P-valores comprueban la importancia estadística de cada uno de los factores. Dado que 3 p-valores son inferiores a 0.05, estos factores tienen efecto estadísticamente significativo en L para un 95.0%.

Tabla 10. Análisis de la Varianza para a

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Pretratamiento	9.03351	2	4.51676	14.25	0.0000
B:Temperatura	1.77304	2	0.88652	2.80	0.0759
C:Tiempo	5.01125	8	0.626407	1.98	0.0821
INTERACCIONES					
AB	8.16403	4	2.04101	6.44	0.0006
AC	7.03035	16	0.439397	1.39	0.2098
BC	10.4307	16	0.651918	2.06	0.0403
RESIDUOS	10.1401	32	0.316878		
TOTAL (CORREGIDO)	51.583	80			

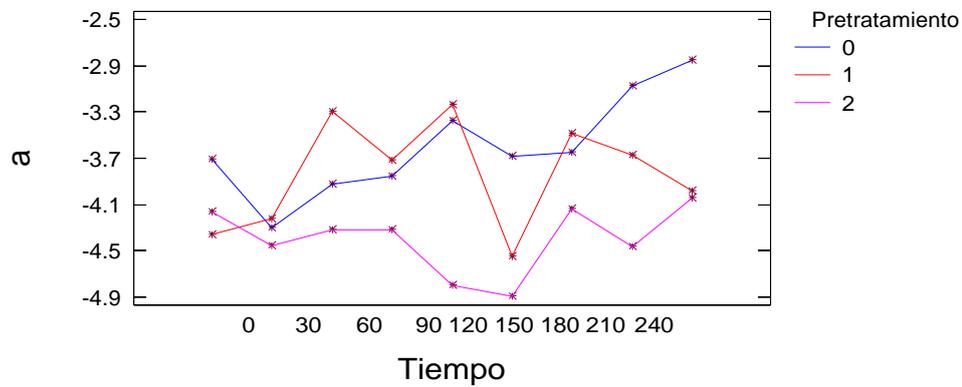


Figura 24. Variación media de a durante el estudio

Los P-valores comprueban la importancia estadística de cada uno de los factores. Dado que 3 p-valores son inferiores a 0.05, estos factores tienen efecto estadísticamente significativo en a para un 95.0%.

Tabla 11. Análisis de la Varianza para b

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Pretratamiento	392.883	2	196.442	64.06	0.0000
B:Temperatura	91.7212	2	45.8606	14.96	0.0000
C:Tiempo	353.467	8	44.1833	14.41	0.0000
INTERACCIONES					
AB	84.1025	4	21.0256	6.86	0.0004
AC	100.301	16	6.26883	2.04	0.0417
BC	88.8455	16	5.55284	1.81	0.0748
RESIDUOS	98.1256	32	3.06642		
TOTAL (CORREGIDO)	1209.45	80			

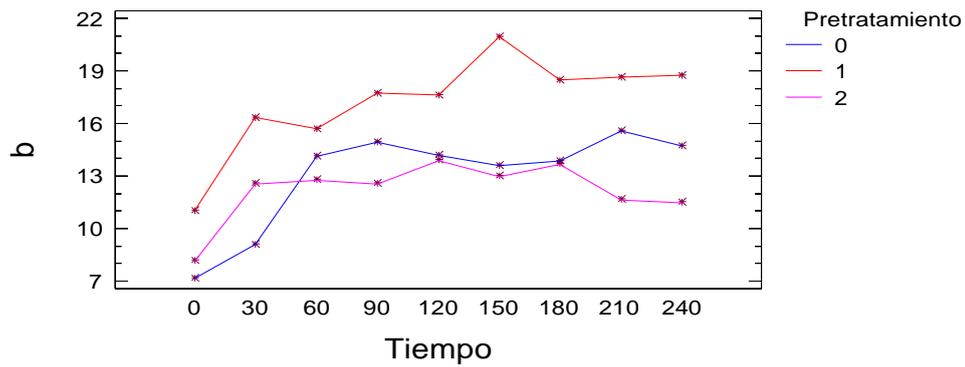


Figura 25. Variación media de b durante el estudio

Los P-valores comprueban la importancia estadística de cada uno de los factores. Dado que 5 p-valores son inferiores a 0.05, estos factores tienen efecto estadísticamente significativo en b para un 95.0%.

c. Análisis de regresión múltiple

Parámetro L

Tabla 12. Análisis de regresión múltiple de la variable L

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	P-Valor
CONSTANTE	97.4672	0.577569	168.754	0.0000
Pretratamiento	-0.411481	0.234923	-1.75156	0.0838
Temperatura	-0.014	0.0156615	-0.893909	0.3742
Tiempo	-0.00521235	0.00247631	-2.10489	0.0386

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Modelo	24.7284	3	8.24281	2.77	0.0475
Residuo	229.475	77	2.9802		
Total (Corr.)	254.204	80			

R-cuadrado = 9.7278 %

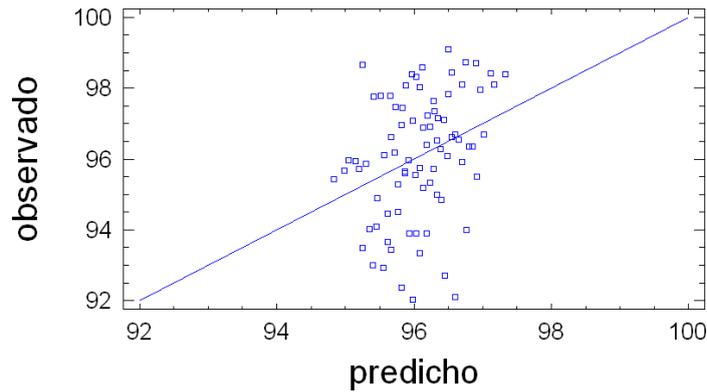


Figura 26. Parámetro L predicho vs observado

La salida muestra los resultados del ajuste a un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre L y 3 variables independientes. La ecuación del modelo ajustado es:

$$L = 97.4672 - 0.411481 * \text{Pre-tratamiento} - 0.014 * \text{Temperatura} - 0.00521235 * \text{Tiempo}$$

El R-cuadrado indica que el modelo explica un 9.7278 % de la variabilidad en L. Dado que el p-valor es inferior a 0.05, hay indicio de una posible correlación serial. Para simplificar el modelo se usa el p-valor, puesto que el p-valor para la temperatura es superior o igual a 0.10, este término no es estadísticamente significativo para un nivel de confianza del 90% o superior; por tanto, se puede retirar Temperatura del modelo.

Parámetro a

Tabla 13. Análisis de regresión múltiple de la variable a

Variable dependiente: a				
Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	P-Valor
CONSTANTE	-3.46857	0.239961	-14.4547	0.0000
Pretratamiento	-0.397963	0.0976027	-4.07737	0.0001
Temperatura	-0.012037	0.00650685	-1.8499	0.0682
Tiempo	0.00184815	0.00102882	1.79637	0.0764

Análisis de Varianza					
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Modelo	11.9726	3	3.99088	7.76	0.0001
Residuo	39.6103	77	0.51442		
Total (Corr.)	51.583	80			

R-cuadrado = 23.2105 %

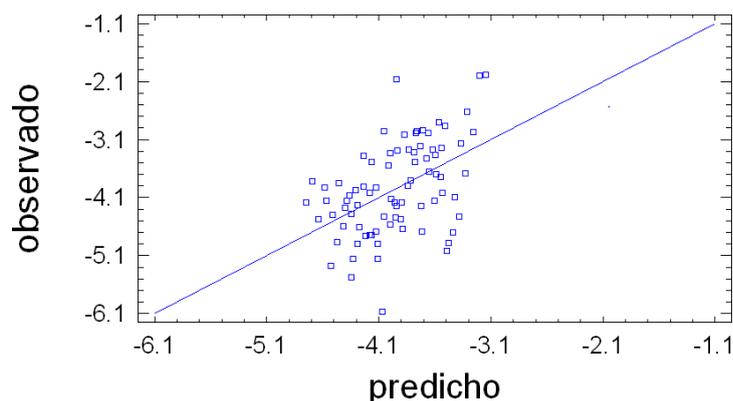


Figura 27. Parámetro a predicho vs observado

La salida muestra los resultados del ajuste a un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre a^* y 3 variables independientes. La ecuación del modelo ajustado es:

$$a^* = -3.46857 - 0.398 * \text{Pre-tratamiento} - 0.012037 * \text{Temperatura} + 0.00184815 * \text{Tiempo}$$

El R-cuadrado indica que el modelo explica un 23.2105% de la variabilidad en a^* .

Puesto que los p-valores son inferiores a 0.01 no se recomienda simplificar el modelo.

Tabla 14. Análisis de regresión múltiple de la variable b^*

Parámetro	Estimación	Error estándar	Estadístico T	P-Valor
CONSTANTE	10.3903	1.17294	8.85833	0.0000
Pretratamiento	-0.406667	0.477088	-0.852393	0.3966
Temperatura	0.0718642	0.0318059	2.25946	0.0267
Tiempo	0.0198426	0.00502895	3.94567	0.0002

Análisis de Varianza

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Modelo	263.031	3	87.6769	7.13	0.0003
Residuo	946.415	77	12.2911		
Total (Corr.)	1209.45	80			

R-cuadrado = 21.748 porcentaje

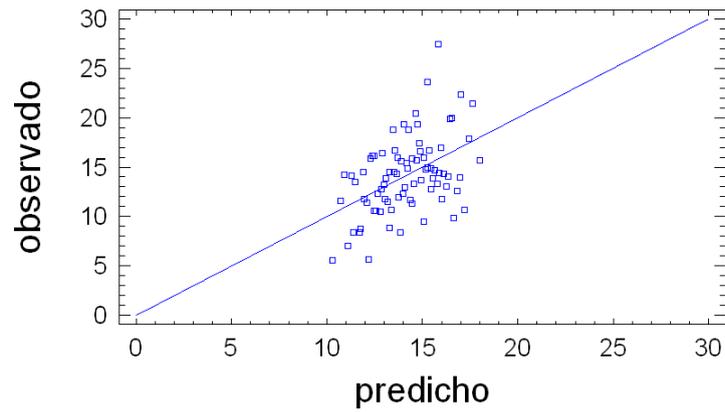


Figura 28. Parámetro b predicho vs observado

La salida muestra los resultados del ajuste a un modelo de regresión lineal múltiple para describir la relación entre b^* y 3 variables independientes. La ecuación del modelo ajustado es:

$$b^* = 10.3903 - 0.4067 * \text{Pre-tratamiento} + 0.07186 * \text{Temperatura} + 0.0198426 * \text{Tiempo}$$

El estadístico R-cuadrado indica que el modelo explica un 21.748% de la variabilidad en b . Para la simplificación del modelo, puesto que el p-valor de pre- tratamiento, es superior o igual a 0.10, este término no es estadísticamente significativo para un nivel de confianza del 90% o superior; por tanto, es posible retirar Pre-tratamiento del modelo.

V. DISCUSIONES

En cuanto a los resultados del análisis de color no se encontraron referencias en la literatura sobre los parámetros de color para manzana fresca, simplemente se presentan los resultados a continuación: $L = 97.44 \pm 1.38$, $a^* = -4.08 \pm 0.689$, $b^* = 8.79 \pm 2.494$.

El color es una propiedad importante relacionada con la composición química y el grado de desenvolvimiento o alteración de los alimentos a medida que transcurre el tiempo. Así, un aumento en el contenido de quinonas en la muestra está directamente relacionada con los valores más altos del color observados, especialmente el parámetro b^* , en el color amarillo, y croma, que indica el color intensificado.

De las Tablas 2 a 4 se aprecia que las muestras presentaron el típico color pardo producto de la reacción enzimática de pardeamiento cuyo catalizador es la polifenol oxidasa (PFO), la cual combina los fenoles con el oxígeno para transformarse en quinonas, que se polimerizan o reaccionan con grupos amino de diferentes compuestos formando compuestos coloridos que reciben el nombre de melaninas y que tienen propiedades antimicrobianas, y que podrían ser un mecanismo de defensa de los vegetales contra infecciones (Luo, 1997).

Se observa que a medida que pasa el tiempo los valores de luminosidad se hacen menores y la frecuencia normalizada de dichos valores también disminuye, en el experimento a cero horas se observa una luminosidad de 90 con una frecuencia acumulada normalizada de 29 % y en el experimento a 26 horas se observa una luminosidad de 81 con una frecuencia normalizada de 13.4 %.

En las figuras 7 a 9, se observa la variación de los valores promedio de L en función del tiempo donde se aprecia la disminución de dichos valores debido al oscurecimiento de las mismas.

El oscurecimiento de frutas y verduras crudas, es debido principalmente a lesiones mecánicas durante el manejo poscosecha y procesamiento. Esta reacción resulta de la acción de la polifenol-oxidasa (PPO), oxidación catalizada por compuestos fenólicos a o quinonas, que posteriormente se polimerizan para formar pigmentos de color oscuro (Sapers, 1987). De hecho, cuando las frutas se cortan, la superficie de corte se vuelve marrón, reduce no sólo la calidad visual, sino también da lugar a cambios indeseables en el sabor y la pérdida de nutrientes debido a la oxidación enzimática (Luo, 1997).

La disminución del valor de L se debe principalmente a la falta de uniformidad patrones de color que surgen debido al pardeamiento enzimático que causa diferencias significativas entre los valores de luminosidad de las imágenes, este fenómeno provoca que el valor de L sea cada vez más irregular o complejo, este comportamiento es debido al hecho de que algunas zonas de las rodajas de manzana se oscurecen más rápido que otros, causados por una reacción enzimática no homogénea en toda la muestra. De acuerdo a lo reportado, en la literatura, por otros investigadores los valores L, disminuyen durante el pardeamiento enzimático en rodajas de fruta. (Lu et al, 2007;. Luo, 1994, 1997; Sapers, 1987).

También apreciamos en las figuras 10 a 12, que la mayoría de los valores de las coordenadas a^* con el transcurso del tiempo se incrementan esto indica que las imágenes de rodajas de manzana obtenidas mediante visión computacional tienden al color rojo. Estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores para el análisis del cambio de color de rodajas de patata de variedades como Panda, Saturna y Bintje (Pedreschi et al, 2004; Segnini et al., 1999).

La variación del parámetro b^* fue más marcada que para el parámetro a^* , es decir se aprecia la que a medida que aumenta el tiempo, las rodajas de manzana tienden al color

amarillo. Estos resultados sugieren que la amarillez de rodajas de manzana aumenta durante el tiempo y coinciden con los obtenidos por otros autores (Krokida *et al.*, 2001; Segnini *et al.*, 1999).

La alteración de los parámetros de color cromáticos a^* , b^* y por ende C^* de los productos hortofrutícolas está fundamentalmente relacionada con el pardeamiento enzimático (Sapers, 1987; Nicolas *et al.*, 1994), siendo éste uno de los principales factores que limitan la vida útil de los productos mínimamente procesados. Dentro del grupo de los compuestos fenólicos, los flavonoides juegan también un papel importante en el pardeamiento enzimático. En primer lugar, los compuestos oxidados de flavonoles pueden disminuir la cantidad de quinonas resultante de otros compuestos fenólicos como hidroxicinámicos y flavanoles. En segundo lugar, los pigmentos resultantes de los flavonoles pueden dar lugar a una amplia gama de valores de L^* , a^* y b^* (Robards *et al.*, 1999; Nicolas *et al.*, 1994).

VI. CONCLUSIONES

- Es posible hacer el seguimiento de los cambios en los parámetros de color, expresados en el espacio CIELab, mediante un sistema de visión artificial.
- Se observa que, a lo largo del proceso de pardeamiento se produce la reducción de los parámetros L e incremento de parámetros a^* y b^* ;
- Existen diferencias significativas en los parámetros L, a^* y b^* cuando se aplican diferentes pre-tratamientos y temperaturas.
- Del análisis de varianza se determina que:
 - o El parámetro L tiene relación estadísticamente significativa con el tipo de pre-tratamiento y tiempo de almacenamiento.
 - o El parámetro a y el parámetro b tienen relación estadísticamente significativa con el tipo de pre-tratamiento, temperatura y tiempo de almacenamiento.
- Las ecuaciones que permiten modelar las relaciones entre los parámetros L, a^* y b^* , en función de los factores pre-tratamiento (P), tiempo (Tp), y temperatura de almacenamiento (Ta) se muestran a continuación:
 - o $L = 97.4672 - 0.411481 * P - 0.014 * Ta - 0.00521235 * Tp$ ($R^2=0.097278$)
 - o $a^* = -3.46857 - 0.398 * P - 0.012037 * Ta + 0.00184815 * Tp$ ($R^2=0.232105$)
 - o $b^* = 10.3903 - 0.4067 * P + 0.0718642 * Ta + 0.0198426 * Tp$ ($R^2=0.21748$)

Los modelos confirman que los parámetros L, a^* y b^* tienen relación con los factores en evaluación. Sin embargo, por el bajo valor de R^2 , no es posible utilizarlos para predecir el proceso.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar el estudio en otras variedades de manzanas y/o diferentes frutales; aplicar este análisis al caso de frutas mínimamente procesadas.
- Aplicar otros tipos de ecuaciones para el modelado del proceso de pardeamiento, a fin de mejorar el ajuste de los datos.
- Correlacionar pardeamiento enzimático, parámetros de color y aceptabilidad en cortes de frutas.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, M., Guan, L. y Mohd, B. 2001. Stepwise discriminant analysis for color grading of oil palm using machine vision system. *Transactions of the IChemE*, 79(C), 223–231.
- Amiot, M.; Tacchini, M.; Aubert, S. y Oleszek, W. 1995. Influence of cultivar, maturity stage, and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning of pear fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43. 1132-1137.
- Ashie, I.; Simpson, B. y Ramaswam, Y. 1996. Control of endogenous enzyme activity in fish muscle by inhibitor and hydrostatic pressure using RMS. *Journal of Food Science*. 61. 350-356.
- Avena-Bustillos, R.; Cisneros -Zevallos, L; Krochta, J. y Saltveit, M. 1994. Application of casein-lipid edible film emulsions to reduce white blush on minimally processed carrots. *Postharvest Biology and Technology*. 4. 319-329.
- Blasco, J., Aleixos, N. y Molto, E. 2003. Machine vision system for automatic quality grading of fruit. *Biosystems Engineering*. 85. 415–423
- Bolin, H. y Huxsoll, C. 1991. Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*, 56. 416- 418.
- Borggaard, C., Madsen, N. y Thodberg, H. 1996. In-line image analysis in the slaughter industry, illustrated by beef carcass classification. *Meat Science*, 43(Suppl.1), S151–S163.

- Brennan, M.; Le Port, G.; Gormley, R. 2000. Post-harvest treatment with citric acid or hydrogen peroxide to extend the shelf life of fresh sliced mushrooms. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie / FST*. 33. 283-289.
- Briones, V. y Aguilera, J. 2005. Image analysis of changes in surface color of chocolate. *Food Research International*. 38. 87–94.
- Briones, V. y Aguilera, J. 2005. Image analysis of changes in surface color of chocolate. *Food Research International*.
- Brosnan, T. y Sun, D. 2004. Improving quality inspection of food products by computer vision. *Journal of Food Engineering*, 125–135.
- Bruns, J. 1995. Lightly processed fruits and vegetables: Introduction to the colloquium. *HortScience*. 30.14-17.
- Cheftel, J. y Cheftel, H. 1976. Pardeamiento enzimático y Tratamientos físicos en *Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos* (1) 309-318 (2) 175-202 Editorial Acribia, España.
- Clydesdale, F. 1993. Color as a Factor in Food Choice. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 33. 83-101.
- Dorantes-Álvarez, L.; Chiralt, A. 2000 Color of minimally processed fruits and vegetables as affected by some chemical and biochemical changes.
- Du, C. y Sun, D. 2004. Recent developments in the applications of image processing techniques for food quality evaluation». *Trends in Food Science & Technology*.

- Du, C. y Sun, D. 2005. Pizza sauce spread classification using colour vision and support vector machines. *Journal of Food Engineering*.
- Eckert, J. 1978. Pathological diseases of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food Biochemistry*. 2. 243-258.
- Fennema, O. 2000. *Química de los alimentos*. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España.
- Guoping, Qiu, Feng Xia, y Fang Jianzhong. 2004. Compressing histogram representations for automatic colour photo categorization. *Pattern Recognition*.
- Kang, S, y H Sabarez. 2009. Simple colour image segmentation of bicolour food products for quality measurement. *Journal of Food Engineering*.
- Ke, D.; Goldstein, L.; O'Mahony, M.; Kader, A. 1991. Effects of shortterm exposures to low O₂ and high CO₂ atmospheres on quality attributes of strawberries. *Journal of Food Science*. 56. 50–54.
- Kit, L, y E Spyridon. 2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*.
- Krokida, M. 2001. Colour changes during deep fat frying. *Journal of Food Engineering*. 219–225.
- Laurila, E.; Kervinen, R.; Ahvenainen, R. 1998. The inhibition of enzymatic browning in minimally processed vegetables and fruits. *Postharvest news and information*. 9. 53-66.

- León, J. 2005. Estudio de la cinética de color en rodajas de papa frita empleando visión computacional. Facultad Tecnológica. Universidad de Santiago de Chile: Trabajo de titulación para optar al título de Ingeniero de Alimentos. Departamento de Ciencia y Tecnología de los Alimentos.
- León, K.. 2006. Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. Food Research International, 1084–1091.
- Lu, S. 2007. Efficacy of sodium chlorite as an inhibitor of enzymatic browning in apple slices .Food Chemistry. 824–829.
- Lunadei,, L.; Galleguillos, P.; Diezma, B.; Lleó, L. y Ruiz-Garcia, L. 2011. A multispectral vision system to evaluate enzymatic browning in fresh-cut apple slices. Postharvest Biology and Technology.
- Luo, Y. 1994. Enhanced control of enzymatic browning of apple slices by papain. Abstracts of Papers of the American Chemical Society. 125.
- Luo, Y. 1997. Enzymatic browning and its inhibition in new apple cultivars slices using 4-hexylresorcinol in combination with ascorbic acid. Food Science and Technology International. 195–201.
- Mayer, A. 1987. Polyphenol oxidases in plants: recent progress Phytochemistry. 26. 11-20.
- McEvily, A.; Iyengar, R. y Otwel, W. 1992. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 32. 253-273.
- Mendoza, F.; Dejmek, P. y Aguilera, J. 2007. Colour and image texture analysis in classification of commercial potato chips. Food Research International.

- Murata, M. 2001. Chemical and biochemical study on phenolics and food quality biological activity, analysis and enzymatic browning. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*. 1-7.
- Nicolas, J. 1994. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. *CRC Crit. Rev. Food. Sci.* 109-157.
- Paschos, G. y Petrou, M. 2003. Histogram ratio features for color texture classification. *Pattern Recognition Letters*.
- Pedreschi, F. 2004. Classification of potato chips using pattern recognition. *Journal of Food Science*. 264-270.
- Pérez, L.; González -Martínez, C.; Chafér, M.; Chiralt, A. 2001. Inhibición del pardeamiento enzimático en pera var. Blanquilla. *Actas del 3º Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos (CIBIA 2001) Tomo IV (4)*. 307-312.
- Primo, E. 1997. *Química de los alimentos*. Editorial Síntesis. Madrid, España.
- Robards, K.; Prenzler, P. D.; Tucker, G.; Swatsitand, P. y Glover, G. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*. 66. 401- 436.
- Sapers, G. 1987. Comparison of erythorbic and ascorbic acids as inhibitors of enzymatic browning in apple. *Journal of Food Science*. 17-32.
- Sapers, G. 1993. Browning of foods: Control by sulfites, antioxidants, and other means. *Scientific status summary. Food Technology*. 47. 75-84.

- Segnini, S. 1999. A low cost video technique for color measurement of potato chips .Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 216–222.
- Valero-Ruiz, E. 1993. Caracterización cinética de la polifenol oxidasa de uva Airen. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Castilla-La Mancha.
- Xul, Q. Z., X; Zhao, J 2009. On-Line detection of defects on fruit by machinevision systems based on three-color-cameras systems. Computer and Computing Technologies in Agriculture 2231-2238
- Yoo, T. y Il-Seok, O. 1999. A fast algorithm for tracking human faces based on chromatic histograms. Pattern Recognition Letters.

ANEXOS

A. 1) Sistema de adquisición y tratamiento de imágenes



a)



b)

Fotografía 1. a y b Sistema de adquisición de imágenes

A. 2) Fotografías de proceso de aprovisionamiento de material biológico



a) adquisición



b) adquisición

Fotografía 2. a y b adquisición de muestras en el mercado central de Chachapoyas

A. 3) Acondicionamiento de material biológico



a) lavado



b) alta temperatura

c) baja temperatura

Fotografía 3. a, b y c acondicionamiento de muestras

A. 4) Código fuente e interfaces de usuario

```
#####
### ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE COLOR, PH,
### Tesista: Bach. Lorenzo Cabañas
### Asesor: Wilson Manuel Castro Silupu
### Julio - 2012
#####

%Ejecución al abrir el guide
function Video1_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles, varargin)
%=====
% declaración de variables globales
global vid
%=====
%Capturando la información del video
vid = videoinput('winvideo', 1, 'YUY2_800x600');

%Cambiando el espacio de color a rgb
vid.ReturnedColorspace = 'rgb';

% Seteando la salida de la camara al guide
vidRes = get(vid, 'VideoResolution');
nBands = get(vid, 'NumberOfBands');
hImage = image(zeros(vidRes(2), vidRes(1), nBands), 'Parent',...
    handles.Video);
% Mostrando la imagen previsualizada
preview(vid,hImage);

% Eliminando los ejes del axes Fotografía
axes(handles.Fotografía);
box on; Showaxes('off')

% Retornando el eje al axes Video
axes(handles.Video);

handles.output = hObject;
guidata(hObject, handles);

% Salida a la línea de comando
function varargout = Video1_OutputFcn(hObject, eventdata, handles)
varargout{ 1 } = handles.output;

%Ejecución al hacer click sobre el botón
function Capturar_Callback(hObject, eventdata, handles)
%=====
%declaración de variables globales
global vid Fotografía rgb
%=====
%obtención de la fotografía

Fotografía = getsnapshot(vid);

%Muestra la fotografía
axes(handles.Fotografía);
image(Fotografía,'Parent',handles.Fotografía);

%Muestra la fotografía realizada
rgb = getimage(handles.Fotografía);
if isempty(rgb), return, end
```

```

box on; Showaxes('off')

handles.output = hObject;
guidata(hObject, handles);

%Función procesar imagen en Lab
function cmd_lab_Callback(hObject, eventdata, handles)
% Cierre de guide Video1
Close(Video1)
% Llamada a guide LAB1
LAB1

% Función para guardar fotografía
function cmd_grabar_Callback(hObject, eventdata, handles)
global rgb

% Guardar como archivo
fileTypes = supportedImageTypes; % Función auxiliar.

[f,p] = uiputfile(fileTypes);
if f==0, return, end
fName = fullfile(p,f);
imwrite(rgb,fName);
msgbox(['Imagen guardada en ' fName]);

% Función tipo de archivos - para grabar fotografía
function fileTypes = supportedImageTypes
% Función auxiliar: formatos de imágenes.
fileTypes = {'*.jpg','JPEG (*.jpg)';*.tif,'TIFF (*.tif)';...
'*.bmp','Bitmap (*.bmp)';*.*,'All files (*.*)'};

% Función de salida del guide
function salida_Callback(hObject, eventdata, handles)
clc, close(Video1)

% Llamada al guide segmentar
function cmd_segmentar_Callback(hObject, eventdata, handles)
close(Video1);
segmentar

```

```

#####
### ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE COLOR, PH,
### Tesista: Bach. Lorenzo Cabañas
### Asesor: Wilson Manuel Castro Silupu
### Julio - 2012
#####

%Muestra la imagen la imagen Fotografia en el guide
function segmentar_OpeningFcn(hObject, eventdata, handles, varargin)
%Declaracion de variable global fotografia
global Fotografia Th Foto_Nombre
%=====
%nombre de fotografia
Foto_Nombre = '10 - 0 - 1 - a';
% previamente recortada
Fotografia =imread(strcat('F:\Tesisas 2011\Cabañas Lorenzo\Fotos recortadas\', Foto_Nombre, '.jpg'));
%=====
%inicializando Th
Th=0.97;
set(handles.txt_Th,'String',Th)
set(handles.sld_Th,'Value',Th)

%Muestra la fotografia
image(Fotografia,'Parent',handles.axes1);
box on; Showaxes('off')

handles.output = hObject;

% Actualizar handles structure
guidata(hObject, handles);

% Salida a la Linea de comandos
function varargout = segmentar_OutputFcn(hObject, eventdata, handles)
varargout{1} = handles.output;

% Ejecución del comando segmentar
function Segmentar_Callback(hObject, eventdata, handles)
global Fotografia Th R G B imge

% Aplicando la funcion callIm
[R G B imge img1]=callIm(Fotografia,Th);

%Muestra la nueva imagen etiquetada
imshow (img1)

box on; Showaxes('off')

% Salvando los datos de la imagen
save R R; save G G; save B B

%Ejecucion en cada movimiento del slider
function sld_Th_Callback(hObject, eventdata, handles)

%declaracion de variable global
global Th

Th=get(hObject,'Value');

set(handles.txt_Th,'String',Th);

```

```

%Ejecucion al crear el sld_Th
function sld_Th_CreateFcn(hObject, eventdata, handles)
% Hint: slider controls usually have a light gray background.
if isequal(get(hObject,'BackgroundColor'), get(0,'defaultUicontrolBackgroundColor'))
set(hObject,'BackgroundColor',[.9 .9 .9]);
end

% Ejecucion al presionar boton LAB.
function LAB_Callback(hObject, eventdata, handles)
%declaraion de variables globales
global R G B L a b Foto_Nombre

%separacion de imagen en matrices R,G y B
imaR= double(R)/255;
imaG= double(G)/255;
imaB= double(B)/255;

%determinando la dimension de la matriz
[nfil ncol]=size(imaR);
for i=1:nfil
for j=1:ncol
if (imaR(i,j) > 0.04045 )
imaR(i,j)= ((imaR(i,j)+0.055)/1.055 )^ 2.4;
else
imaR(i,j) = imaR(i,j) / 12.92;
end
end
end

for i=1:nfil
for j=1:ncol
if (imaG(i,j)>0.04045 )
imaG(i,j)= ((imaG(i,j) + 0.055 )/1.055)^ 2.4;
else
imaG(i,j) = imaG(i,j) / 12.92;
end
end
end

for i=1:nfil
for j=1:ncol
if (imaB(i,j) > 0.04045 )
imaB(i,j) = ((imaB(i,j) + 0.055 ) / 1.055 ) ^ 2.4;
else
imaB(i,j) = imaB(i,j) / 12.92;
end
end
end

imaR = imaR*100; imaG = imaG*100; imaB = imaB*100;

%pasando de RGB a XYZ
% constantes para el Observador = 2°, Illuminant = D65
X = imaR.*0.4124 + imaG.*0.3576 + imaB.*0.1805;
Y = imaR.*0.2126 + imaG.*0.7152 + imaB.*0.0722;
Z = imaR.*0.0193 + imaG.*0.1192 + imaB.*0.9505;

%pasando de XYZ a Lab
var_X = X./95.047; %usando Observador= 2°, Illuminant= D65

```

```

var_Y = Y./100.000;
var_Z = Z./108.883;

%determinando la dimension de la matriz
[nfil ncol]=size(var_X);

%seteando var_X, var_Y, var_Z
for i=1:nfil
for j=1:ncol
if (var_X(i,j)>0.008856 )
    var_X(i,j)=var_X(i,j).^(1/3);
else
    var_X(i,j)=(7.787*var_X(i,j))+(16/116);
end
end
end

for i=1:nfil
for j=1:ncol
if (var_Y(i,j)>0.008856 )
    var_Y(i,j)=var_Y(i,j).^(1/3);
else
    var_Y(i,j)=(7.787*var_Y(i,j))+(16/116);
end
end
end

for i=1:nfil
for j=1:ncol
if (var_Z(i,j)>0.008856 )
    var_Z(i,j)=var_Z(i,j).^(1/3);
else
    var_Z(i,j)=(7.787*var_Z(i,j))+(16/116);
end
end
end

%Calculando matrices L, a*, b
L =(116.*var_Y)-16;L1=mean(mean(L)); std_L= std(std(L));
a=500.*(var_X-var_Y);a1=mean(mean(a));std_a= std(std(a));
b=200.*(var_Y-var_Z);b1=mean(mean(b));std_b= std(std(b));

texto_L = strcat(num2str(L1));%, '+-',num2str(std_L))
texto_a = strcat(num2str(a1));%, '+-',num2str(std_a))
texto_b = strcat(num2str(b1));%, '+-',num2str(std_b))

set(handles.txt_L,'String',texto_L);
set(handles.txt_a,'String',texto_a);
set(handles.txt_b,'String',texto_b);

d ={Foto_Nombre,L1,a1,b1 };

punto = max(xlsread('Lorenzo tesis.xlsx', 'Data', 'A3:A200'));

set(handles.punto,'String',punto)

Celda1=strcat('B',num2str(punto+2));
Celda2=strcat('A',num2str(punto+3));
Numero=punto+1;

```

```

xlswrite('Lorenzo tesis.xlsx', d, 'Data', Celda1)
xlswrite('Lorenzo tesis.xlsx', Numero, 'Data', Celda2)

```

```

cla;

```

```

function optcnt_SelectionChangeFcn(hObject, eventdata, handles)
%declaración de variables globales
global L a b

d=size(L);
switch get(eventdata.NewValue,'Tag') % Get Tag of selected object.
case 'optL'
    [n xout]=hist(L,20);
    xlabel('Valor L')
case 'opta'
    [n xout]=hist(a,20);
    xlabel('Valor a')
case 'optb'
    [n xout]=hist(b,20);
    xlabel('Valor b')
end

n=n./d(2);

plot(xout, n*100)

ylim([0 100]);

ylabel('Porcentaje')

```

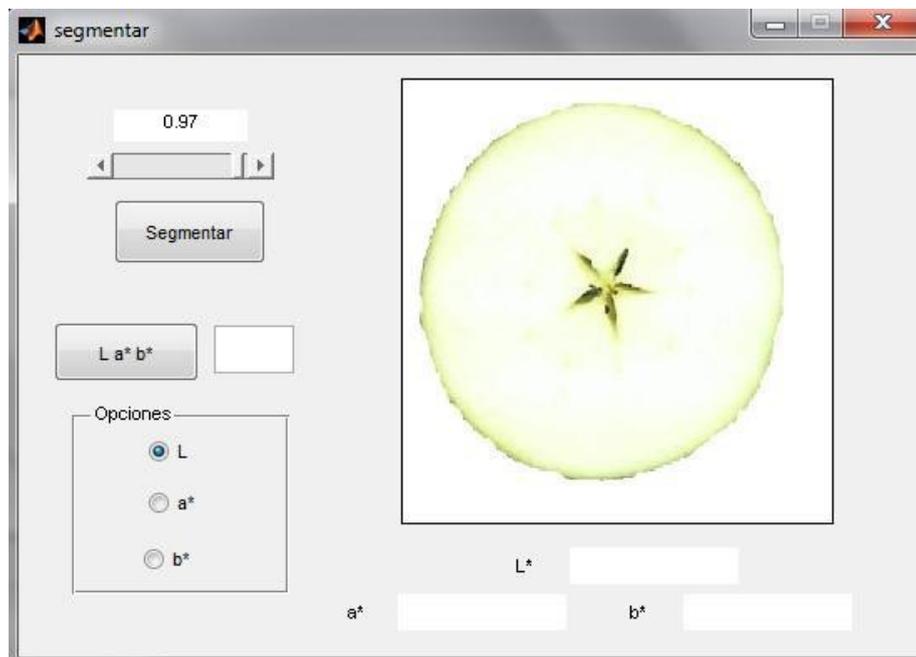


Figura 29. Interface de usuario del programa de análisis de color

A. 5) Análisis cualitativo de actividad de catalasa y peroxidasa en escaldado

FUNDAMENTO:

La destrucción de los numerosos enzimas capaces de provocar alteraciones del valor nutritivo, del color, el aroma y la textura de las hortalizas (fenolasa, clorofilasa, lipooxigenasa, antocianasa, peroxidasa etc), obliga al escaldado previo a la congelación o a la deshidratación. En la mayor parte de los casos, este tratamiento térmico debe ser sólo el justamente necesario para la inactivación de estas enzimas. Como índice de que la intensidad del mismo ha sido suficiente se utiliza generalmente la peroxidasa, por ser el más termorresistente de los mismos. Dado que el tiempo de escaldado depende de diversos factores (naturaleza del producto, tamaño, etc.) el cálculo y el control de los mismos es una práctica frecuente en la industrialización de las hortalizas. La práctica que se describe a continuación es un test cualitativo rápido. La peroxidasa cataliza una deshidrogenación directa en presencia de próxidos; en este caso el guayacol es oxidado dando una quinonacolorada.

MATERIAL UTILIZADO:

- Mortero
- Pipetas de 1ml
- Placa calefactora
- Placa petri
- Vaso de 600ml

REACTIVOS:

- Solución peróxido hidrógeno 0,5%

PROCEDIMIENTO

- Primero se sumergió la rodaja de la manzana a una temperatura de 70°C por un periodo de 30seg.
- Se cortó un pedazo de la muestra para triturarlo en un mortero, luego se colocó la muestra triturada en la placa Petri, se adicionó 5 ml de peróxido de hidrógeno cubriendo toda la muestra.
- Se observó la muestra por espacio de 2 minutos determinando si existió la producción de burbujas de oxígeno.
- En caso de existir formación de oxígeno repetir el proceso incrementando el tiempo de escaldado por 30 segundos.
- El tiempo de escaldado es aquel en el cual no hay generación de burbujas.

A. 6) Datos medios de parámetros L, a* y b*

Tabla 15. Valor medio del parámetro L

Tiempo	10			25			40		
	ST10	ES10	SF10	ST25	ES25	SF25	ST40	ES40	SF40
0	98.39	95.50	99.10	98.41	95.92	97.34	98.71	97.84	95.75
30	98.10	94.00	97.16	97.95	96.62	96.88	98.73	95.00	93.90
60	96.70	92.10	97.23	96.34	94.85	97.07	96.70	93.91	95.29
90	96.35	92.72	98.31	96.55	95.34	97.45	97.11	93.91	93.66
120	98.11	95.73	98.08	96.09	93.34	96.62	97.65	95.65	94.89
150	98.44	95.18	97.48	96.51	95.96	97.79	98.59	96.18	95.86
180	96.28	92.04	96.12	96.40	94.51	94.02	98.40	92.93	95.93
210	96.91	92.36	97.75	95.55	94.46	95.71	96.96	93.00	95.67
240	98.03	93.44	98.65	95.59	94.09	95.96	97.78	93.48	95.44

Tabla 16. Valor medio del parámetro a*

Tiempo	10			25			40		
	ST10	ES10	SF10	ST25	ES25	SF25	ST40	ES40	SF40
0	-3.70	-4.13	-4.16	-2.98	-3.48	-4.16	-4.44	-5.48	-4.18
30	-4.02	-3.29	-5.15	-4.69	-5.15	-4.39	-4.19	-4.23	-3.82
60	-4.89	-3.01	-4.61	-2.99	-2.96	-3.85	-3.89	-3.91	-4.48
90	-4.10	-3.81	-4.76	-4.15	-3.33	-4.27	-3.32	-4.01	-3.92
120	-3.17	-2.95	-4.74	-3.74	-2.06	-4.38	-3.21	-4.69	-5.28
150	-2.62	-2.94	-4.90	-5.02	-4.64	-4.90	-3.42	-6.06	-4.87
180	-2.97	-3.65	-4.43	-4.70	-3.27	-3.38	-3.27	-3.55	-4.59
210	-2.00	-3.37	-4.57	-4.43	-3.48	-4.75	-2.80	-4.18	-4.07
240	-1.99	-3.25	-4.24	-3.69	-4.24	-3.93	-2.87	-4.47	-3.97

Tabla 17. Valor medio del parámetro b*

Tiempo	10			25			40		
	ST	ES	SF	ST	ES	SF	ST	ES	SF
0	7.03	11.56	5.58	5.67	8.76	8.37	8.82	12.76	10.54
30	8.38	14.17	14.26	10.49	16.11	11.76	8.42	18.74	11.73
60	15.91	14.47	13.48	10.65	13.25	10.60	15.89	19.31	14.34
90	16.43	16.16	11.43	12.33	16.66	11.46	15.95	20.39	14.90
120	14.52	13.86	12.29	13.35	15.37	11.98	14.64	23.58	17.45
150	12.95	15.94	14.51	14.79	19.37	11.70	13.05	27.47	12.80
180	15.72	18.80	15.56	13.30	16.70	13.68	12.60	19.86	11.80
210	14.95	16.63	11.34	14.01	16.97	13.90	17.83	22.35	9.82
240	14.41	14.84	9.49	13.96	19.97	14.36	15.72	21.44	10.68