

Optimización de las características físicas y químicas del puré de manzana (*Malus domestica*) para la extracción de su esencia

Diana Gabriela Carvajal Aldaz

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2007

ZAMORANO
CARRERA AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Optimización de las características físicas y químicas del puré de manzana (*Malus domestica*) para la extracción de su esencia

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar el título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura.

Presentado por:

Diana Gabriela Carvajal Aldaz

Zamorano, Honduras

Diciembre, 2007

La autora concede a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reserva el derecho de autor.

Diana Gabriela Carvajal Aldaz

Zamorano, Honduras
Diciembre, 2007

Optimización de las características físicas y químicas del puré de manzana (*Malus domestica*) para la extracción de su esencia

Presentado por:

Diana Gabriela Carvajal Aldaz

Aprobado:

Francisco J. Bueso, Ph.D.
Asesor Principal

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Director
Carrera Agroindustria Alimentaria

Rodolfo Cojulún, M. Sc
Asesor

Raúl Espinal, Ph.D.
Decano Académico

David Del Pozo, Ph.D.
Asesor externo

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A Dios.

A mis padres, Ramiro Carvajal y Fanny Aldaz.

A mi abuelita, Clara Vega.

A mi hermano, Marco Carvajal.

A mis amigos.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermano y abuelita Clara por apoyarme a culminar mis metas y ser lo más grande e importante que tengo en la vida.

Al Dr. Espinal por la confianza y ayuda brindada durante mi formación profesional.

A mis asesores Dr. Bueso, Dr. Del Pozo e Ing. Rodolfo Cojulún por su paciencia y apoyo en todo el proceso del presente trabajo.

A todos los profesores de la Carrera Agroindustria por la paciencia, conocimientos y consejos.

Al Dr. David Del Pozo y a la Ing. Flor Núñez por darme la oportunidad de trabajar con ellos y aprender mucho sobre investigación y también por ser un gran apoyo y guía para mí. Además de la gran amistad que me brindan.

A mis mejores amigas de toda la vida Eliana y Andrea por siempre brindarme su amistad incondicional.

A mis amigas más cercanas en Zamorano Lucy Faz, Paola Meneses, Gabriela Araujo, Gabriela Montero, Natalia y Carolina Latorre, Verónica y Marcia Benítez, Nancy Hernández, Dorian Salinas, Paulina Naranjo y Massiel Alencastro por compartir los mejores momentos en Zamorano.

A mis amigos más cercanos César Odicio, Fabián Díaz, Gabriel Jaramillo, Diego Layedra y Andrés Berman por su apoyo y amistad incondicional.

En general a todos mis compañeros de la clase 07 y en especial a la Carrera Agroindustria, ¡muchas gracias!

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

A mis padres por su apoyo económico.

A Zamorano por la beca parcial otorgada.

Al Dr. Dan Wampler por brindarme la oportunidad de trabajar en su laboratorio durante mi pasantía y realización del proyecto.

RESUMEN

Carvajal, D. 2007. Optimización de las características físicas y químicas del puré de manzana (*Malus domestica*) para la extracción de su esencia. Proyecto especial del Programa de Ingeniería en Agroindustria Alimentaria. Zamorano, Honduras. 26p.

La manzana (*Malus domestica*) es la fruta más popular y el segundo cultivo de mayor valor económico en los Estados Unidos. Sensus LLC ubicada en Ohio, Estados Unidos se dedica a la producción de ingredientes naturales del sabor como esencias de frutas. El objetivo de este estudio fue determinar la variedad adecuada para el proceso de extracción de esencia, la cantidad de antioxidante adecuada para la inhibición de oscurecimiento enzimático del puré y el tratamiento enzimático indicado para obtener el mayor rendimiento de extracción de jugo. Los estudios preliminares se llevaron a cabo en el Departamento de Desarrollo e Investigación de Sensus LLC y finalmente en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ). Se utilizaron cuatro variedades de manzana Jonagold, Braeburn, Gala y Fuji para el análisis sensorial y un panel entrenado de cuatro personas. Debido a su excelente perfil aromático e índice de madurez, la variedad Fuji fue seleccionada como la variedad óptima para la extracción de esencia. Al puré de manzana Fuji (20% agua y 80% manzana) se le aplicaron tres concentraciones (150 ppm, 300 ppm y 450 ppm) de ácido ascórbico (AA) tomando muestras a los intervalos de 0, 15, 30, 45 y 60 min para evaluar el cambio del valor L* como medida subjetiva de oscurecimiento. Por separado, en un puré similar se compararon viscosidad y rendimientos de jugo (%) de tres tratamientos enzimáticos: 200 ppm de Pectinex® 3X L (P3XL), 400 ppm de Pectinex® SP-L (PSP-L) y una combinación de ambas enzimas a las mismas concentraciones vs. un testigo a un baño maría de 40°C por 0, 30, 60 y 90 min. La adición de AA a 450 ppm presentó la mejor inhibición del oscurecimiento enzimático causada por la polifenoloxidasasa (PPO) sin afectar la calidad sensorial del puré. El mejor tratamiento enzimático fue la combinación de 200 ppm Pectinex® 3X L y 400 ppm Pectinex® Ultra SP-L, el cual redujo la viscosidad del puré en un 90% después de 60 minutos de tratamiento enzimático a la vez de incrementar el rendimiento de jugo en un 35%. Esto en comparación al testigo que disminuyó la viscosidad en un 26% y produjo un rendimiento del 2%.

Palabras clave: ácido ascórbico, antioxidante, enzima, esencia.

CONTENIDO

Portadilla.....		i
Autoría.....		ii
Página de firmas.....		iii
Dedicatoria.....		iv
Agradecimientos.....		v
Agradecimiento a patrocinadores.....		vi
Resumen.....		vii
Contenido.....		viii
Índice de cuadros.....		x
Índice de figuras.....		xi
Índice de anexos.....		xii
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	OBJETIVOS.....	2
1.1.1	Objetivo general.....	2
1.1.2	Objetivos específicos.....	2
2.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1	GENERALIDADES.....	3
2.1.1	Importancia económica y distribución geográfica.....	3
2.1.2	Variedades.....	4
2.2	OSCURECIMIENTO ENZIMÁTICO.....	4
2.3	TRATAMIENTOS ENZIMÁTICOS.....	5
2.4	ESENCIA.....	6
2.5	CALIDAD GUSTATIVA.....	6
3.	MATERIALES Y METODOS.....	7
3.1	UBICACIÓN.....	7
3.2	MATERIALES Y EQUIPO.....	7
3.2.1	Análisis sensorial y caracterización química.....	7
3.2.2	Inhibición del oscurecimiento enzimático.....	7
3.2.3	Tratamientos enzimáticos.....	8
3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	8
3.3.1	Análisis sensorial.....	8
3.3.2	Inhibición del oscurecimiento enzimático en el puré de manzana Fuji.....	8
3.3.3	Tratamiento enzimático en el puré de manzana Fuji.....	8
3.4	MÉTODOS.....	9

3.4.1	Análisis sensorial.....	9
3.4.2	Inhibición de oscurecimiento enzimático en el puré de manzana Fuji.....	9
3.4.3	Tratamiento enzimático en el puré de manzana Fuji.....	9
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	10
3.5.1	Análisis sensorial.....	10
3.5.2	Inhibición de oscurecimiento enzimático en el puré de manzana Fuji.....	10
3.5.3	Tratamientos enzimáticos en el puré de manzana Fuji.....	10
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
4.1	ANÁLISIS SENSORIAL.....	11
4.2	INHIBICIÓN DE OSCURECIMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PURÉ DE MANZANA FUJI.....	12
4.3	EFFECTO DE TRATAMIENTOS ENZIMÁTICOS EN EL PURÉ DE MANZANA FUJI.....	13
4.3.1	Efecto en la viscosidad en el puré de manzana Fuji.....	13
4.3.2	Efecto en el rendimiento de jugo del puré de manzana Fuji.....	15
5.	CONCLUSIONES.....	16
6.	RECOMENDACIONES.....	17
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	18
8.	ANEXOS.....	20

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Principales productores de manzana a nivel mundial.....	3
2.	Variedades de manzana adaptado por el autor.....	4
3.	Análisis sensorial cualitativo y cuantitativo.....	11
4.	Características de los purés.....	11
5.	Resumen de prueba de escala simple de preferencia.....	12
6.	Características del puré de manzana Fuji antes del tratamiento enzimático...	13
7.	Características del puré de manzana Fuji después del tratamiento enzimático.....	14

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Efecto del ácido ascórbico en la luminosidad (Valor L*) del puré de manzana Fuji.....	13
2.	Efecto de los tratamientos enzimáticos en la viscosidad del puré de manzana Fuji.....	14
3.	Rendimiento de jugo de manzana Fuji en porcentaje a través del tiempo.....	15

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1.	Ficha técnica de Pectinex® 3X L.....	21
2.	Ficha técnica Pectinex® SP-L.....	22
3.	Efecto del ácido ascórbico en la inhibición del oscurecimiento enzimático del de manzana Fuji.....	24
4.	Efecto de tratamientos enzimáticos en la viscosidad del puré de manzana Fuji.....	25
5.	Efecto de tratamientos enzimáticos en el rendimiento de jugo del puré de manzana Fuji.....	26

1. INTRODUCCIÓN

La manzana (*Malus domestica*) es la fruta más popular, por ser una importante fuente alimenticia en climas fríos (soporta hasta -10°C) y poseer un alto valor nutricional a pesar del almacenamiento prolongado (Infoagro, 2005).

Las manzanas son el segundo cultivo de mayor valor económico en los Estados Unidos precedido por las naranjas. Los estadounidenses consumen 8.89 kg, es decir alrededor de 65 manzanas por año. El 61% de las manzanas se consumen como fruta fresca y el 39% son procesadas (UIUC, 2005).

Del porcentaje destinado al procesamiento el 21% se procesa como jugo y cidra (UIUC, 2005). También se procesa como puré, snack, esencia y otros derivados, dependiendo siempre de las características de la variedad.

Sensus LLC se dedica a producir ingredientes naturales del sabor con la más alta calidad. Esta compañía cuenta con dos plantas procesadoras, su matriz de operaciones, investigación y desarrollo y central de manufactura de café y té situada en Hamilton-Ohio y opera con una capacidad de extracción de 18 000 lb/h de material hortícola. La segunda instalación se encuentra en Los Baños-California y se dedica al procesamiento de tomate (Sensus, 2005).

Sensus LLC manufactura dos líneas de ingredientes de sabor: la base y la esencia. La esencia contiene la fracción aromática del producto hortícola y la base consiste en la pulpa sin aroma, ácidos orgánicos, compuestos no volátiles, sabor, azúcares, etc. (Sensus, 2005).

La problemática en el procesamiento de la manzana está enfocada en el proceso de post-cosecha, almacenamiento, oscurecimiento enzimático y los tratamientos enzimáticos adecuados en la maceración de la pulpa.

Las nuevas tendencias alimenticias de los consumidores obligan a la industria alimenticia a la búsqueda de alternativas que mantengan el valor nutritivo y los atributos sensoriales, factores importantes para la extracción de la esencia de esta fruta por Sensus LLC.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

- Optimizar el puré de manzana para ser procesado como esencia.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar la variedad de manzana adecuada para producir esencias para el mercado norteamericano.
- Determinar cual de las tres concentraciones de ácido ascórbico inhiben el oscurecimiento del puré.
- Determinar el tratamiento que permita disminuir más la viscosidad y aumentar el rendimiento del puré.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 GENERALIDADES

La manzana (*Malus domestica*) es un pomo globoso, con pedúnculo corto y numerosas semillas de color pardo brillante. Es el fruto de mayor difusión a escala mundial, debido a su facilidad de adaptación a climas y suelos, su valor alimenticio y terapéutico, la calidad y diversidad de productos que se obtienen en la industria transformadora (Infoagro, 2005).

2.1.1 Importancia económica y distribución geográfica

Por proceder de climas muy fríos la manzana resiste temperaturas de hasta -10°C , lo que ha permitido cultivarla a gran escala en todos los países de clima relativamente fríos como Estados Unidos (Infoagro, 2005).

A nivel mundial se producen aproximadamente 60 millones de toneladas de manzana al año en una superficie de 5.6 millones de hectáreas, siendo China el principal productor con más de 25 millones de toneladas, seguido de Estados Unidos de América con 4 millones (Cuadro 1). Estos países aportan el 45% de la producción mundial (CIAD, 2005).

Cuadro 1. Principales productores de manzana a nivel mundial.

País	Producción (*TM)
China	25 006 500
Estados Unidos	4 254 290
Turquía	2 550 000
Irán	2 400 000
Italia	2 184 875
Francia	2 123 000
Polonia	2 050 000
Federación de Rusia	2 050 000
Alemania	1 600 000
India	1 470 000

*TM: Tonelada Métrica
Fuente: FAO, 2005

2.1.2 Variedades

Alrededor del mundo existen 7 500 variedades de manzana, de las cuales Estados Unidos posee 2,500. De estas 15 suman el 90% de la producción estadounidense. Las siguientes son las que encabezan la lista: Red Delicious, Golden Delicious, McIntosh, Rome Beauty, Granny Smith, Jonathan, Cork Imperial, Stayman, Newtown Pippin y Winesap (UIUC, 2005). El Cuadro 2 muestra las características de algunas variedades.

Cuadro 2. Variedades de manzana adaptado por el autor.

Variedad	Cualidades	Formas de Consumo	Disponibilidad
Braeburn	Color: rojo con rayas verdes	Snack fresca	Finales de abril hasta mediados de octubre
	Textura: súper crujiente	Ensaladas	
	Sabor: ligeramente ácida	Cocida	
	Aroma: fuerte	Salsas	
Fuji	Color: rojo con manchas verdes	Snack fresca	Octubre hasta junio
	Textura: crujiente y jugosa	Ensaladas	
	Sabor: dulce	Salsas	
	Aroma: fuerte		
Gala	Color: rosa amarillento	Snack fresca	Septiembre hasta junio
	Textura: crujiente	Ensaladas	
	Sabor: dulce - acidulado		
	Aroma: suave a moderado		
Jonagold	Color: verde rojizo	Snack fresca	Octubre hasta mayo
	Textura: crujiente y jugosa	Cocida	
	Sabor: picante - dulce		
	Aroma: suave		

Fuente: Apple Country, 2005.

2.2 OSCURECIMIENTO ENZIMÁTICO

El oscurecimiento enzimático que se presenta en la superficie de corte y heridas, es causado por la acción de la enzima polifenol oxidasa (PPO). Esta enzima, al ocurrir la ruptura de las células, se pone en contacto con los sustratos fenólicos y en presencia de oxígeno inicia la reacción que conduce a la formación de quinonas, las que reaccionan entre sí con otros compuestos formando melaninas, que son complejos macromoleculares de color oscuro (Lu *et al.*, 2006).

El oscurecimiento enzimático es considerado el principal factor que afecta al color de los frutos cortados. Las reacciones enzimáticas que ocurren en productos vegetales están catalizadas por las polifenol-oxidasas que intervienen en la hidroxilación de monofenoles a orto-difenoles: ortofenol monoxigenasa, o tirosinasa; y en la oxidación de orto-fenoles a

orto-diquinonas: catecolasa (Makris y Rossiter, 2002), seguido de la formación de melaninas de color pardo mediante una reacción no enzimática (Josling y Pointing, 1951).

La intensidad del oscurecimiento y cambios en el color está influenciada por la concentración de formas activas de la enzima y por el contenido de fenoles del tejido vegetal. Este contenido de fenoles depende de numerosos factores, como la variedad, la madurez del fruto, o incluso los factores medio ambientales (Cano y col., 2004).

Nuevas tecnologías de procesamiento, como tratamientos: térmicos, de alta presión y con dióxido de carbono supercrítico han sido propuestas para evitar el oscurecimiento en productos de fruta fresca, ya que inactivan la acción de la enzima PPO cuando la desnaturalizan. Otro método es la adición de agentes sulfiticos, pero debe declararse su presencia en la etiqueta por ser un agente alérgico, según la FDA en 1986 por producir riesgos a la salud (Buta *et al.*, 1999).

En años recientes, un número de candidatos naturales han sido encontrados para inhibir el oscurecimiento satisfactoriamente. Ejemplos son ácido ascórbico (0.02-0.5%), ácido cítrico, 4-hexylresorcinol (0.0005-0.01%), miel, L-cisteína (0.19-0.35 g/L). Sin embargo, el candidato potencial para sustituir los sulfitos es el ácido ascórbico ya que no deteriora la calidad gustativa por ser un ácido débil (Liao, 1988), aunque en grandes cantidades puede ser un pro-oxidante y afectar la acidez del producto final.

El ácido ascórbico posee la habilidad de reducir las quinonas a compuestos fenólicos antes de que éstas formen pigmentos oscuros (Walker, 1995), mientras que el ácido cítrico inactiva a la enzima PPO al disminuir el pH del sistema y secuestrar metales de transición. El ácido cítrico forma un complejo con el cobre ubicado en el grupo prostético de la PPO bloqueando el sitio activo de la enzima y consecuentemente reduciendo la actividad enzimática (Lambrecht, 1995).

2.3 TRATAMIENTOS ENZIMÁTICOS

La pared celular de la manzana consiste de diferentes polisacáridos, especialmente pectinas (0.54%), hemicelulosas (0.34%) y celulosas (0.70%). Estos polisacáridos tienen influencia en el procesamiento al tener relación directa con el rendimiento de extracción de jugo, facilidad de concentración y operaciones tales como bombeo. En la actualidad se hace uso de tratamientos enzimáticos como el de las pectinasas con el objetivo de mejorar la compresión, calidad y propiedades sensoriales (Schmidt, 1988).

En la industria se utiliza un cocktail enzimático que en su mayoría contiene pectinasas capaces de hidrolizar pectinas de alta y baja esterificación y también contienen otras enzimas capaces de hidrolizar parcialmente la celulosa, hemicelulosa, almidón y proteínas para disminuir la viscosidad del puré (Schmidt, 1988). Esto permite una rápida y más extensiva maceración de la fruta para obtener mayor liberación del jugo y componentes del sabor. En la industria se utilizan 6.7 kg de manzana para producir un kilogramo de jugo concentrado esto es un rendimiento del 14.92%.

Pectinex® 3X L es una combinación de pectinranseliminasa, poligalacturonasa y pectinesterasa con un lugar activo de arabanasa usada en el tratamiento de jugos de fruta. Trabaja a condiciones óptimas de temperatura (20-50°C) y pH (3.0-4.5) (Novozymes, 2007).

Pectinex® Ultra SP-L es una combinación de pectinasas que contienen un rango hemicelulítico que es usado en la industria del procesamiento de frutas como manzana y pera para obtener una rápida reducción de viscosidad y mayor rendimiento en la capacidad de extracción de jugo. Para realizar su trabajo las condiciones óptimas de temperatura son 15-55°C y un pH de 2.8-4.5 (Novozymes, 2007).

2.4 ESENCIA

Se entiende por esencia a la fracción aromática del producto obtenido por concentración bajo vacío a temperaturas de 30°C a 120°C del condensado de la hidro-destilación de vegetales o sus jugos. La esencia constituye una mezcla de sustancias que en su mayor parte (95-98%) son miscibles en el agua de condensación, el porcentaje restante lo constituye aldehídos, cetonas, ésteres que a la temperatura de 3-4°C aún permanecen en estado gaseoso, denominándose por ellos “incondensables” (Gáscon y Pelayes, 2002).

La esencia de la manzana es un complejo de volátiles que incluyen ésteres, aldehídos, cetonas, alcoholes, etc. Varios estudios fueron observados en la identificación de los volátiles odorantes más potentes por Cromatografía de Gases (GC). Así, el acetato butírico, el acetato 2-methylbutyl, el acetato hexyl, y el hexyl hexenoato se han identificado como responsables del aroma total de la manzana en varios cultivares. Las manzanas verdes poseen hexanal y trans-2-hexanal como compuestos característicos, estos se forman después de la ruptura de las células durante el procesamiento o masticado. Otros compuestos, como butan-1-ol, posee un aroma dulce; ethyl, 2-methylbutanoato, son responsables de un aroma frutal (Song *et al.*, 1997).

2.5 CALIDAD GUSTATIVA

En frutas y hortalizas, el sabor se expresa normalmente en términos de la combinación de principios dulces y ácidos, la que es un indicador de la madurez y de la calidad gustativa. El contenido de sólidos solubles (°Brix) es una buena estimación del contenido de azúcares totales y muchos frutos deben contener un contenido mínimo de sólidos para ser cosechados (para manzanas 10.5-12.5). Los ácidos orgánicos (cítrico, málico, oxálico, tartárico) son el otro importante componente del sabor y tienden a disminuir a medida que el fruto madura por lo que la relación con los sólidos solubles tiende a aumentar. La acidez titulable es la forma de expresar la acidez. La relación sólidos solubles/acidez titulable se denomina ratio o índice de madurez (FAO, 2003). Las tres variedades más preferidas por el mercado norteamericano durante el año 2003 fueron Red Delicious, Golden Delicious y Fuji. Las nuevas variedades al alcance de los consumidores son Gala, Fuji, Pink Lady, Cameo y Jonagold.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN

El análisis sensorial fue realizado en el Departamento de Investigación y Desarrollo de Sensus LLC, Ohio, Estados Unidos. Mientras que el estudio de inhibición del oscurecimiento enzimático y de los tratamientos enzimáticos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (LAAZ) ubicado en el departamento de Francisco Morazán, Honduras.

3.2 MATERIALES Y EQUIPO

3.2.1 Análisis sensorial y caracterización de los purés

- Cuatro variedades de manzana Braeburn, Fuji, Gala, Jonagold
- Agua destilada
- Bolsas plásticas
- Potenciómetro
- Solución NaOH (1N)

3.2.2 Inhibición del oscurecimiento enzimático

- Manzana Fuji
- Ácido ascórbico
- Beakers de 250 ml
- Colorflex HunterLab®
- Balanza ADVENTURE™, marca OHAUS, modelo AR2140
- Potenciómetro ATAGO DPH-1 Cat N°4310

3.2.3 Tratamientos enzimáticos

- Pectinex® 3X L (Novozymes, Estados Unidos) de origen *Aspergillus niger* con 3000 PECTU¹/ml y una densidad de 1,14 g/ml (Anexo 1)
- Pectinex® Ultra SP-L (Novozymes, Estados Unidos) de origen *Aspergillus aculeatus* con 9500 PGU²/ml y una densidad de 1,12 g/ml (Anexo 2)
- Baño María
- Centrífuga IEC MODEL K
- Balanza HEAVY DUTY, marca OHAUS
- Pipetas de 1 ml y 10 ml
- Agua
- Manzana Fuji
- Viscosímetro Brookfield DV-II
- Refractómetro ATAGO RX-5000 α Cat N°3261

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.3.1 Análisis sensorial

El análisis descriptivo cualitativo-cuantitativo realizado a los panelistas fue tabulado y analizado utilizando un diseño completamente al azar (DCA).

3.3.2 Inhibición del oscurecimiento enzimático en el puré de manzana Fuji.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con tres repeticiones para evaluar el efecto de las concentraciones de ácido ascórbico (150 ppm, 300 ppm, 450 ppm) con medidas repetidas en el tiempo. Se tomaron muestras a los intervalos de 0, 15, 30, 45 y 60 minutos.

3.3.3 Tratamientos enzimáticos en el puré de manzana Fuji.

Se evaluó un testigo y tres tratamientos con 400 ppm Pectinex® Ultra SP-L, 200 ppm Pectinex® 3X L y una combinación de ambas. En tres repeticiones de cada ensayo y un diseño completamente al azar (DCA) con medidas repetidas en el tiempo (0, 30, 60 y 90 minutos).

¹ PECTU: Unidades de pectinasa.

² PGU: Unidades de poligalacturonasa.

3.4 MÉTODOS

3.4.1 Análisis sensorial

Se utilizó puré de cada una de las cuatro variedades de manzana constituido de 20% agua y 80% manzana. Se realizó un análisis descriptivo cualitativo-cuantitativo y una prueba de escala preferencial simple para determinar la variedad más adecuada (1= más preferido y 4= menos preferido); con cuatro panelistas entrenados. Los atributos evaluados fueron aroma, dulzura y acidez. También se midieron los sólidos solubles (°Brix) y la acidez titulable, para predecir la aceptabilidad de las manzanas.

Estas cuatro variedades se escogieron por su perfil de sabor, ya que las manzanas rojas son más dulces en relación a las de piel verde como Granny Smith. Otro parámetro decisivo fue la disponibilidad de las variedades por la época de cosecha y el precio, además de que gozan del agrado de los consumidores por ser variedades relativamente nuevas.

3.4.2 Inhibición de oscurecimiento enzimático en el puré de manzana Fuji

Se tomó un testigo del puré de manzana Fuji y otras tres porciones a las que se le agregaron tres concentraciones de ácido ascórbico (150 ppm, 300 ppm y 450 ppm). A continuación utilizando el Colorflex Hunter Lab® se midieron los valores L* luminosidad, a* rango de color rojo a verde y b* rango de color de amarillo a azul. Las muestras fueron tomadas en intervalos de tiempo de 0, 15, 30, 45 y 60 minutos. Este ensayo se repitió tres veces. Por último se analizaron los datos obtenidos del valor L* por ser una medida subjetiva confiable del oscurecimiento enzimático.

3.4.3 Tratamiento enzimático en el puré de manzana Fuji

Los tratamientos utilizados fueron:

1. Testigo
2. 200 ppm Pectinex® 3X L
3. 400 ppm Pectinex® Ultra SP-L
4. 200 ppm Pectinex® 3XL+400 ppm Pectinex® Ultra SP-L

Se prepararon 2 000 g de puré de manzana Fuji para cada una de las tres repeticiones, se colocó en beakers rotulados y fueron expuestos a un baño maría a 45°C. Cuando el puré alcanzó una temperatura de 40°C se aplicó el tratamiento enzimático respectivo. Seguido se tomaron los primeros datos de viscosidad, rendimiento, pH y °Brix para los intervalos de tiempo 0, 30, 60 y 90 minutos.

Para medir la viscosidad se preparó el viscosímetro Brookfield DV-II con el spindle N°6 y se calibró a 100 revoluciones por minuto (RPM). Posteriormente se tomaron muestras por

duplicado de cada uno de los tratamientos a 40°C y los datos fueron reportados en centipoises (cP).

Al evaluar el rendimiento de las muestras, se llenó 10 cm de puré por cada tubo de ensayo que fueron colocados en la centrífuga por 15 minutos a 2 500 RPM. Los datos se reportaron en centímetros de longitud de la porción líquida presente en cada tubo de ensayo y fueron interpretados como porcentaje de rendimiento con respecto a lo inicial.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.5.1 Análisis sensorial

Los resultados obtenidos del análisis sensorial fueron evaluados por el programa SAS[®] “Statistical Analysis System” utilizando un análisis de varianza (ANDEVA) con una significancia de 0.05 y una separación de medias Tukey. Para la prueba de escala preferencial simple se utilizó la Tabla G-23 Rank-total (Kramer, 1974. “Chemical Sense and flavor”. Vol 1 p 121-123) con un nivel de significancia del 5% para determinar la preferencia entre las cuatro variedades de manzana.

3.5.2 Inhibición de oscurecimiento enzimático en el puré de manzana Fuji

Los resultados de la inhibición enzimática por acción del ácido ascórbico entre los tratamientos enzimáticos y el testigo se evaluaron con el programa SAS[®] utilizando un análisis de varianza múltiple (MANOVA) con una significancia de 0.05 y una separación de medias Tukey, para determinar si existía diferencia significativa entre tiempo y tratamientos.

3.5.3 Tratamientos enzimáticos en el puré de manzana Fuji

Se hizo un análisis de varianza múltiple (MANOVA) con una significancia de 0.05 y una separación de medias Tukey con la ayuda del programa SAS[®], para determinar el tratamiento enzimático que nos permita reducir la viscosidad al máximo y obtener mayores resultados de rendimiento.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ANÁLISIS SENSORIAL

El Cuadro 3 nos indica que los panelistas no pudieron detectar diferencias significativas en los atributos de aroma y dulzura entre las cuatro variedades de manzana. En cuanto a acidez, la única diferencia significativa fue entre la variedad Fuji y la variedad Braeburn, coincidiendo con los valores de AT descritas en el Cuadro 4.

Cuadro 3. Análisis sensorial cualitativo y cuantitativo¹.

Variedad	Aroma	Dulzura	Acidez
Braeburn	5.87 ± 1.44 ^a	5.75 ± 2.63 ^a	8.75 ± 1.89 ^a
Fuji	8.00 ± 2.45 ^a	7.38 ± 2.14 ^a	2.75 ± 1.26 ^b
Gala	5.50 ± 1.29 ^a	6.75 ± 1.50 ^a	6.75 ± 1.50 ^{ab}
Jonagold	7.25 ± 0.96 ^a	7.25 ± 1.25 ^a	5.25 ± 3.09 ^{ab}

¹ Cada valor es expresado como la media ± la desviación estándar (n=4). Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05)

La manzana Fuji presentó la mayor relación entre sólidos solubles (°Brix) y porcentaje de acidez titulable (%AT) (Cuadro 4), debido al bajo contenido de ácidos orgánicos y alto contenido de sólidos solubles. Esta relación es conocida como un indicador de madurez importante para la preferencia del consumidor, parámetro importante para predecir la aceptación.

Cuadro 4. Características de los purés¹.

Variedad	%*AT	°Brix	°Brix/%*AT
Braeburn	0.47 ± 0.045 ^a	13.25 ± 0.07 ^a	28.63 ± 2.95 ^c
Fuji	0.21 ± 0.007 ^c	12.05 ± 0.07 ^b	59.01 ± 2.31 ^a
Gala	0.32 ± 0.009 ^b	11.80 ± 0.00 ^c	36.85 ± 0.99 ^b
Jonagold	0.32 ± 0.002 ^b	10.55 ± 0.07 ^d	32.97 ± 0.41 ^{bc}

*AT: Acidez Titulable (ácido málico)

¹ Cada valor es expresado como la media ± la desviación estándar (n=3). Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05)

Los resultados obtenidos en la prueba de escala simple de preferencia se presentan en el Cuadro 5. Los datos de la tabla de Kramer con cuatro panelistas/cuatro muestras y un nivel de significancia del 5% fue 5-15/6-14. Los totales se encontraron dentro de los valores de la tabla, por tanto no fueron significativamente diferentes entre variedades.

Cuadro 5. Resumen de prueba de escala simple de preferencia¹.

Panelista	Braeburn	Fuji	Gala	Jonagold
1	1	4	2	3
2	1	2	4	3
3	2	1	2	3
4	4	1	4	3
Total	8 ^a	8 ^a	12 ^a	12 ^a

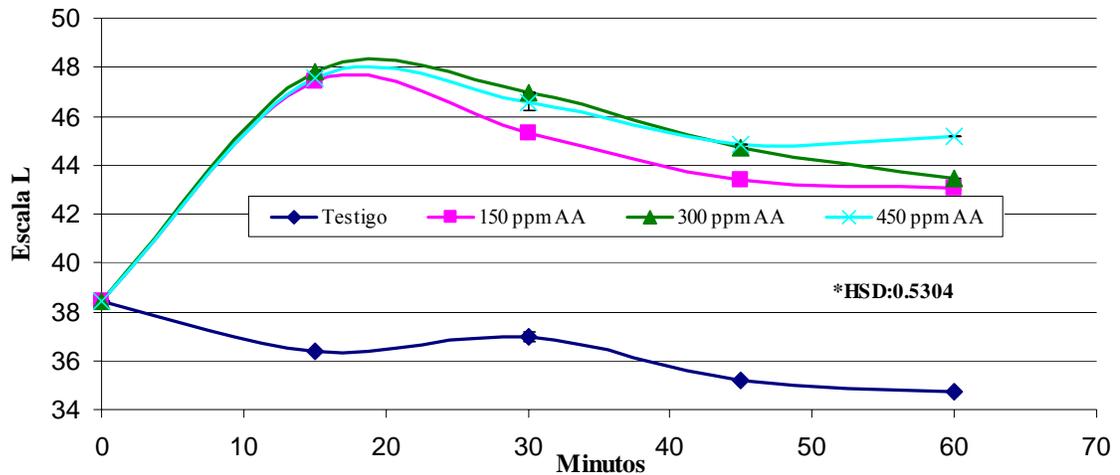
¹ Total con letra diferentes en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

Se escogió la variedad Fuji, porque a pesar de no encontrar diferencias estadísticas en aroma (8.00 ± 2.45) y dulzura (7.38 ± 2.14), fue la variedad que obtuvo mayores calificaciones en relación a las demás, también presentó menor acidez (2.75 ± 1.26) y mayor cantidad de sólidos solubles (12.05 ± 0.07 °Brix) siendo este un balance óptimo.

4.2 INHIBICIÓN DE OSCURECIMIENTO ENZIMÁTICO EN EL PURÉ DE MANZANA FUJI

Anteriores estudios utilizan el parámetro L* (luminosidad) en frutas y hortalizas como una medida subjetiva confiable del oscurecimiento enzimático que ocurre en diferentes frutos (Buta y Abbott, 2000). De la misma manera, se uso este parámetro de colorimetría para medir subjetivamente el oscurecimiento enzimático en el puré de manzana.

Los cambios en el valor L* del puré de manzana Fuji se muestran en la Figura 1. Al minuto cero se observa un valor L* de 38.4 para los purés de manzana Fuji, transcurridos 15 minutos se aprecia que el testigo decrece su luminosidad debido a que no contaba con un antioxidante que desacelerara la acción de la enzima polifenol oxidasa (PPO). A diferencia de los otros tratamientos que aumentaron su valor L* entre 46 y 48, gracias al efecto antioxidante del ácido ascórbico al reducir las quinonas a compuestos fenólicos antes de que se formen pigmentos oscuros (Walker, 1995).



*Diferencia honestamente significativa.

Figura 1. Efecto del ácido ascórbico en la luminosidad (Valor L*) del puré de manzana Fuji.

Después de los 60 minutos, el testigo decreció en 9.57% el valor L*. Sin embargo, los tratamientos que mostraron menores reducciones fueron 150 ppm, 300 ppm y 450 ppm de ácido ascórbico (AA). Finalmente de acuerdo al análisis estadístico el tratamiento de 450 ppm de AA mantuvo el valor L* más estable que los otros tratamientos, durante los 60 minutos que se monitorearon los cambios (Anexo 3).

4.3 EFECTO DE TRATAMIENTOS ENZIMÁTICOS EN EL PURÉ DE MANZANA FUJI

4.3.1 Efecto en la viscosidad en el puré de manzana Fuji

Cuadro 6. Características del puré de manzana Fuji antes del tratamiento enzimático.

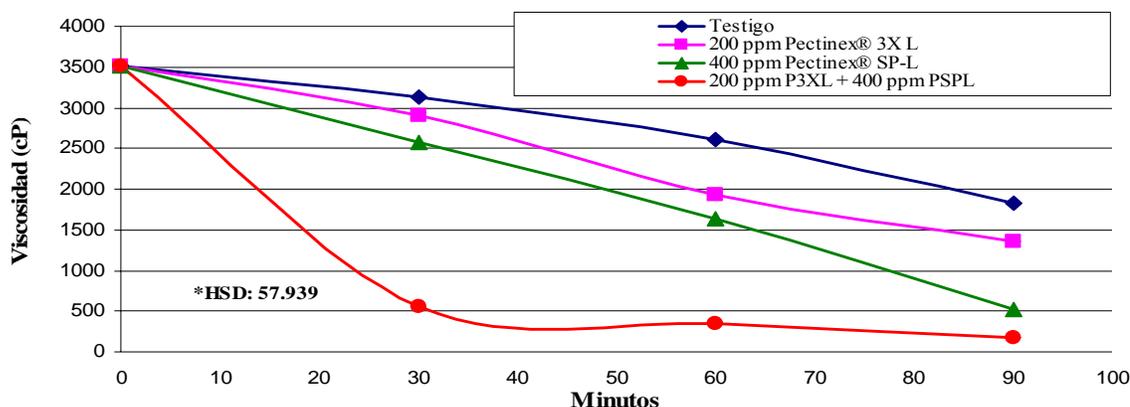
	Puré a 20°C		Pure a 40°C – 0 minutos	
	Valor	*CV (%)	Valor	*CV (%)
Sólidos solubles (°Brix)	11.40 ± 1.14	0.35	11.5 ± 0.85	1.24
pH	3.6 ± 0.08	0.59	3.6 ± 0.67	0.03

*CV: Coeficiente de Variación

Las características del puré de manzana Fuji se mantuvieron estables en cuanto a °Brix y pH, pese al cambio de temperatura que sufrió (Cuadro 6).

El Anexo 4 muestra los cambios de viscosidad del puré de manzana a través del tiempo, causado por los tratamientos enzimáticos. El testigo disminuyó su viscosidad en un 47.9%, probablemente debido a la presencia de calor que rompió los enlaces de los

componentes de la pared celular y también puede atribuirse a la presencia de enzimas endógenas. El tratamiento de 200 ppm Pectinex® 3X L con 400 ppm Pectinex® SP-L fue el mejor para este estudio, debido a que disminuyó la viscosidad inicial en un 95.2% después del tratamiento enzimático a 40°C por 90 minutos. En este estudio la combinación de Pectinex® 3X L y Pectinex® SP-L tuvo un efecto sinérgico al degradar al mismo tiempo pectinas, celulosas y hemicelulosas que conforman las paredes celulares de la manzana. Es decir rompieron los enlaces entre los polisacáridos que los componen reduciendo la viscosidad.



*Diferencia honestamente significativa.

Figura 2. Efecto de los tratamientos enzimáticos en la viscosidad del puré de manzana Fuji.

La tendencia de la viscosidad fue decreciente como se indica en la Figura 2, sin importar el tratamiento enzimático. A medida que aumentó el tiempo de exposición en el baño maría las enzimas siguieron trabajando, pero siempre el testigo tuvo mayor viscosidad. La combinación de las enzimas fue la más efectiva a los 60 minutos por disminuir la viscosidad en un 89.3% en relación a la viscosidad inicial, después de este tiempo existieron reducciones del 5% únicamente.

Cuadro 7. Características del puré de manzana Fuji después del tratamiento enzimático.

	Puré a 40°C después de 90 minutos							
	Testigo		*P3XL		*PSPL		*P3XL+*PSPL	
	Valor	*CV	Valor	*CV	Valor	*CV	Valor	*CV
°Brix	11.0±1.63	0.94	11.1±1.32	0.56	11.4±1.43	1.19	11.5±1.14	0.60
pH	3.7±0.08	1.41	3.5±0.08	0.87	3.4±0.15	1.38	3.3±0.15	1.72

*CV: coeficiente de variación (%)

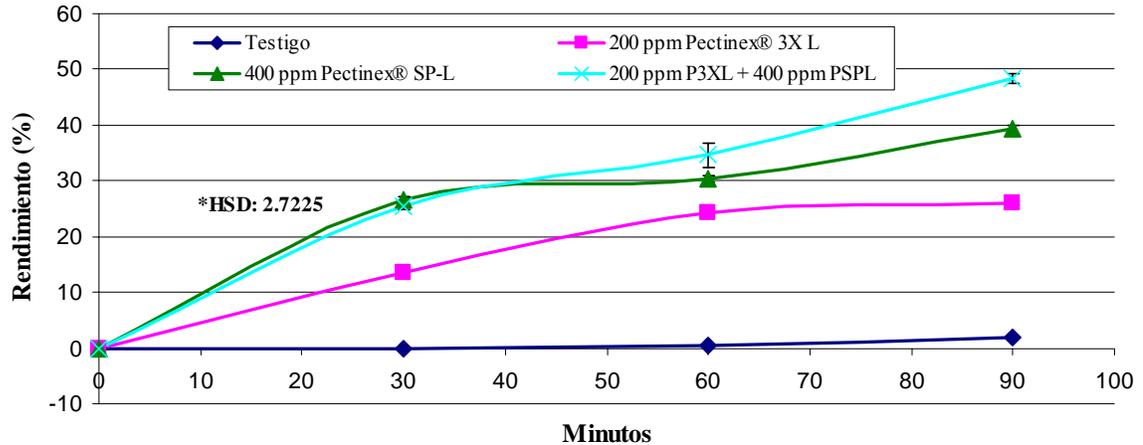
*P3XL: 200 ppm Pectinex 3XL

*PSPL: 400 ppm Pectinex Ultra SP-L

Después de los 90 minutos de exposición al tratamiento térmico y acción de las enzimas no existieron cambios importantes en la presencia de sólidos solubles (°Brix) y pH del puré de manzana Fuji (Cuadro 7).

4.3.2 Efecto en el rendimiento de jugo extraído del puré de manzana Fuji

Después de 90 minutos el testigo sólo permitió un rendimiento de jugo del 2%, mientras que los rendimientos con tratamiento enzimático obtuvieron rendimientos entre 26.0% a 48.3% mayores a los que se reporta en la industria Bello (1993). En este estudio el tratamiento de 200 ppm Pectinex® 3X L con 400 ppm Pectinex® Ultra SP-L fue el que obtuvo mayor rendimiento, comprobando la función de las enzimas en la ruptura de las paredes celulares para la liberación de agua permitiendo también percibir más el aroma (Anexo5).



*Diferencia honestamente significativa.

Figura 3. Rendimiento de jugo de manzana Fuji en porcentaje a través del tiempo.

El testigo y los tratamientos enzimáticos tuvieron una tendencia creciente en el rendimiento como se observa en la Figura 3. El crecimiento más bajo fue del testigo debido a que el calor no fue suficiente para liberar el agua atrapada entre los enlaces de los polisacáridos de la pared celular de la manzana. Después de los 60 minutos el tratamiento de 200 ppm Pectinex® 3X L no incrementó el rendimiento. Sin embargo, los tratamientos con 400 ppm Pectinex® Ultra SP-L y 200 ppm Pectinex® 3X L con 400 ppm Pectinex® Ultra SP-L continuaron con esta tendencia. Para este estudio la combinación de ambas enzimas fue el tratamiento enzimático que mayor porcentaje de rendimiento de jugo presentó.

5. CONCLUSIONES

- La variedad de manzana Fuji fue escogida por sus características cualitativas y químicas.
- La concentración de 450 ppm de ácido ascórbico inhibió mejor el oscurecimiento enzimático causado por la enzima polifenoloxidasas (PPO) durante los 60 minutos de la evaluación.
- El tratamiento enzimático de 200 ppm Pectinex® 3X L con 400 ppm Pectinex® Ultra SP-L durante 30 minutos fue el que redujo más la viscosidad y obtuvo mayores rendimientos de jugo.

6. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio del perfil de volátiles responsables del aroma de la manzana en cada variedad.
- Hacer un estudio de factibilidad de la extracción de esencia de manzana y evaluar el impacto en la rentabilidad para la compañía.

7. BIBLIOGRAFÍA

Apple County, 2005. New York Apple State (en línea). Consultado el 24 de septiembre de 2007. Disponible en: <http://www.nyapplecountry.com/jona.htm>.

Bello, 1993. Análisis de la cadena de jugo concentrado de manzana (en línea). Consultado el 30 de septiembre de 2007. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/0-3/bebidas/j_manzana/J_C_Manzana.htm.

Buta, G. J. y Abbott, J. 2000. Browning inhibition of three cultivars of fresh-cut pears. Hortscience. 35(6): 1111-1113.

Buta, G. J., Moline, H. E., Spaulding, D. W y Chiew, Y. W. 1999. Extending storage life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. J. Agric. Food Chem. 47:1-6.

Cano, M. P., Plaza, L. y De Ancos, B. 2004. Factores que intervienen en la pérdida de calidad organoléptica y nutricional de productos de la IV gama. En: G. Lobo y M. González (Ed). Productos hortofrutícolas mínimamente procesados. España.

CIAD, 2005. Chiguagua, primer productor nacional de manzana (en línea). Consultado el 23 de enero de 2007. Disponible en: http://www.ciad.mx/boletin/sep0ct05/Chih_Prod_Manzana.pdf

FAO, 2003. Manual para la preparación y venta de frutas y hortalizas (en línea). Consultado el 26 de septiembre de 2007. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/y4893s/y4893s00.htm#Contents>

FAO, 2005. Principales productores de alimentos y productos agrícolas (en línea). Consultado el 29 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.fao.org/es/ess/top/commodity.html?item=515&lang=es&year=2005>

Gáscon y Pelayes, 2002. Generalidades sobre los procesos extractivos utilizados en la extracción de aceites esenciales (en línea). Consultado el 30 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.fundacionrural.org.ar/aceites/material/Extracci%F3n%20de%20aceites%20esenciales.PD>

Infoagro, 2005. El cultivo de la manzana (en línea). Consultado el 23 de enero de 2007. Disponible en: http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/manzana2

Joslin, M. A. y Pointing, J. D. 1951. Enzymecatalyzed oxidative browning of fruits products. *Adv. Food Res.* 3: 1-7.

Kramer, 1974. "Chemical Sense and flavor". Vol 1 p 121-123.

Lambrecht, 1995. Sulfite substitute for prevention of enzymatic browning in foods. American Chemical Society. ACS Symposium Series 600. Washington, D.C. Pag. 313-323.

Liao, M; 1988. Chemistry of ascorbic acid related to food. *Food Chem.* 30: 289-312.

Lu, S; Luo, Y; Feng, H. 2006. Inhibition of Apple Polyphenol Oxidase Activity by Sodium Chlorite. American Chemical Society. Pag. 3693.

Makris, D. P. y Rossiter, J. T. 2002. An investigation on structural aspects influencing product formation in enzymatic and chemical oxidation of quercetin and related flavonols. *Food Chemistry.* 77: 177-185.

NOVOZYMES. 2007. Enzimas de procesos industriales. Ficha técnica para Pectinex Ultra SP-L y Pectinex 3XL.

Schmidt, R. Enzymes in the fruit juice industry. *Confructa- Studien* 1988, 32, 138-159.

Sensus, 2005. Sensus Flavors LLC (en línea). Consultado el 24 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.sensusflavors.com/>

Song, J; Gardner, B; Holland, J; Beaudry, R. 1997. Rapid Analysis of Volatile Flavor Compounds in Apple Fruit Using SPME and GC/Time-of-Flight Mass Spectrometry. American Chemical Society. Pag. 1801-1807.

University of Illinois al Urbana Champaign, 2005. Apple education (en línea). Consultado el 23 de enero de 2007. Disponible en: <http://www.urbanext.uiuc.edu/apples/edu-introductionB.html>

Walker, 1995. Enzymatic browning in fruits. American Chemical Society. ACS Symposium Series 600. Washington, D.C. pp:8-22.

8. ANEXOS

Anexo 1. Ficha técnica de Pectinex® 3X L.

Application

Pectinex is capable of breaking down pectic substances in plant material. Pectinex can generally be used in the fruit juice industry where quick and complete depectinization is desired. The main application is, however, in the production of apple and pear concentrates and the processing of any fruit or vegetable. Pectinex is exceedingly good for the degradation of soluble and insoluble pectins with varying degrees of esterification for viscosity reduction, clarification, depectinization and maceration of plant tissue.

However, for the treatment of apple or pear mashes we recommend the use of Pectinex Ultra SP-L. The araban activity of Pectinex is normally sufficient to avoid secondary haze in concentrates. Under special conditions, e.g. mash extraction with water or enzymation of apple and pear mashes with Pectinex Ultra SP-L, the use of Pectinex AR for juice depectinization is recommended to avoid the formation of araban haze safely.

Reaction Parameters

Activity and Stability

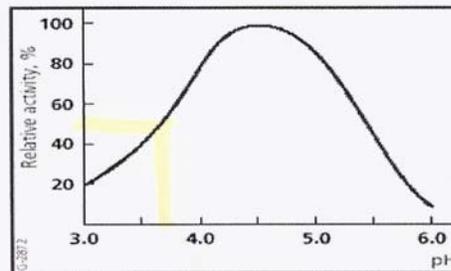


Fig. 1. Pectinase activity at different pH values.
Depectinization of apple juice at 55°C (131°F).
Reaction time 100 minutes.

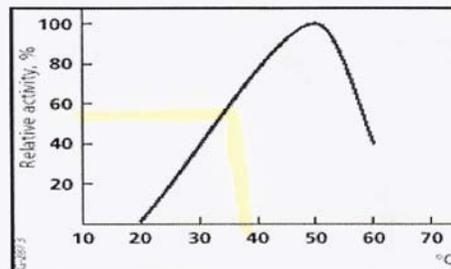


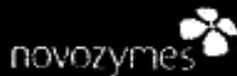
Fig. 2. Pectinase activity at different temperatures
Depectinization of apple juice at pH 3.5. Reaction time 100 minutes.

Anexo 2. Ficha técnica Pectinex® SP-L.

Fruit & Vegetable / 2001-07235-03.pdf

Product Sheet

Page 13



Pectinex® Ultra SP-L

Description

Pectinex Ultra SP-L is a highly active pectolytic enzyme preparation produced by a selected strain of *Aspergillus aculeatus*. This enzyme preparation contains pectolytic and a range of hemicellulolytic activities. It has the ability to disintegrate plant cell walls.

Product Properties

Product Type

Pectinex Ultra SP-L is a brownish liquid with a slight smell typical of fermented products and a pH of approx. 4.5.

Activity

Pectinex Ultra SP-L has a standard activity of 26,000 PG/ml (pH 3.5). The standard activity is determined by the measurement of the viscosity reduction of a solution of pectic acid at pH 3.5 and 20°C (68°F). See the Analytical Method for further information.

Solubility

The active components of Pectinex Ultra SP-L are readily soluble in water at all concentrations that occur in normal usage. Turbidity which may occur in the enzyme preparation has no influence on the volumetric activity or handling characteristics of the product.

Food-grade status

The product complies with FAO/WHO, JECFA and FCC specifications for food-grade enzymes, supplemented by maximum limits of 10^7 moulds/g. The product is bottled aseptically after sterile filtration and therefore practically germ-free.

Packaging

See the standard Packaging List for more packaging information.

Application

The preparation is especially designed for the treatment of fruit and vegetable mashes and the maceration of plant tissues. Soluble and insoluble pectins as well as haze-provoking polysaccharides are also efficiently degraded. Pectinex Ultra SP-L applied on fruit and vegetable mashes and/or pomaces leads to drastically increased capacities in solid/liquid separation (e.g. press, decanter) and higher juice yields.

Reaction Parameters

Pectinex Ultra SP-L Activity

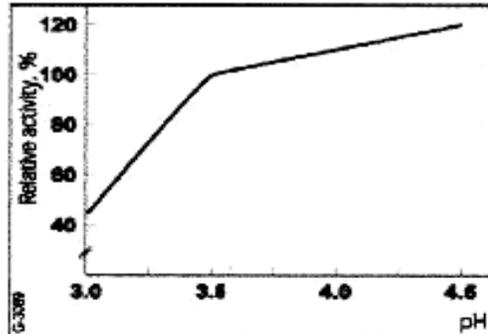


Fig. 1. Pectinase activity versus pH.
Polygalacturonase activity at 20°C (68°F)

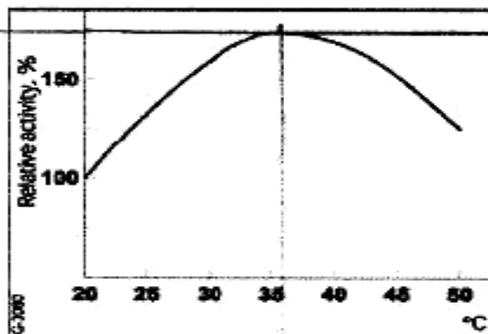


Fig. 2. Pectinase activity versus temperature.
Polygalacturonase activity at pH 3.5

Safety

Enzymes are proteins and inhalation of dust or aerosols may induce sensitization and may cause allergic reactions in sensitized individuals. Some enzymes may irritate the skin, eyes and mucous membranes upon prolonged contact.

The product may create easily inhaled aerosols if splashed or vigorously stirred. Spilled product may dry out and create dust.

Spilled material should be flushed away with water (avoid splashing). Left-over material may dry out and create dust.

A Material Safety Data Sheet is supplied with all products. See the Safety Manual for further information regarding how to handle the product safely.

Anexo 3. Efecto del ácido ascórbico en la inhibición del oscurecimiento enzimático del puré de manzana Fuji¹.

Valor L* a los intervalos de tiempo designados después del tratamiento con el ácido ascórbico					
	Tiempo (min)				
Tratamiento	0	15	30	45	60
Testigo	38.4±0.10 ^{Aa}	36.4±0.021 ^{Bd}	36.4±0.32 ^{Bc}	35.2±0.040 ^{Cd}	34.7±0.03 ^{Dd}
150 ppm *AA	38.4±0.10 ^{Ea}	47.4±0.023 ^{Ac}	45.3±0.04 ^{Bb}	43.4±0.005 ^{Cc}	43.1±0.12 ^{Dc}
300 ppm *AA	38.4±0.10 ^{Ea}	47.8±0.015 ^{Ab}	46.9±0.02 ^{Ba}	44.7±0.035 ^{Cb}	43.4±0.02 ^{Db}
450 ppm *AA	38.4±0.10 ^{Ea}	47.5±0.020 ^{Aa}	46.6±0.58 ^{Ba}	44.9±0.015 ^{Ca}	45.2±0.03 ^{Ca}

*AA: Ácido ascórbico

¹Cada valor es expresado como la media ± la desviación estándar (n=3). Medias con letras minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05). Medias con letras mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

Wilks' Lambda	Pr>F
Tiempo	<0.0001
Tiempo*Tratamiento	<0.0001

Fuente	Pr>F
Tratamiento	<0.0001
Tratamiento*Repetición	0.005
Tiempo	<0.0001
Tratamiento*Tiempo	<0.0001

Anexo 4. Efecto de tratamientos enzimáticos en la viscosidad del puré de manzana Fuji¹.

Viscosidad (cP) a los intervalos de tiempos designados durante el tratamiento enzimático				
Tiempo (min)				
Tratamiento	0	30	60	90
Testigo	3516.7±96.7 ^{Aa}	3135.0±47.7 ^{Ba}	2616.2±49.5 ^{Ca}	1831.2±10.7 ^{Da}
*P3XL	3516.7±96.7 ^{Aa}	2898.3±72.5 ^{Bb}	1925.0±25.0 ^{Cb}	1359.0±14.4 ^{Db}
*PSPL	3516.7±96.7 ^{Aa}	2569.7± 3.0 ^{Bc}	1640.0±25.9 ^{Cc}	548.3±17.6 ^{Dc}
*P3XL+*PSPL	3516.7±96.7 ^{Aa}	553.3±26.5 ^{Bd}	352.5±16.9 ^{Cd}	167.5±16.3 ^{Dd}

*P3XL: 200 ppm Pectinex 3XL

*PSPL: 400 ppm Pectinex Ultra SP-L

¹Cada valor es expresado como la media ± la desviación estándar (n=3). Medias con letras minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05). Medias con letras mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

Wilks' Lambda	Pr>F
Tiempo	<0.0001
Tiempo*Tratamiento	<0.0001

Fuente	Pr>F
Tratamiento	<0.0001
Tratamiento*Repetición	0.0256
Tiempo	<0.0001
Tratamiento*Tiempo	<0.0001

Anexo 5. Efecto de tratamientos enzimáticos en el rendimiento de jugo del puré de manzana Fuji¹.

Rendimiento (%) a los intervalos de tiempos designados durante el tratamiento enzimático				
Tratamiento	Tiempo (min)			
	0	30	60	90
Testigo	0.00±0.00 ^{Ba}	0.00±0.00 ^{Bc}	0.33±0.58 ^{Bd}	2.0±0.50 ^{Ad}
*P3XL	0.00±0.00 ^{Ca}	13.7±1.26 ^{Bb}	24.17±1.53 ^{Ac}	26.0±0.50 ^{Ac}
*PSPL	0.00±0.00 ^{Da}	26.5±1.32 ^{Ca}	30.33±1.04 ^{Bb}	39.3±1.26 ^{Ab}
*P3XL+*PSPL	0.00±0.00 ^{Da}	25.3±0.58 ^{Ca}	34.67±3.75 ^{Ba}	48.3±1.53 ^{Aa}

*P3XL: 200 ppm Pectinex 3XL

*PSPL: 400 ppm Pectinex Ultra SP-L

¹Cada valor es expresado como la media ± la desviación estándar (n=3). Medias con letras minúsculas diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (P<0.05). Medias con letras mayúsculas diferentes en la misma fila son significativamente diferentes (P<0.05).

Wilks' Lambda	Pr>F
Tiempo	<0.0001
Tiempo*Tratamiento	<0.0001

Fuente	Pr>F
Tratamiento	<0.0001
Tratamiento*Repetición	0.0056
Tiempo	<0.0001
Tratamiento*Tiempo	<0.0001