



**UNIVERSIDAD NACIONAL
“PEDRO RUIZ GALLO”
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
E INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**



ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

TESIS

Evaluación de la actividad de la enzima polifenoloxidasa durante el almacenamiento de palta (*Persea americana* Mill) var. Hass a diferentes temperaturas

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PRESENTADO POR:

Bach.: TANTARICO BANCES MILAGROS NATALY

Bach.: LLONTOP CORDOVA ROSA KATHERIN

ASESOR:

MSc. JUAN FRANCISCO ROBLES RUIZ.

LAMBAYEQUE – PERÚ

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL "PEDRO RUIZ GALLO"

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA E
INDUSTRIAS ALIMENTARIAS



ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

TESIS

Evaluación de la actividad de la enzima polifenoloxidasa durante el almacenamiento de palta (*Persea americana* Mill) var. Hass a diferentes temperaturas

ELABORADO POR:

Bach.: TANTARICO BANCES MILAGROS NATHALY

Bach.: LLONTOP CORDOVA ROSA KATHERIN

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERA DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

APROBADO POR:

PRESIDENTE

MSc Ruben Dario Sachún Garcia

SECRETARIO

MSc. Ronald Alfonso Gutiérrez Moreno

VOCAL

M.Sc. Renzo Bruno Chung Cumpa

ASESOR

MSc. Juan Francisco Robles Ruiz



Acta de Sustentación

Desde la 1:00 pm del día Lunes 30 de Diciembre de 2019, Se reunieron en la sala de Multimedia de la FICIA - UNPRG, los miembros del Jurado de Pésis: "Formulación de un Queso Fresco con salsa de alhaca (*OCimum basilicum*) que permita mejorar su conservación", designado por Decreto N° 25-2017-D-FICIA del 16 de Enero de 2017.

Msc. Rubén Darío Sachin García - - - Presidente
Dr. Sebastian Huangal Schenider - - - Secretario
Msc. Julio Humberto Tirado Vásquez - - - Vocal

La tesis fue asesorada por el Msc. Leon Francisco Robles Ruiz, nombrado por Decreto N° 535-2015-D-FICIA del 16 de Setiembre de 2015. La tesis fue presentada y sustentada por los bachilleros: Perla Marija Llamo Montenegro y Roxana Martínez Obura. La tesis fue sustentada en mérito al Decreto N° 230-2019-D-FICIA del 30 de Diciembre de 2019, que autoriza dicho acto. La cual tuvo una duración de 30 minutos, luego las sustentantes absoluyeron las preguntas formuladas por los miembros del jurado, quienes luego de la deliberación correspondiente acordaron el siguiente resultado:

Bach. Perla Marija Llamo Montenegro, aprobada por unanimidad con mención de BUENO

Bach. Roxana Martínez Obura, aprobada por unanimidad con mención de BUENO.

Desde las 2:05 pm se concluyó con el acto de sustentación en cumplimiento con el Art. #38 del Reglamento de Grados y Títulos FICIA, Se da fe de lo actuado firmando la presente acta.

Msc. Rubén Darío Sachin García
PRESIDENTE

Dr. Sebastian Huangal Schenider
SECRETARIO

Msc. Julio Humberto Tirado Vásquez
VOCAL

Msc. Leon Francisco Robles Ruiz
ASESOR

CONSTANCIA DE APROBACION DE ORIGINALIDAD DE TESIS

Yo, JUAN FRANCISCO ROBLES RUIZ, Docente/Asesor de tesis/Revisor del trabajo de investigación, del (los) estudiante (s).

**TANTARICO BANCES MILAGROS NATALY
LLONTOP CORDOVA ROSA KATHERIN**

Titulada:

Evaluación de la actividad de la enzima polifenoloxidasa durante el almacenamiento de palta (*Persea americana* Mill) var. Hass a diferentes temperaturas

Luego de la revisión exhaustiva del documento constato que la misma tiene un índice de similitud de 18% verificable en el reporte de similitud en el programa Turnitin.

El suscrito analizó dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

Lambayeque, mayo del 2022.

.....
M.Sc. JUAN FRANCISCO ROBLES RUIZ
ASESOR

DEDICATORIA

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos más difíciles y lograr la meta de ser un profesional.

Agradezco a nuestro asesor de tesis Ing Juan Francisco Robles Ruiz, por su gran colaboración en la presente investigación y su apoyo constante durante el desarrollo del proyecto de tesis y así la investigación sea un éxito.

Les doy gracias de manera especial a mis padres Daniel Tantarico y Jeshica Bances, por apoyarme siempre, estar a mi lado en los momentos más difíciles y motivarme a que hoy en día sea un gran profesional.

Agradezco a mis hermanos José, Dani, Erinson y Anthony, por su apoyo en todo momento de mi carrera universitaria además de motivarme en cumplir mis metas.

TANTARICO BANCES MILAGROS NATHALY

DEDICATORIA

A nuestros padres Bremilda Cordova y César Llontop, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que somos.

Ati hermano César Ricardo, que desde el cielo nos cuidas y proteges.

AGRADECIMIENTO

A DIOS sobre todas las cosas, por su infinita bondad y sabiduría, y por mantenerme siempre fiel en su palabra.

A mi familia, por haberme dado la oportunidad de formarme en esta prestigiosa universidad y haber sido mi apoyo durante todo este tiempo.

De manera especial a mi tutor de tesis, por haberme guiado, no solo en la elaboración de este trabajo de titulación, sino a lo largo de mi carrera universitaria y haberme brindado el apoyo para desarrollarme profesionalmente y seguir cultivando mis valores.

LLONTOP CORDOVA ROSA KATHERIN

ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUCCIÓN	01
I. MARCO TEÓRICO	03
1.1 Palta Hass	03
1.1.1 Taxonomía	
1.1.2	03
1.1.3 Contenido de nutrientes	04
1.1.4 Variedades	05
1.1.4.1 Ettinger	05
1.1.4.2 Bacon	05
1.1.4.3 Fuerte	05
1.1.4.4 Hass	05
1.1.5 Índice de madurez	06
1.1.6 Palta en el mundo	06
1.1.6.1 Producción mundial	06
1.1.6.2 Producción nacional	07
1.1.7 Conservación de la palta	09
1.1.8 Oscurecimiento de la palta	09

1.2	Pardeamiento enzimático	10
1.2.1	Enzimas comprometidas	10
1.2.2	Sustratos de la reacción	23
1.2.3	Mecanismos y productos de la reacción	12
1.2.4	Monitoreo del pardeamiento enzimático	13
1.2.4.1	Métodos físicos	13
1.2.4.2	Tratamientos térmicos	13
1.2.4.3	Tecnologías no térmicas	14
1.2.4.4	Métodos químicos	15
II.	MARCO METODOLÓGICO	16
2.1.	Área de ejecución	17
2.2.	Tipo de investigación	17
2.3.	Población y muestra	17
2.3.1.	Población	17
2.3.2.	Muestra	17
2.4.	Variables	18
2.4.1	Variable independiente	18
2.4.2	Variables dependientes	18
2.5.	Técnicas, equipos de recolección de datos	18
2.5.1.	Equipos	18
2.5.2.	Materiales	19
2.5.3.	Reactivos y soluciones	19
2.5.4.	Método de análisis	19

2.5.4.1. Determinación del índice de madurez (método empleado por Chávez	20
2.5.4.2. Análisis fisicoquímicos de la materia prima	22
2.5.4.3. Análisis estadísticos	21
2.5.5. Metodología experimental	22
2.5.5.1. Análisis fisicoquímico e Índice de madurez	22
2.5.5.2. Evaluación de los tratamientos	24
2.5.5.3. Extracción de la polifenoloxidasa	24
2.5.5.4. Análisis de la Actividad Polifenoloxidasa (E.C. 1.14.18.1)	27
III. RESULTADOS Y DISCUSIONE	28
3.1. Identificación de nutrientes en la palta	28
3.1.1. Análisis del índice de madurez	28
3.1.2. Caracterización fisicoquímica de la palta Hass	29
3.1.3. Evaluación de los tratamientos	30
3.1.3.1 Evaluación estadística de los resultados de actividad enzimática	29
3.1.4. Obtención del producto	33
3.1.4.1 Valoración estadística de la actividad enzimática	33
3.1.5. Producto final	37
IV. CONCLUSIONES	38
V. RECOMENDACIONES	39
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	40

ANEXOS	48
--------	----

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Oxidación del catecol	10
Figura 2 Reacciones catalizadas por la polifenoloxidasas,	12
Figura 3 Melanina como producto del pardeamiento enzimático	13
Figura 4. Diagrama de bloques para la evaluación de la palta en almacenamiento	24
Figura 5. Metodología para la extracción de enzima polifenoloxidasas, utilizando tratamiento con acetona a -20°C ,	26
Figura 6 Metodología para la cuantificación de la Actividad polifenoloxidasas.	27
Figura 7. Valores promedio de la actividad enzimática PFO en palta Hass, después de 15 días de almacenamiento a temperaturas de 2°C , 5°C y 10°C .	31
Figura 8 Comparación de medias para la variable temperatura	36
Figura 9. Diagrama de bloques para el almacenamiento de palta Hass,	37

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla1 Macro y micro nutrientes de la palta	04
Tabla 2 Toneladas de palta comercializadas a nivel mundial	07
Tabla 3 Producción nacional por región (toneladas) Periodo 2015 – 2016	08
Tabla 4 Aditivos de interés para el procesamiento de frutas mínimamente procesadas	16
Tabla 5 Operacionalización de las variables	18
Tabla 6 Análisis físico .-químico	21
Tabla 7 Contenido de materia seca y aceite de palta var. Hass	28
Tabla 8 Composición fisicoquímica de la palta Hass por 100g	29
Tabla 9 Valores promedio de la actividad de la PFO en almacenamiento a Temperatura de 2°C, 5°C y 10°C.	31
Tabla 10 Homogeneidad de varianza	35
Tabla 11 Pruebas de efectos inter-sujetos para variable temperatura	34
Tabla 12 Prueba de comparaciones múltiples para la temperatura	35
Tabla 13 Prueba de Tukey para actividad enzimática	36
Tabla 14 Extracción con tratamiento de acetona a -20°C Sustrato Catecol (100mM).	51
Tabla 15 Estadísticos descriptivos de la extracción con acetona a -20°C Sustrato Cate-col (100mM)	52

Tabla 16 Actividad PFO en pulpa de palta expuestas a 2°C, 5°C y 10°C por 15 días de almacenamiento	52
Tabla 17 Valores de estadística descriptiva de la evaluación enzimática de la polifenoloxidasa a diferentes temperaturas de almacenamiento	53

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. Determinación de proteínas según Zor y Selinger	49
ANEXO 2 Extracción y actividad de la polifenoloxidas	51

RESUMEN

La presente investigación fue realizada en la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo y tuvo como objetivo evaluar la actividad de la enzima polifenoloxidasas durante el almacenamiento de palta (*Persea americana Mill*) var. Hass a diferentes temperaturas.

La parte experimental se inició determinando el índice de madurez de la palta (17,53 ± 0,2 como porcentaje de aceite), luego se determinó la composición química proximal de la palta obteniendo como resultados: 72,2% de humedad, 1,25% de proteína, 6,45% de carbohidratos, 18,7% de lípidos y 1,4% de ceniza. Posteriormente la palta fue almacenada a las temperaturas de 2°C, 5°C y 10°C por un espacio de 15 días, luego de los cuales se obtuvieron los extractos enzimáticos de cada tratamiento se extrajo la enzima de cada uno de la Temperatura: 2°C (96,345 ml), 5°C (97,012ml) y 10°C (97,541ml). Así mismo se hicieron las evaluaciones de la actividad enzimática con 10 repeticiones y los resultados fueron procesados en el software SPSS versión 23, donde se encontró con éxito la temperatura de 5°C para disminuir el pardeamiento enzimático y conservar las características físicas y sensoriales de la palta Hass durante el almacenamiento.

Se evaluó la actividad de la enzima polifenoloxidasas a diferentes tiempos para evaluar el efecto de esta variable en la vida de almacenamiento de la palta y diversificar los estudios de esta enzima (polifenoloxidasas) en otros frutos, siendo la óptima, la temperatura de 5°C que permite reducir el pardeamiento enzimático, pues su acción es determinante en la calidad sensorial y física para su exportación.

Palabras claves: Pardeamiento enzimático, palta, polifenoloxidasas

ABSTRACT

The present research was carried out at the National University of Pedro Ruiz Gallo and aimed to evaluate the activity of the polyphenoloxidase enzyme during the storage of avocado (*Persea americana Mill*) var. Hass at different temperatures.

The experimental part was started by determining the maturity index of the avocado (17.53 ± 0.2 as percentage of oil), then the proximal chemical composition of the avocado was determined, obtaining as results: 72.2% humidity, 1, 25% protein, 6.45% carbohydrates, 18.7% lipids and 1.4% ash. Later the avocado was stored at temperatures of 2 ° C, 5 ° C and 10 ° C for a space of 15 days, after which enzymatic extracts of each treatment were obtained, the enzyme was extracted from each of the Temperature: 2 ° C (96.345 ml), 5 ° C (97.012 ml) and 10 ° C (97.541 ml). Also the evaluations of the enzymatic activity were made with 10 repetitions and the results were processed in the software SPSS version 23 finding that the best treatment corresponds to the temperature of 5° C. taking into account the results obtained, it is recommended to carry out an analysis of the enzymatic activity of the polyphenoloxidase at different times to evaluate the effect of this variable on the storage life of the avocado and to diversify the studies of this enzyme (polyphenoloxidase) in other fruits. its action is decisive in the sensory and physical quality for its export.

Keywords: Enzymatic browning, avocado, polyphenoloxidase

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la palta se ha destacado por sus altos índices de consumo, relacionándose directamente con el campo de la investigación e innovación de los alimentos, pues que es un fruto perecedero que al aplicarle la tecnología adecuada puede ser explotado y disfrutado en cualquier época del año.

La palta es un fruto muy vulnerable a cambios organolépticos, pues cuando pierde su piel queda expuesto al aire y se da inicio a reacciones de pardeamiento que alteran estas características propias (Falconí, 2008).

El pardeamiento enzimático desencadenado por la polifenoloxidasas (PFO) es el principal obstáculo que debe superar la palta para prolongar su vida útil, pues afecta no solo su color, apariencia y consecuentemente su calidad. El color es frecuentemente vinculado con la frescura y es sino uno de los atributos más determinantes para el consumidor a la hora de evaluar un alimento.

Por otro lado, las pérdidas post cosecha de frutas a nivel mundial alcanzan valores promedios del 30 al 40%, alcanzando porcentajes superiores en países en vías de desarrollo (FAO, 2019), siendo fundamental perfeccionar las técnicas de almacenamiento y conservación de estos productos. Cada producto tiene condiciones ideales de almacenamiento (temperatura, humedad relativa, aire que lo rodea) de acuerdo a sus características particulares (respiración, transpiración, producción de etileno). Al disminuir la temperatura disminuyen sus procesos metabólicos y así prolongar su senescencia.

Por estas razones se plantea la presente investigación que busca evaluar la actividad de la enzima polifenoloxidasas durante el almacenamiento de palta (*Persea americana Mill*) var. Hass a diferentes temperaturas, así como realizar un análisis químico proximal de la palta variedad Hass, determinar el índice de madurez de la palta Hass, determinar los valores promedios de extracción de polifenoloxidasas por temperatura, determinar la mejor temperatura que permita mitigar la actividad enzimática de la polifenol oxidasas durante el almacenamiento a temperaturas de refrigeración.

I. MARCO TEÓRICO

1.1. Palta Hass

La *Persea americana* Miller, es muy valorada a nivel mundial debido a sus atributos como suavidad de su pulpa, selecto sabor e importante valor nutricional. Adicionalmente potencial agroindustrial y culinario (Olaeta, 2003).

El fruto presenta formas variadas: redonda, ovalada, periforme y variados colores que van de verde a negro. Comúnmente se consume fresca, pero también la encontramos procesada como puré, cubos congelados y se emplea para extraer aceite (Alza y Vásquez, 2002).

1.1.1 Taxonomía

Reino : *Plantae*
Subreino : *Tracheobionta*
División : *Magnoliophyta*
Clase : *Magnoliophyta*
Orden : *Lurales*
Familia : *Lauraceae*
Género : *Persea*
Especie : *Americana*
(Cornejo, 2010).

1.1.2 Contenido de nutrientes

Su contenido de proteínas bordea el 2% y lípidos el 15%, siendo los ácidos grasos oleico, linoleico y palmítico los predominantes (Fira, 2010).

Tabla1

Macro y micro nutrientes de la palta

Nutriente	Unidad	100.0 g
Agua	g	73.23
Energía	Kcal	160
Proteína	g	2
Lípidos totales (grasa)	g	14.66
Carbohidratos ,por diferencia	g	8.53
Fibra total dietaria	g	6.7
Azúcar, total	g	0.66
Minerales		
Calcio, Ca	m	12
Hierro, Fe	mg	0.55
Magnesio, Mg	mg	29
Fósforo, P	mg	52
Potasio, K	mg	485
Sodio, Na	mg	7
Zinc, Zn	mg	0.64
Vitaminas		
Vitamina C, ácido ascórbico total	mg	10
Tiamina	mg	0.067
Riboflavina	mg	0.13
Niacina	mg	1.738
Vitamina B-6	mg	0.257
Folato, DFE	µg	81
Vitamina B-12	µg	0
Vitamina A, RAE	µg	7
Vitamina A, IU	IU	146
Vitamina E (alfa tocoferol)	mg	2.07
Vitamina D (D2 + D3)	µg	0
Vitamina D	IU	0
Vitamina K (filoquinona)	µg	21
Lípidos		
Ácidos grasos, saturados totales	g	2.126
Ácidos grasos, insaturados totales	g	9.799
Ácidos grasos, poli insaturados totales	g	1.816
Colesterol	mg	0

Nota: Rafael (2014).

1.1.3 Variedades

1.1.3.1 Ettinger

Hibrido Guatemalteco-mexicano y corresponde al grupo floral B, de bondadosa producción. La fruta tiene forma de pera, piel lisa y fina de color brillante (Agustí, 2010).

1.1.3.2 Bacon

Hibrido Mexicano-guatemalteco y corresponde al grupo floral B, y resistente al frío. La fruta tiene forma ovalada, color verde y piel fina (Agustí, 2010).

1.1.3.3 Fuerte

Hibrido mexicano-guatemalteco y corresponde al grupo floral B, muy sensible a temperaturas bajas. Fruto con forma de pera, piel lisa, color verde, piel de espesor moderado y calidad gustativa excelente (Agustí, 2010).

1.1.3.4 Hass

Raza guatemalteca más cultivada a nivel mundial, correspondiente al grupo floral A, muy sensible al calor y las bajas temperaturas. Fruto ovoide, de piel aspera, color negro y presenta excelente calidad gustativa (Agustí, 2010).

1.1.4 Índice de madurez

Un indicador del índice de madurez de la palta es el contenido de materia seca, el cual guarda estrecha correlación con la cantidad de aceite. Este parámetro cambia dependiendo de la variedad siendo el mínimo 19 – 25% (Fuerte 19%; Hass 20,8% y Gwen 24,2%) (Liu et. al., 2009).

Según Lee et. al. (2003), valores inferiores o superiores al mínimo generan una maduración irregular y sin evolución de los atributos sensoriales o maduración acelerada con limitación de su vida útil respectivamente.

Así mismo Lee et. al. (2003), establece que el incremento porcentual del peso seco en el curso de la maduración es a causa de al incremento porcentual de aceite.

De igual manera la humedad y el aceite presentan una correspondencia inversa durante el desarrollo; entendiéndose que a mayor concentración de aceite menos humedad (Schwartz y Von Elbe, 2003; Lee et. al., 2003).

1.1.5 Palta en el mundo

1.1.5.1 Producción mundial

La tabla 2 presenta los valores en toneladas de palta comercializadas en el mundo, donde se observa una expansión del 5,1% por año entre el 2000-2017.

La producción mundial sigue teniendo como protagonista a México quien ocupa el primer lugar como productor, consumidor y exportador con una participación del 34% y un crecimiento promedio de 5,09% anual; seguido por República Dominicana quien cuenta con una participación del 11% y un crecimiento de 13,3% anual. Perú ocupa el tercer lugar en producción con una participación del 8% y una tasa de 14,4 % de crecimiento, siendo la más elevada (MINAGRI, 2019).

Tabla 2

Toneladas de palta comercializadas a nivel mundial

	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
Total	3 683 499	3 533 621	4 002 687	3 974 144	4 266 261	4 513 854	4 744 937	5 153 462	5 411 602	5 737 522	6 048 508
México	1 142 892	1 162 429	1 230 973	1 107 135	1 264 141	1 316 104	1 467 837	1 520 695	1 644 226	1 889 354	2 029 886
Rep Dominicana	183 468	188 139	184 357	285 590	295 081	290 011	387 546	513 961	526 438	601 349	637 688
Perú	121 720	136 303	157 415	184 370	213 662	268 525	288 387	349 317	367 110	455 394	466 758
Indonesia	201 635	244 215	257 642	224 278	275 953	294 200	289 901	307 326	382 530	304 938	363 157
Colombia	193 996	183 968	189 029	205 443	215 089	255 384	294 997	288 739	309 852	294 389	314 275
Brasil	154 096	147 214	139 089	153 189	160 376	159 903	157 482	156 699	180 652	196 422	213 041
Kenya	93 639	103 523	145 204	202 294	149 241	166 948	177 799	218 692	136 420	176 045	194 279
Venezuela	83 304	71 771	68 701	83 618	107 301	116 964	112 670	121 576	128 601	130 290	133 922
Chile	209 645	122 633	232 202	166 382	156 247	160 000	165 000	160 000	148 459	140 558	133 636
EE.UU.	193 100	105 230	270 813	158 150	205 432	238 495	166 106	179 124	207 750	124 860	132 730
Otros países	1 106 004	1 068 196	1 127 262	1 203 695	1 223 738	1 247 320	1 237 212	1 337 333	1 379 564	1 423 923	1 429 136

Nota. FAO (2019)

1.1.5.2 Producción nacional

Presento un crecimiento de 20,92% en comparación al 2016 y teniendo a la región La libertad como principal productor (IDEXCAM, 2017).

Tabla 3

Producción nacional por región (toneladas). Periodo 2015 – 2016

Región	Año	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Dic	Total
Nacional	2015	15,451	16,048	29,029	46,512	69,076	81,836	42,301	26,686	13,205	10,867	11,492	14,098	376,602
	2016	16,130	15,295	35,421	54,780	89,711	108,590	48,035	32,323	17,112	11,824	12,872	13,301	455,394
Amazonas	2015	259	83	123	107	79	66	82	47	15	24	31	12	926
	2016	275	80	91	95	106	87	77	70	39	47	51	33	1,051
Ancash	2015	3,313	3,710	4,070	4,036	3,405	2,919	1,404	900	600	288	276	1,197	26,116
	2016	3,275	3,315	3,235	3,067	2,542	1,983	1,028	502	316	238	220	737	20,456
Apurímac	2015	203	663	647	754	451	484	374	59	85	8	-	-	3,727
	2016	373	541	552	641	587	426	342	65	254	15	-	-	3,795
Arequipa	2015	1,963	905	665	2,378	2,243	1,213	773	327	-	-	-	1,600	12,067
	2016	2,294	733	1,708	2,611	2,569	1,693	86	65	-	-	820	-	12,579
Ayacucho	2015	436	608	660	701	561	525	426	281	248	196	302	367	5,311
	2016	413	531	665	551	663	432	355	256	429	220	234	470	5,219
Cajamarca	2015	566	584	483	286	325	303	246	289	227	369	668	401	4,745
	2016	637	532	582	509	495	312	276	220	200	198	227	322	4,510
Callao	2015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cusco	2015	573	661	653	767	1,448	618	519	204	52	97	260	318	6,170
	2016	490	620	768	962	2,400	960	739	242	68	100	251	261	7,861
Huancavelica	2015	9	99	88	142	124	38	21	-	-	-	-	121	642
	2016	7	133	88	143	127	91	20	-	-	-	-	119	729
Huánuco	2015	207	187	95	46	67	42	22	113	352	500	640	470	2,741
	2016	223	202	102	54	78	45	27	107	352	499	644	501	2,833
Ica	2015	-	1,084	2,925	4,765	8,768	18,404	14,445	5,336	641	268	-	-	56,638
	2016	-	1,041	2,755	4,185	7,121	17,683	13,529	9,709	1,006	21	-	-	57,049
Junín	2015	5,054	2,964	2,585	2,411	1,864	737	627	573	915	3,774	4,537	5,876	31,917
	2016	5,005	3,003	2,666	2,522	1,966	1,231	962	813	1,240	3,745	4,720	6,256	34,128
La Libertad	2015	856	1,008	7,970	15,346	22,793	31,927	10,708	8,174	5,785	3,244	2,875	2,091	112,775
	2016	1,015	1,217	12,159	19,117	40,875	56,280	15,705	12,804	8,110	4,199	3,695	3,096	178,272
Lambayeque	2015	-	-	3,049	427	2,035	2,038	24	23	-	-	83	-	7,679
	2016	-	-	2,762	2,077	1,509	1,850	9	9	-	42	20	-	8,278
Lima	2015	312	863	1,938	11,844	21,647	19,763	11,558	8,203	3,538	1,129	364	151	81,310
	2016	554	1,078	3,918	14,290	24,047	22,179	13,265	6,483	4,224	1,379	551	102	92,070
Lima Metropolitana	2015	-	120	203	267	302	216	216	209	51	28	-	22	1,634
	2016	-	138	211	282	303	348	247	209	51	16	-	15	1,820
Loreto	2015	311	327	360	252	177	178	170	185	233	195	427	474	3,289
	2016	346	348	379	272	185	191	175	189	232	219	437	480	3,453
Madre de Dios	2015	-	-	-	-	8	-	10	25	55	137	130	59	424
	2016	-	-	-	-	-	-	-	-	64	160	155	113	491
Moquegua	2015	172	664	995	1,014	1,280	831	586	434	332	73	-	12	6,393
	2016	119	354	785	920	846	911	964	417	375	305	143	15	6,156
Pasco	2015	192	382	635	326	143	62	27	10	14	102	137	184	2,212
	2016	196	352	803	496	139	80	43	36	39	58	66	76	2,384
Piura	2015	40	5	78	140	940	1,292	21	1,293	8	123	189	138	4,267
	2016	21	4	418	1,427	2,808	1,584	123	128	66	117	178	151	7,025
Puno	2015	595	713	467	278	141	-	-	-	-	-	81	155	2,430
	2016	615	736	476	293	144	-	-	-	-	-	67	138	2,469
San Martín	2015	83	76	95	10	0	-	-	-	30	97	196	137	723
	2016	15	13	20	9	3	-	-	-	18	53	98	75	301
Tacna	2015	-	-	-	80	190	99	9	-	-	-	-	-	378
	2016	-	-	-	90	101	148	38	-	-	-	-	-	377
Tumbes	2015	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2016	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ucayali	2015	308	343	246	136	87	82	32	-	26	216	296	315	2,088
	2016	256	324	279	168	96	77	24	-	29	195	296	342	2,087

Nota. IDEXCAM (2017)

1.1.6 Conservación de la palta

Gallardo (2003) asegura que la palta que la mejor temperatura para conservar la palta se encuentra entre 4,5°C y 10°C, con una humedad relativa de 85% y un 3% de CO₂. Condiciones distintas generan alteraciones en piel y pulpa. También debe tenerse presente que un prolongado almacenamiento (> 40 días) permitirá su vulnerabilidad enzimática.

1.1.7 Oscurecimiento de la palta

Gallardo (2003), expresa que la palta Hass (*Persea americana* var. Mill), es en extremo sensible al pardeamiento enzimático, provocando alteraciones en el color de la pulpa, modificaciones del sabor y detrimento del valor nutricional.

Según Duangmal et. al. (2009), el pardeamiento enzimático solo se manifestará si existe una enzima activa (polifenoloxidasas), O₂ y sustrato adecuado. La ausencia de solo uno impedirá su aparición. La enzima oxida al catecol a orto quinina promoviendo la aparición de melanoidinas.

Mc Evily et. al (2002), anuncia que el pardeamiento puede ser controlado si se manipulan factores como pH, temperatura, sustrato entre otros.

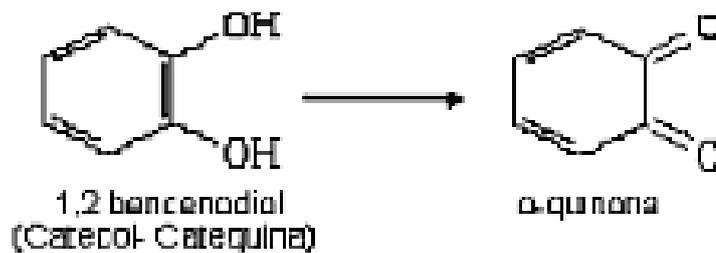


Figura 1 Oxidación del catecol

1.2. Pardeamiento enzimático

El pardeamiento enzimático da inicio cuando se genera un daño a la integridad celular de un fruto, provocando el contacto entre enzima y sustrato, obteniéndose metabolitos secundarios no deseados (Burns, 2005).

Según Laurila et. al (2008), para que sea posible dicha reacción es esencial la presencia O_2 molecular, la polifenoloxidasas (PPO), sustratos idóneos, y presencia en el núcleo de las enzimas de cobre; variables determinantes para la velocidad de reacción.

1.2.1 Enzimas comprometidas

Bello (2000), reconoce a las enzimas responsables de pardeamiento enzimático como polifenolasas, polifenoloxidasas o fenolasas y adicionalmente describe que tienen la competencia de oxidar compuestos fenólicos a orto quinonas

Según Fennema (2000), son metalo enzimas en las cuales su grupo prostético contiene 0,2% de cobre.

Según Badui (2005), las PPO se encuentran por lo general en organelos celulares, exactamente en los cloroplastos y mitocondrias. Es preciso indicar que durante la maduración que la solubilidad de la PPO incrementa.

.

1.2.2 Sustratos de la reacción

Fennema (2000), manifiesta que muchos son los compuestos fenólicos pero los principales que dan inicio a la oxidación enzimática son todos aquellos con configuración de monofenoles, ortodifenoles y polifenoles, con diferente grado de reactividad; ejemplo: monofenoles provocan procesos más lentos, pero son más selectivos que los difenoles.

Según Bello (2000), en los alimentos vegetales podemos encontrar:

- Orto-difenol y derivados
- Derivados del aminoácido L-tirosina.
- Ácidos orgánicos: el ácido gálico y el ácido clorogénico
- Compuestos flavonoides:
 - ✓ Antocianósidos y antocianidoles
 - ✓ El leucocianidol.
 - ✓ Los flavonoles, como el quercetol.
 - ✓ Las flavononas, como el naringenol.

- Las ligninas
- Los taninos

1.2.3 Mecanismos y productos de la reacción

Según Nicolas et al. (2004), las etapas del pardeamiento enzimático son dos:

- Primera, fase enzimática que se interpreta como la transformación de monofenoles a quinonas, que se da en 2 etapas: hidroxilación de monofenoles en o-difenoles, y posterior oxidación de los o-difenoles a o-quinonas; Actividades que tienen como responsable a la PPO. Es esencial para la acción enzimática oxígeno molecular (Walker, 2007).

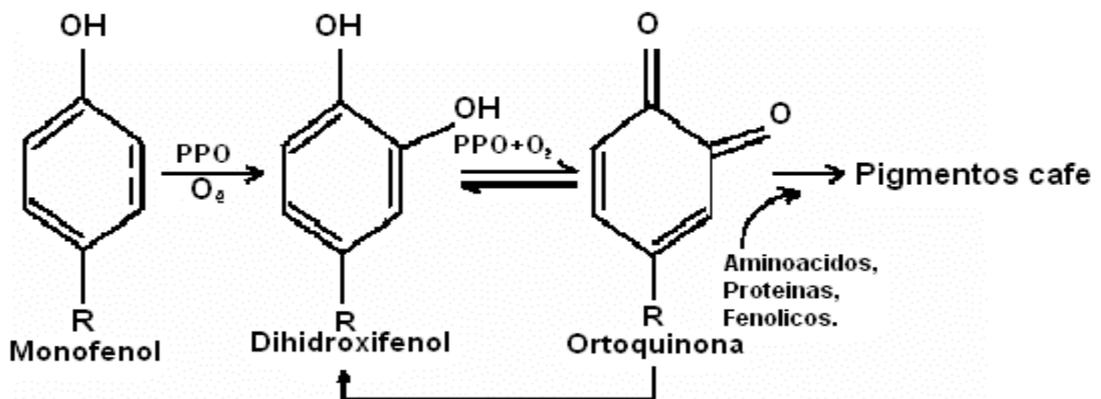


Figura 2 Reacciones catalizadas por la polifenoloxidasasa, Fuente: Walker (2007)

- La segunda, fase no enzimática, es más compleja, ya que las o-quinonas son oscilantes en agua y muy reactivas. Finalmente se formarán pigmentos conocidos como melaninas (Amiot et. al., 1995).

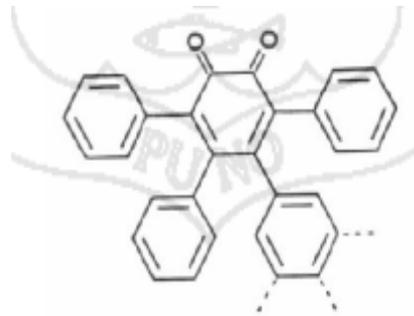


Figura 3 Melanina como producto del pardeamiento enzimático, Cheftel y Cheftel (2006)

1.2.4 Monitoreo del pardeamiento enzimático

1.2.4.1 Métodos físicos

1.2.4.2 Tratamientos térmicos

Son los más eficientes para inactivar la PPO y, subsecuentemente inhibir el oscurecimiento (Konanayakam y Sastry, 2008).

Actualmente parámetros como calentamiento a 70°C a 95°C por espacios de tiempos de 60 s a 600 s son eficientes, por su puesto dependen del proceso y propiedades físicas del alimento. Es intrínseco la disminución de la calidad nutricional del producto (Konanayakam y Sastry, 2008).

- **Temperaturas altas:** Conduce a una desnaturalización de proteínas Las enzimas se desnaturaliza regularmente de manera irreversible y presenta una cinética de primer orden (Pérez et. al., 2002). Por lo general se emplea para frutas o vegetales que serán congelados o elaborados en conserva. En los últimos años se han aplicado a alimentos minimamente procesados en medios a pH de 2,5 (Pérez et al., 2002).
- **Temperaturas bajas:** reducen la actividad enzimática que provoca el pardeamiento, y también disminuye significativamente reacciones metabólicas prolongando la vida útil del producto (Pérez et. al., 2003).

1.2.4.5 Tecnologías no térmicas

Permite proporcionar alimentos más naturales, manteniendo integridad de nutrientes.

- **Reducción de oxígeno:** conseguido mediante una cámara de vacío e inyección de nitrógeno (Cheftel y Cheftel, 2006).
- **Atmósferas modificadas:** En esencia es el almacenamiento de vegetales activos en una atmósfera con las siguientes características: 2 a 8% de O₂ y 5 a 15% de CO₂ con relación a la atmósfera respirable (Gorny et al., 2008).

Según Mateos et. al. (2003), las concentraciones bajas de O₂ reducen actividad enzimática y concentraciones altas de CO₂ disminuye formación de fenoles.

- **Recubrimientos comestibles:** En alimentos mínimamente procesados tienen la responsabilidad prolongar la vida útil (Guilbert et al., 2006).
- **Altas presiones:** ocasiona una desnaturalización irreversible de las enzimas, sin dañar valor nutricional de los alimentos (Weemaes et al., 2008).

Según Fennema (2000), variables como el pH, temperatura de proceso condicionan el tratamiento.
- **Pulsos eléctricos:** permite inactivar enzimas y microorganismos. Los alimentos elevan su temperatura mínimamente. Se fundamenta en el rompimiento eléctrico de su membrana (Duangmal yOwusu-Apenten, 2009).

1.2.4.6 Métodos químicos

Son los que más interaccionan frente a los complejos enzimáticos. Existen algunos como los sulfitos que presentan desventajas en la salud humana, por lo que es restringido su uso (Sapers et al., 2004).

Según Sapers y Miller (2002), generalmente su empleo es por inmersión del fruto en una solución del agente químico.

Muchos agentes químicos como ácidos (cítrico, málico, tartárico, oxálico y succínico) policarboxílicos, polifosfatos, el EDTA y otras macromoléculas como proteínas y porfirinas se utilizan para secuestrar el cobre del centro activo del enzima. Los descensos del pH a niveles por debajo de 3 permiten también inhibir la acción de la enzima (Sapers y Miller, 2002).

Tabla 4*Aditivos para el procesamiento de frutas mínimamente procesadas*

Compuesto	Clasificación	Función	Mecanismo de acción
4-hexilresorcinol (4-HR)	E-586	Agente de retención del color y antioxidante	Inhibición directa de la enzima
Ácido ascórbico (AA) y su sal (NaA)	E-300	Antioxidante	Reduce o-quinonas a difenoles incoloros de baja reactividad
Ácido isoascórbico (ácido eritóbico) (ER) y su sal (NaA)	E-315		
Etilendiaminotetraacético (EDTA)	E-386	Antioxidante, conservante sinérgico y secuestrante	Quelante del centro activo Cu ⁺⁺
Propionato cálcico	E-282	Conservador	Antimicrobiano de superficie (antimoho)
Cloruro de calcio	E-509	Agente de firmeza	Formación de pectatos de calcio insolubles
Lactato de calcio (LC)	E-327	Regulador de acidez	
Ácido cítrico (AC)	E-330	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)	E-284	Antioxidante sulfhidrilos	Reduce o-quinonas a difenoles de baja coloración
Ácido tartárico	E-334	Antioxidante sinérgico, regulador de acidez y secuestrante	Acidulante del medio
Sorbato de potasio (KS)	E-202	Conservante	Antimicrobianos (fungicidas)
Benzoato de sodio	E-211		

Nota. Pérez et al. (2003)

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de ejecución

Ejecutado en los ambientes de la FIQIA – UNPRG: laboratorios de Química general, orgánica, Fisicoquímica y de Tecnología de alimentos).

2.2 Tipo de investigación

Investigación experimental

2.3 Población y muestra

2.3.1 Población

Palta var. Hass provenientes del campo experimental del Instituto Nacional de INIA, ubicado en la región Lambayeque.

2.3.2 Muestra

Integrada por 92 unidades de Palta.

Según NTP-ISO 2859-1-2008.s.

2.4 Variables

2.4.1 Variable independiente

La temperatura de almacenamiento

2.4.2 Variables dependientes

Actividad de la enzima polifenoloxidasas.

Tabla 5

Operacionalización de las variables

Variable	Dimensiones	Indicadores	Indices
Independiente	Temperatura de almacenamiento	Temperatura (2°, 5° y 10°)	Grados Celsius
Dependiente	Actividad enzimática	moles	

Nota. Elaboración propia (2019)

2.5 Técnicas, equipos de recolección de datos

2.5.1 Equipos

- Balanza electrónica de precisión marca OHAUS Modelo Ap2103 sensibilidad 0.001g, capacidad 300 g.
- Balanza semianalítica marca OHAUS sensibilidad 0.1g y cap. 200 g.

- Balanza HENKEL modelo BFH20, sensibilidad 5 g y capacidad 25 kg.
- Espectrofotómetro GENESIS, Alemán. UV.
- Estufa marca MEMMERT 230°C.
- Potenciómetro rango 0 a 14 Marca HANNA
- Refrigeradora FAEDA

2.5.2 Materiales

- Baguetas.
- Beker de 50, 100 y 250 ml
- Fiolas 50, 100, 250 y 500 ml.
- Matraces Erlenmeyer marca PYREX 100, 250 y 500 ml
- Micropipetas
- Picetas de 1 l.

2.5.3 Reactivos y soluciones

- Ácido ascórbico grado alimentario.
- Ácido sulfúrico Q.P.
- Catecol
- Etanol 96% v/v.
- Hexano Q.P.
- Los que requiera la investigación

2.5.4 Método de análisis

2.5.4.1 Determinación del índice de madurez (método empleado por Chávez, 2010).

➤ Evaluación del porcentaje de materia seca y aceite:

- ✓ Iniciar Dividiendo en 4 partes iguales al fruto. Seguidamente eliminar semilla y cutícula.
- ✓ Tarar y rotular placa petri
- ✓ Adicionar aproximadamente 10g de pulpa en la placa
- ✓ Llevar luego a la estufa graduada a 40°C por 48 horas, hasta que el peso no varíe
- ✓ Determinar valor aplicando:

$$\%Materia\ seca = \frac{Wd - Wpt}{Wc - Wpt} \times 100$$

Dónde:

Wd : peso muestra deshidratada (g).

Wc : peso muestra fresca (g).

Wpt : peso de placa petri (g)

A continuación, con el resultado se determinó el porcentaje de aceite con la formula siguiente:

$$\%A = 1,125 \times \%MS - 14,022$$

2.5.4.2 Análisis fisicoquímicos de la materia prima

A continuación, la tabla 6 mostrara los métodos empleados para los análisis.

Tabla 6

Análisis físico-químicos

Análisis fisicoquímico	Fórmula	Norma
Humedad	$\%HUMEDAD = \frac{P_2 - P_3}{P_2 - P_1} \times 100$	Método AOAC 925.1 2005. AOAC 935.36, 18th Ed
Ceniza	$\%CENIZAS = \frac{C_3 - C_1}{C_2 - C_1} \times 100$	Método AOAC 923.0 2005 AOAC 935.39, 18th Ed.
Proteínas	$\%N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$ $\%PROTEINA = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times FACTOR}{m \times 1000}$ V= 50 ml H2SO4 0.1 N - gasto NaOH 0.1 N o gasto de HCl 0.1 N N m= masa de muestra, en gramos	Método AOAC 2001.1 2005
Grasa	$\%GRASA CRUDA = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$ m = peso de la muestra m ₁ = tara de matraz solo m ₂ = peso matraz con grasa	Método AOAC 920.8 2005
Acidez	$\%ACIDEZ (como ácido sulfurico) = \frac{V_s - N_s}{Pm} \times 4.9$	Método de acidez titulab con NaOH 0,1 N expresada como ácido cítrico (%), AOAC (1995
Fibra	$\%Fibra = \left(\frac{P_2 - P_3}{P_1} \right) \times 100$ P1= peso de la muestra (g) P2= peso de la muestra insoluble (g) P3= peso de las cenizas	NTP 205.003:1981 reemplazada por la NT 205.003:2016

Nota. Elaboración propia (2019)

2.5.4.3 Análisis estadísticos

Para definir la mejor temperatura de almacenamiento los resultados se evaluaron a través de un ANOVA y prueba de Tukey y un nivel de confianza de 95%. Los datos fueron procesados con el software SPSS versión 23.

En la presente investigación se empleó un diseño experimental al azar completamente aleatorizado.

2.5.5 Metodología experimental

2.5.5.1 Análisis fisicoquímico e Índice de madurez

Se realizó de acuerdo a las secciones 2.5.5.1.

2.5.5.2 Evaluación de los tratamientos

✓ Cosecha

Las paltas se cosecharon de una misma plantación en el INIA. Se buscó obtener un estado de madurez uniforme en las paltas cosechadas para lo cual se tuvo en cuenta los índices de madurez de forma, tamaño y coloración del fruto, así como el estado de pedúnculo, según lo recomendado por Protrade (1993).

✓ **Pre selección**

Se descartó las frutas con presencia de daño físico como lesiones, piel marcada, etc., el criterio de selección fue el peso (promedio de 220 g), longitud y diámetro uniforme (10 cm y 6,5 cm respectivamente). Esto se realizó manualmente con la finalidad de seleccionar las platas de mejor condición y apariencia para el desarrollo de la investigación.

✓ **Lavado**

Las paltas se lavaron y cepillaron en una tina de acero inoxidable con agua corriente a 15°C, para desplazar suciedad sustancias extrañas adheridas a la fruta.

✓ **Desinfectado**

Las paltas se desinfectaron con 150 ppm de hipoclorito de sodio (Protrade, 1993), por 2 -3 minutos (Portrade, 2003).

✓ **Almacenamiento**

El almacenamiento tuvo como finalidad controlar el tiempo de maduración regulando el metabolismo hasta alcanzar el índice de madurez adecuado.

Se colocaron las paltas dentro de una jaba de plástico a diferentes temperaturas (2 ° C -5 ° C Y 10 ° C).

✓ **Evaluación**

Para determinar la actividad de la enzima polifenoloxidasas.

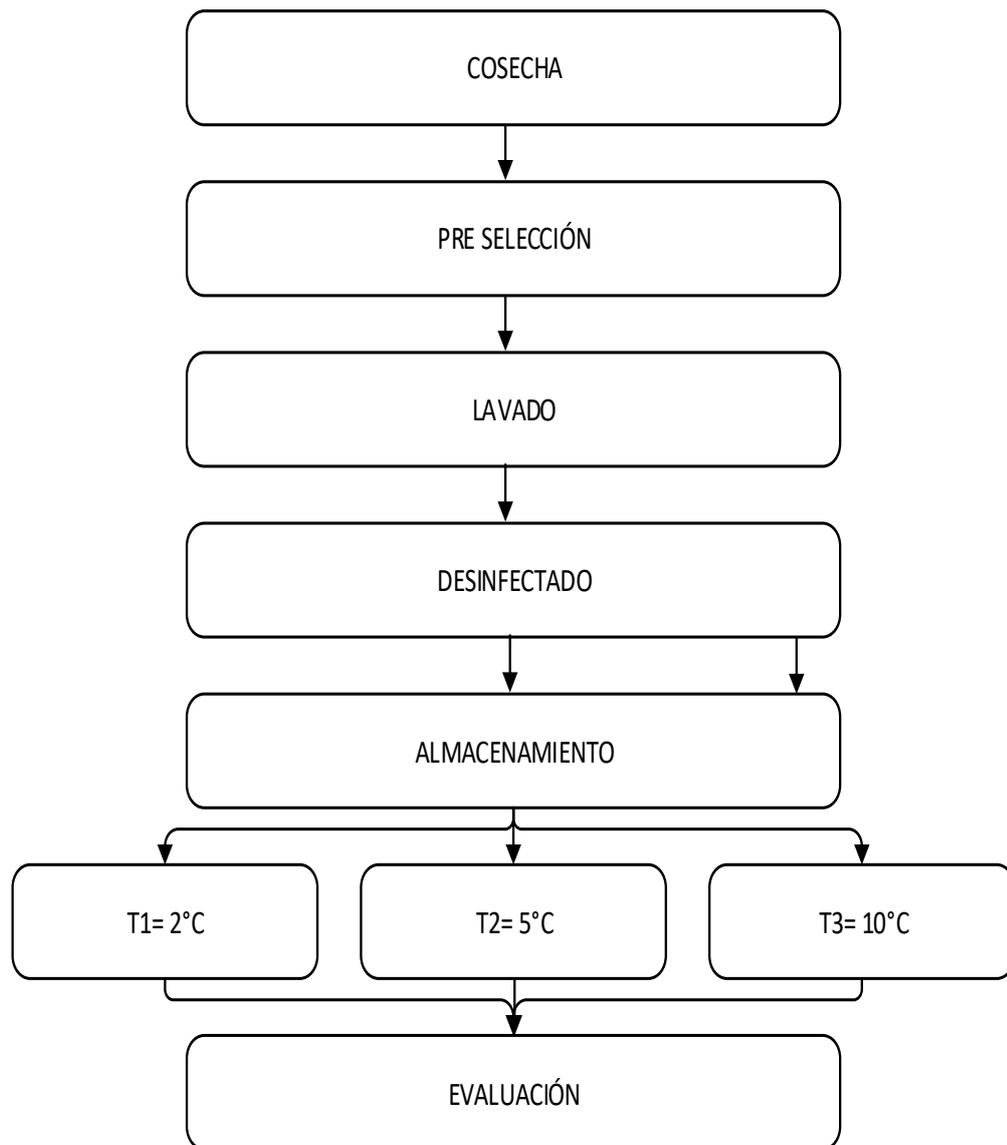


Figura 4. Secuencia de operaciones para la evaluación de la palta en almacenamiento, elaboración propia (2019)

2.5.5.3 Extracción de la polifenoloxidas

Para realizar este procedimiento, los frutos se homogenizaron en una licuadora hasta obtener una pasta fina, la cual posteriormente se mezcló con fosfato de

sodio 100mM pH 6,0 (buffer de extracción) aproximadamente 4 ml /g de pasta de palta. Los antioxidantes que se ensayaron con el buffer de extracción: β -mercaptoetanol 0,1% y ácido ascórbico 5mM. De igual forma, se provo la extracción de enzimas con acetona a -20°C considerando las recomendaciones de Robards et. al. (2009). Figura 4.

Después al extracto de las enzimas, se le tuvo que evaluar la actividad de la polifenoloxidasa para lo cual fue necesario emplear catecol como sustrato a la concentración de 100mM.

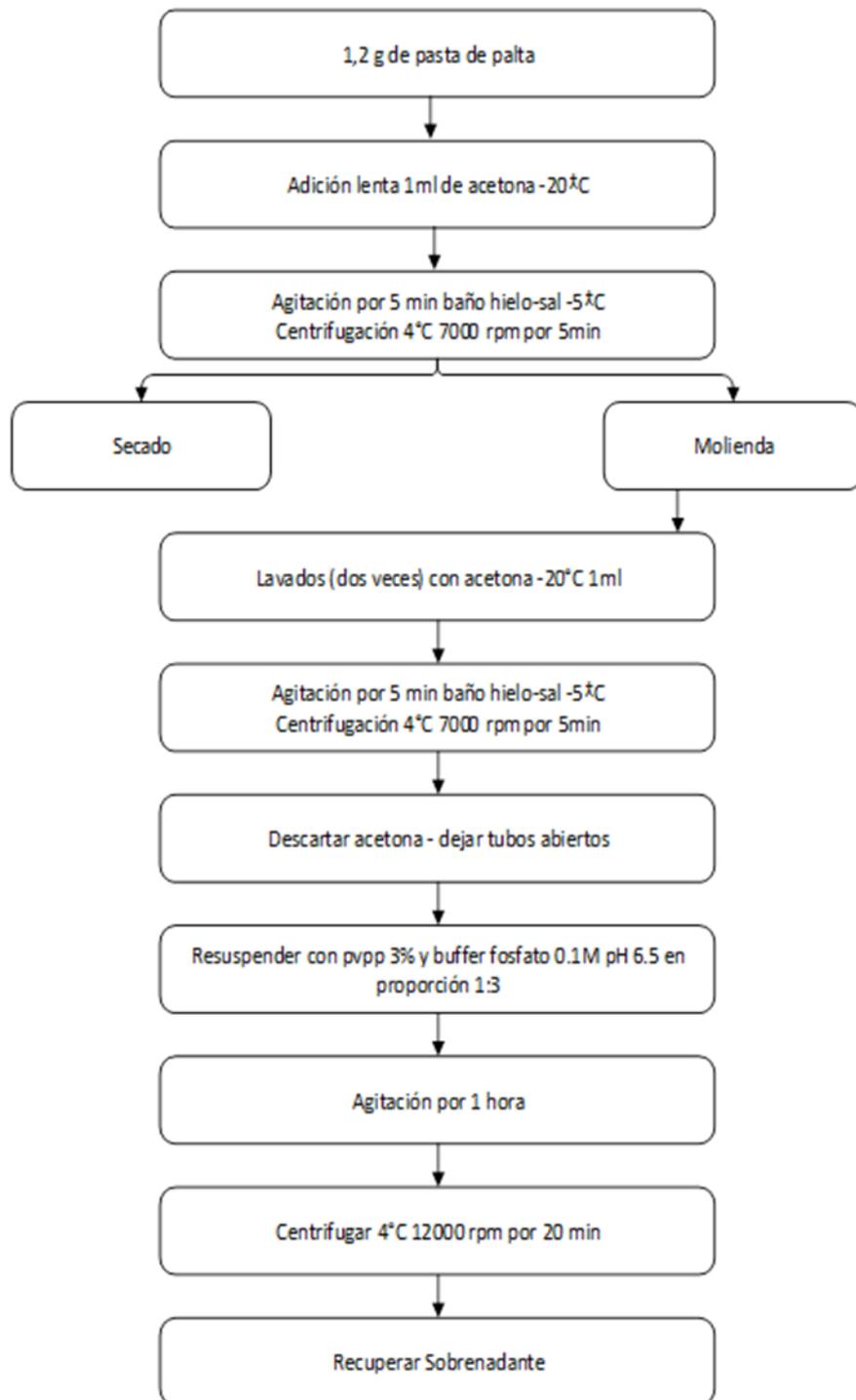


Figura 5. Procedimiento de extracción de polifenoloxidasa, empleando acetona a -20°C , Recuperado de Ardila et al. (2005) y Cerón, (2005).

2.5.5.4 Análisis de la Actividad Polifenoloxidasas (E.C. 1.14.18.1)

Se siguió el procedimiento de Weemaes et. al. (2008), el que consta de realizar medidas de absorbancia a 420nm en cada minuto producida la oxidación del catecol. Expresando la actividad enzimática como el cambio de absorbancia por min. por mg de proteína ($\Delta \text{Abs min}^{-1} \text{ mg de prot}^{-1}$).

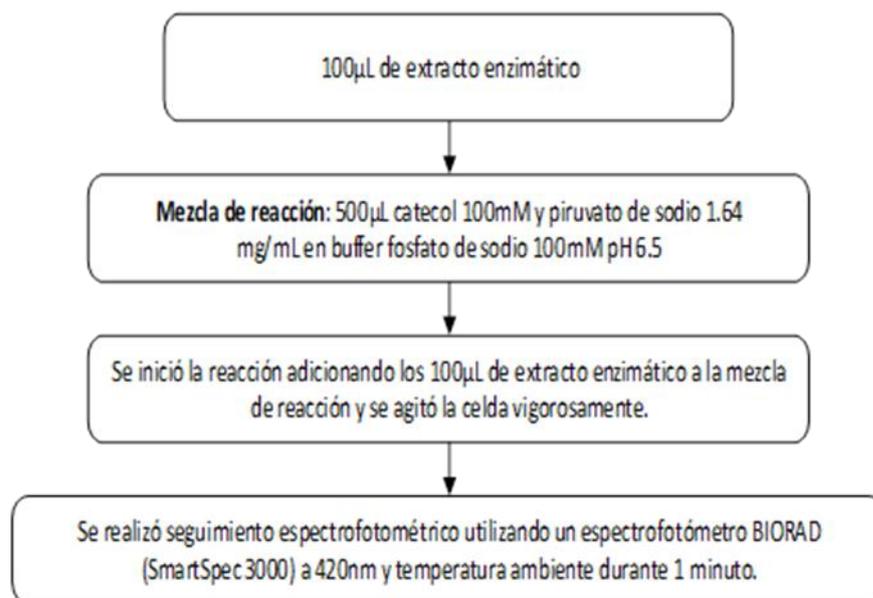


Figura 6 Procedimiento para cuantificar la Actividad de la polifenoloxidasas.

III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Identificación de nutrientes en la palta

3.1.1 Análisis del índice de madurez

Tabla 7

Cantidad de materia seca y aceite en palta var. Hass

Componente	Valor
Materia seca, %	28,45 ± 0,16
Aceite, %	17,53 ± 0,2

Nota. Elaboración propia (2019)

La tabla 7 permite evidenciar que el contenido de aceite está dentro de lo propuesto por Kikuta y Erickson (2008) (17 a 20% de aceite). La concentración del aceite indica el índice de madurez de la palta, es decir a mayor concentración se tiene un fruto con mayor madurez. Por su parte Lee et. al. (2003), aduce que a mayor nivel porcentual de materia seca mayor será el contenido lipídico en la palta; el valor mínimo de materia seca se encuentra entre 19 - 25 %, sujetándose entre otras variables a la variedad, manejo del cultivo, clima, suelo entre otros (Fuerte 19%; Hass 20,8%; y Gwen 24,2%). De igual forma Tingwa y Young (2005), puntualizan que el valor mínimo para recolección de la palta Hass

es de 26 % de materia seca. Los resultados mostrados de la experimentación en la investigación muestran valores por encima de lo recomendado, entendiéndose que se obtuvo una materia prima en óptimo estado de madurez.

3.1.2 Caracterización fisicoquímica de la palta Hass

Tabla 8

Composición fisicoquímica de la palta Hass por 100g

Componente	Valor, %
Humedad	72,2
Proteínas	1,25
Lípidos	18,7
Carbohidratos	6,45
Ceniza	1,4

Nota. Elaboración propia (2019)

Se observa en la tabla precedente que los valores reportados difieren de los publicados por Mamani (2019), donde los valores (Humedad 74,6%, proteína 1,6%, lípidos 20,6%, ceniza 1,2%) están por encima de los obtenidos en la

experimentación. Nielsen (2009), sustenta que el método y la calibración de equipos son relevantes a la hora de realizar un análisis.

3.1.3 Evaluación de los tratamientos

La actividad polifenoloxidasasa (PFO) se determinó ensayando la extracción directa previo lavado de acetona a -20°C . y se empleó catecol a la concentración de 100mM.

Definidas las operaciones de extracción y calculado la actividad enzimática, se ejecutaron las pruebas propuestas, para analizar la actividad de la PFO en las muestras almacenadas a bajas temperaturas (2°C , 5°C y 10°C).

La tabla 9 y figura 7, presentan los resultados, donde los valores expresados son el promedio de 10 experiencias. En el anexo 7 se puede observar los valores que permitieron la construcción de las figuras.

Tabla 9

Valores promedio de la actividad de la PFO en almacenamiento a Temperatura de 2°C, 5°C y 10°C.

Repeticiones	Actividad enzimática de la PFO (To)	Palta almacenada por 15 días		
		T° = 2°C	T° = 5°C	T° = 10°C
Promedio	386,465	1430,853	1180,532	1370,513
Desviación estándar	--	122,342	107,138	100,318

Nota. Elaboración propia (2019)

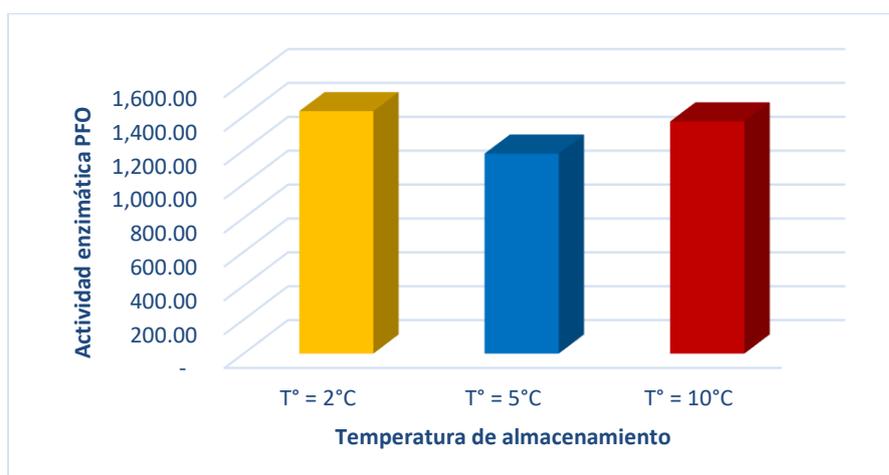


Figura 7. Valores promedio de la actividad enzimática PFO en palta Hass, después de 15 días de almacenamiento a temperaturas de 2°C, 5°C y 10°C. Elaboración propia (2019)

La figura 7 muestra que la mayor actividad de la PFO, se dio en el almacenamiento a 2°C, seguida de la temperatura de 10°C y finalmente a 5°C.

Se puede deducir que el tiempo de almacenamiento es determinante y significativo afectando la actividad de la PPO. Sin embargo, se observa que a mayor temperatura (10°C) la actividad de la PPO es menor que a la temperatura de 2°C. Whitaker (2002), observó que la actividad de la polifenoloxidasas en mango fue superior a temperaturas de refrigeración de 6°C, con respecto a temperaturas de almacenamiento de 25°C. Lo anterior puede deberse a que durante el almacenamiento en refrigeración se produce daño por frío al interior del fruto con la consecuente liberación de metabolitos tales como aminoácidos, azúcares, minerales y compuestos fenólicos, así como liberación de compuestos de la pared celular, que al entrar en contacto con la enzima producen melanoidinas (Whitaker, 2002). No obstante, Balois et al. (2007) informan que la disminución de la temperatura es un factor inhibitorio de la actividad de la polifenoloxidasas, demostrando que, en pitahayas almacenadas a 3°C, la actividad fue significativamente menor que en aquellas almacenadas a 7, 11 y 22°C. Por otra parte, Baquero et al. (2005) reportaron que la actividad enzimática era consecuencia de la senescencia del fruto, que desencadenaba la activación de formas latentes, solubilización de las enzimas unidas a la pared celular y a membranas de organelos o bien por síntesis de novo.

3.1.4.1 Valoración estadística de la actividad enzimática

1. Hipótesis

H₀: La actividad enzimática es igual en los tratamientos

H₁: Por lo menos en un tratamiento la actividad enzimática es diferente

Diferencia significativa $\alpha = 0.05$

Comprobando homogeneidad de varianza

Donde

H₀: Las varianzas de la actividad enzimática son iguales

H₁: Por lo menos una varianza de la actividad enzimática es diferente

Tabla 10

Homogeneidad de varianza

Prueba de homogeneidad de varianzas

Actividad Enzimática PFO

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
,543	2	27	,587

Nota. Elaboración propia (2019)

Evaluando el estadístico de Levene se concluye que se debe aceptar la hipótesis de equidad de varianzas, pues el nivel crítico (sig.) supera a 0,05.

Tabla 11

Pruebas de efectos inter-sujetos para variable temperatura

ANOVA

Actividad Enzimática PFO

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	341313,968	2	170656,984	14,024	,000
Dentro de grupos	328561,490	27	12168,944		
Total	669875,458	29			

Nota. Elaboración propia (2019)

2. Regla de decisión

Si el valor $p < \alpha$, entonces se rechaza H_0 .

Conclusión: La temperatura repercute en la actividad enzimática, por lo tanto, podemos decir que los distintos valores de temperatura de almacenamiento ocasionan efectos diferentes en la actividad enzimática de la palta almacenada.

Tabla 12*Prueba de comparaciones múltiples para la temperatura***Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: Actividad Enzimática PFO

HSD Tukey

(I)	(J)	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
Temperatura de almacenamiento	Temperatura de almacenamiento				Límite inferior	Límite superior
2°C	5°C	250,320700*	49,333445	,000	128,00248	372,63892
	10°C	60,339400	49,333445	,450	-61,97882	182,65762
5°C	2°C	-250,320700*	49,333445	,000	-372,63892	-128,00248
	10°C	-189,981300*	49,333445	,002	-312,29952	-67,66308
10°C	2°C	-60,339400	49,333445	,450	-182,65762	61,97882
	5°C	189,981300*	49,333445	,002	67,66308	312,29952

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Nota. Elaboración propia (2019)

Aquí se observa que las diferencias significativas entre el almacenamiento a temperaturas 2° con 5° y 5° con 10°C.

Tabla 13

Prueba de tukey para actividad enzimática

Actividad Enzimática PFO

HSD Tukey^a

Temperatura de almacenamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
5°C	10	1180,53220	
10°C	10		1370,51350
2°C	10		1430,85290
Sig.		1,000	,450

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 10,000.

Nota. Elaboración propia (2019)

Analizando la tabla 13 se concluye que existen diferencias entre las tres temperaturas de almacenamiento, siendo la temperatura de 5°C la más significativa.

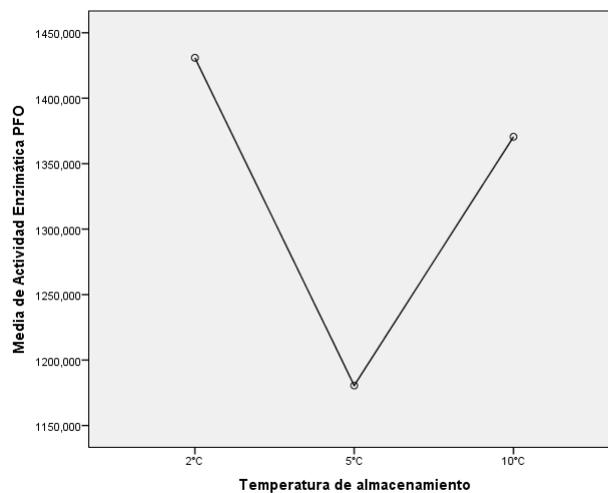


Figura 8 Contraste de medias para la variable temperatura,

Olaeta (2003), menciona que la palta debe procesarse a temperatura ambiente, debiendo hacerse dentro de las 24 horas después de su cosecha. Solo se admite que se pre enfríen hasta que la pulpa alcance los 10°C cuando se procesaran luego de 48 horas, en caliente y si un lote va a ser procesado después de las 48 horas siguientes a la cosecha.

Con esto se quiere demostrar que la mejor temperatura para el almacenamiento de la palta Hass es 5°C para un tiempo de 15 días.

3.1.4 Producto final

La figura 9 muestran el flujo de operaciones y parámetros para el almacenamiento de palta Hass en refrigeración

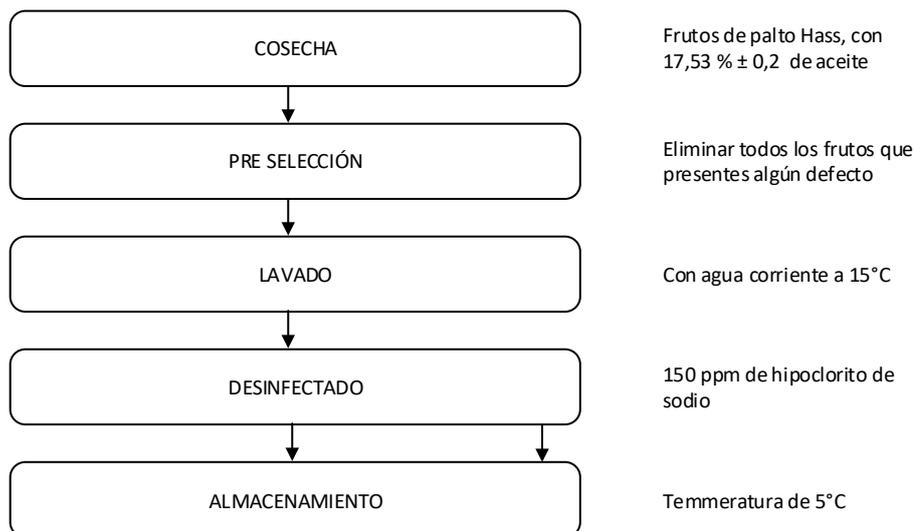


Figura 9. Diagrama de bloques para el almacenamiento de palta Hass, elaboración propia (2019)

IV. CONCLUSIONES

1. Se logró con éxito encontrar la temperatura optima de 5 °C que permite disminuir el pardeamiento enzimático y conservar las características físicas y sensoriales de la palta Hass.
2. La palta Hass evaluada presento un índice de madurez con $17,53 \pm 0,2$ como porcentaje de aceite.
3. La caracterización químico proximal de la palta Hass, obtuvo los siguientes resultados: Humedad 72,2%; proteína 1,25%; carbohidratos 6,45%; lípidos 7% y ceniza 1,4%.
4. Los valores promedios de extracción de polifenol oxidasa por temperatura son: Temperatura de 2°C (96,345 ml), 5°C (97,012ml) y 10°C (97,541ml).
5. La temperatura que permitió mitigar más eficientemente la actividad de la polifenoloxidasasa fue de 5°C.

V. RECOMENDACIONES

1. Realizar análisis de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas a diferentes tiempos para evaluar el efecto de esta variable en la vida de almacenamiento de la palta.
2. Diversificar los estudios de esta enzima (polifenoloxidasas) en otros frutos, pues su acción es determinante en la calidad sensorial y física para su exportación.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Agustí, M. (2010). Fruticultura. Madrid, España: Editorial Mundi-Prensa.

Alza y Vásquez, V. (2002). Agroexportación: análisis y perspectivas; producción no tradicional, rentabilidad, mercado y zonas de producción (proyecto de producción de medios de comunicación y transferencia) Lima, Perú: Instituto Nacional de Investigación Agraria.

Amiot, M.J., Tacchini, M., Aubert, S. & 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.

Badui, S. (2005). Química de los alimentos. México: Editorial Alhambra Mexicana.

Balois, R., Colinas, C.B. Peña, S.H. Chávez Franco y L. Alía. (2007). Sistema de estrés oxidativo, fenoles polifenol oxidasa peroxidasa, de los frutos de pitahaya (*Hilococcus undatus*) almacenados con frío. *Revista Chapingo. Serie horticultura*. 13(2):115-120.

Baquero, L., J. Castro y C. Narváez. (2005). Catalasa, peroxidasa y polifenol oxidasa en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): Maduración y senescencia, *Acta Biológica Colombiana*: 10(2), 49-59 (2005).

Bello, G.J. (2000). Ciencia bromatológica. Madrid, España: Ediciones Diaz de Santos.

Burns, J. K. (2005) Lightly processed fruits and vegetables: Introduction To The Colloquium. Hort science, 30, 14-17.

Chavez, P. (2010). Efecto de la potencia y el tiempo de escaldado en horno microondas sobre la actividad de la polifenoloxidasas, características físico-químicas y sensoriales del puré refrigerado de palta (*Persea americana* Millar) var. Fuerte. Tesis de titulación en Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

Cheftel, J. C. & Cheftel, H. (2006). Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. España: Editorial Acribia.

Cornejo, M.V. (2010). Deshidratación de rebanadas de aguacate variedad hass por el método osmo-vac (osmótico-vacio) y evaluación de la calidad del producto. Tesis para optar el título de magister en Ciencias de Alimentos. Escuela Nacional De Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México. Recuperado de tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/7028/DESHIDRATACION.pdf?sequence. Revisada el 12 de diciembre de 2018.

Duangmal, K.; Owusu-Apenten, R. K. (2009) A comparative study of polyphenol oxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). Food Chemistry, 64(3):351-359.

Falconí Barriga, M.D. (2008). Efecto del escaldado y la adición de metabisulfito de sodio en la evaluación física y sensorial de aguacate Hass (*Persea americana*) deshidratado. Tesis Ing. Agroindustria Alimentaria, Honduras, Escuela Agrícola Panamericana. 34 p. Disponible en <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/155/1/AGI-2008-T015.pdf>. Visitada el 30 de diciembre del 2018.

Fennema, O.R., (2000). Química de los alimentos. (2da ed.). España: Editorial Acribia.

Fira (2010). El futuro de la industria del aguacate. Panorama Mundial. Boletín Informativo, 22, 2-3.

Gallardo, J. (2003). Purificación y Caracterización Cinética de la Enzima Polifenoloxidasas de Aguacate Hass ("*Persea americana*", Variedad "Mill") y del Compuesto Inhibitorio Presente en la Semilla del Mismo. Tesis de grado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. México. Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/319/57954s.pdf?sequence=1>. Visitada el 3/08/18.

Gorny, J. R., Hess-Pierce, B. & Kader, A. A. (2008). Effects of fruit ripeness and storage temperature on the deterioration rate of fresh-cut peach and nectarines slices. *HortScience*, 33, 110-113.

- Guilbert, S., Gontard, N. & Gorris, L. G. M. (2006). Prolongation of the shelf-life of perishable food products using biodegradable films and coatings. *LebensmittelWissenschaft und Technologie*, 29, 10-17.
- Instituto de Investigación y Desarrollo de Comercio Exterior – IDEXCAM. (2017). Palta. Cámara de Comercio de Lima. Lima. Perú.
- Kikuta, Y. & Erickson, L.C. (2008). Seasonal changes of avocado lipids during fruit development and storage. *Calif. Avocado Soc. Yearb.* 52, 102-108 p.
- Konanayakam, M.; Sastry, S. K. (2008). Kinetics of shrinkage of mushrooms during blanching. *Journal of Food Science*, 53, 1406-1411.
- Laurila, E., Kervinen, R. & Ahvenainen, R. (2008). Inhibición enzimática de frutas y vegetales mínimamente procesados. *Postharvest News And Information*, 9, 53-66.
- Lee, S. K.; Young, R. E.; Schiffman, P. M. and Coggins Jr, C. W. (2003). Maturity studies of avocado fruit based on picking dates and dryweight. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 108, 390-394.
- Liu, X., Robinson, P.W., Madore, M.A., Witney, G.W. & Arpaia, M.L. (2009). 'Hass' avocado carbohydrate fluctuations. II. Fruit growth and ripening. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 124, 676-681.
- Mamani, E. (2019). Factores productivos y el ingreso económico de los productores de palto (*Persea americana*) en el distrito de Omate,. Tesis de pre

grado. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna. Perú. Disponible en [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3863/Yaulli_Mamani_EW_FC_AG_Ingenier%
c3%ada_Econom%
c3%ada_Agraria%20%282%29%20%281%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3863/Yaulli_Mamani_EW_FC_AG_Ingenier%c3%ada_Econom%c3%ada_Agraria%20%282%29%20%281%29.pdf?sequence=3&isAllowed=y)

Mateos, M., Ke, D., Cantwell, M. & Kader, A. A. (2003). Phenolic metabolism and ethanolic fermentation of intact and cut lettuce exposed to CO₂ enriched atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 3, 225-233.

Mc Evily, A. J., Iyengar, R. & Otwell, W. S. (2002). Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32, 253-273.

Ministerio de Agricultura y Riego. (2019). La situación del mercado internacional de la Palta. Lima. Perú. Enero.

Nicolas, J. J., Richard-Forget, F. C., Goupy, P. M., Amiot, M. J. & Aubert, S. Y. (2004). reacciones enzimáticas en manzana y productos de manzana. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 34, 109-157.

Olaeta, J.A. (2003). Industrialización del aguacate: estado actual y perspectivas futuras. p. 749-754. In. Junta de Andalucía (Eds.). *Actas V Congreso Mundial del Aguacate*, Granada – Málaga. 19-24 octubre 2003, Granada – Málaga, España.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo – Alcance, causas y prevención. Roma.

Pérez, L.; González -Martínez, C.; Chafér, M.; Chiralt, A. (2002) Cambios de color en pera mínimamente procesada var. Blanquilla. Actas del 2º Congreso Español de Ingeniería de Alimentos (CESIA2002) [cd-rom]. Lleida: Universitat de Lleida.

Pérez, L., González-Martínez, C., Chafér, M. &Chiralt, A. (2003). Calidad de frutas mínimamente procesadas II: Control y prevención del pardeamiento enzimático. Alimentación, equipos y tecnología, 181, 113-119.

Protrade. (2003). Aguacate. Manual de exportación. Frutales tropicales y de Hortalizas. Republica Federal de Alemania. Alemania

Rafael, A. (2014). Evaluación de la α -ciclodextrina como inhibidor del pardeamiento enzimático en pasta de palta (*Persea americana* Miller) variedad fuerte. Tesis de grado. Universidad Nacional Del Altiplano. Puno. Perú. Disponible en http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3416/Rafael_Luque_Alex.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Visitada 5/7/18.

Robards, K., Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitand, P. &Glover, G. (2009). Los Compuestos fenolicos y su papel en los procesos de oxidacion en frutas. Food Chemistry, 66, 401-436.

- Sapers, G. M.; Miller, R. L. (2002) Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphates. *Journal of Food Science*, 57(5): 1132-1135.
- Sapers, G. M.; Miller, R. L.; Miller, F. C.; Cooke, P. H.; San-Won, C. (2004) Enzymatic browning control in minimally processed mushrooms. *Journal of Food Science*, 59(5): 1042-1047.
- Schwartz, S.J. & J.H. Von Elbe. (2003). Kinetics of chlorophyll degradation to pyropheophytin in vegetables, *J. Food Science*, 48, 1303-1306.
- Tingwa, P.O. y Young, R.E. (2005). Studies on the inhibition of ripening in attached avocado (*Persea americana* Mill.) fruits. *J. Am. Soc. Hort. Sci*, 100, 447-449.
- Walker, J. R. L. (2007). Enzymatic browning in foods: its chemistry and control. *Food Technology*, 19, 21.
- Weemaes, C., Ludikhuyze, L., de Broeck, I.V. & Hendrickx, M. (2008). High pressure inactivation of polyphenol oxidases. *Journal of Food Science*, 63, 873-877.
- Whitaker, J. R. (2002). *Principles of enzymology for the food science*. New York Marcell Decker, Inc pp 636.

ANEXOS

ANEXO 1

Determinación de Proteínas según Zor y Selinger (1996)

Reactivos:

Comassiebrilliant blue G-250 (Sigma)

Etanol 95% (Merck)

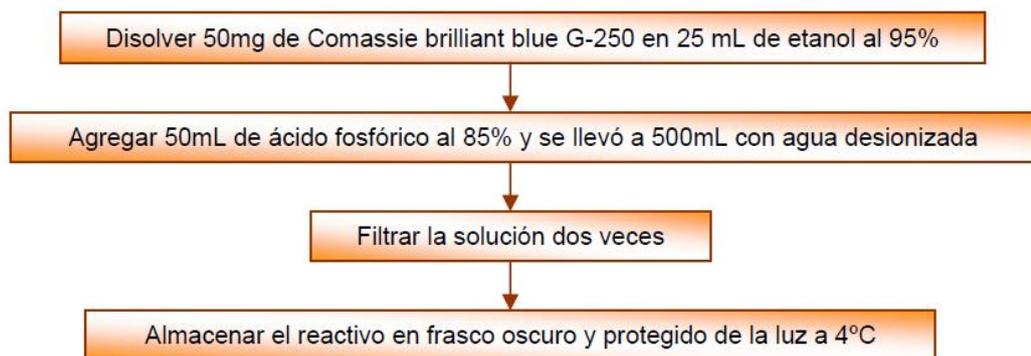
Acido Fosfórico 85% (Merck)

Agua desionizada

Albúmina Sérica Bovina 95% (Merck)

El stock de albúmina que se utilizó para la curva de calibración fue una solución de BSA al 1% en cloruro de sodio al 1%.

Preparación del reactivo de Bradford:



Análisis de Proteína:

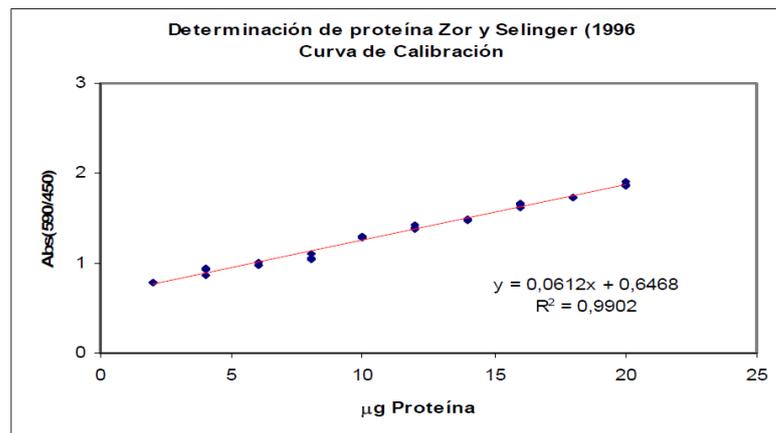
Adicionar 1m del reactivo de Bradford a 0,2ml de muestra proteica. Posteriormente, leer a 590nm y a 450nm de absorbancia; blanco de agua desionizada.

Curva de Calibración:

Tomando el Stock de BSA al 1% en un rango de 2 a 20µl, adicionar el buffer fosfato 100mM pH 6,5 para completar siempre un volumen final de 200µl. Por último, sumar 1ml del reactivo del Bradford y leer absorbancia a 590 y a 450nm. Las muestras problema se interpolan en dicha curva.

CURVA DE CALIBRACIÓN										
µg proteína	2	4	6	8	10	12	14	14	18	20
Abs 590	0.422	0.508	0.518	0.536	0.657	0.695	0.665	0.729	0.741	0.802
	0.442	0.539	0.519	0.548	0.614	0.656	0.642	0.738	0.753	0.819
	0.44	0.523	0.524	0.568	0.655	0.645	0.678	0.741	0.768	0.77
Abs 450	0.535	0.545	0.527	0.511	0.508	0.486	0.447	0.452	0.428	0.4280
	0.558	0.547	0.533	0.517	0.511	0.477	0.437	0.447	0.434	0.429
	0.565	0.556	0.517	0.513	0.503	0.463	0.455	0.442	0.445	0.413
Abs 590/450	0.7888	0.9321	0.9829	1.0489	1.2933	1.4300	1.4877	1.6128	1.7313	1.8738
	0.7921	0.8700	0.9737	1.0600	1.2900	1.3753	1.4691	1.6510	1.7350	1.9091
	0.7788	0.9406	1.0135	1.1072	1.3022	1.3931	1.4901	1.6765	1.7258	1.8644

Datos para la curva de calibración



ANEXO 2

Extracción y actividad de la Polifenoloxidasa

Tabla 14

Extracción con tratamiento de acetona a -20°C . Sustrato Catecol (100mM).

Repeticiones	Palta		
	T° = 2°C	T° = 5°C	T° = 10°C
R1	94,345	95,636	98,572
R2	95,435	98,654	97,466
R3	99,256	96,746	96,584
Promedio	96,345	97,012	97,541
Desviación estándar	2,5789	1,5265	0,9961

Nota elaboración propia (2019)

Tabla 15

Estadísticos descriptivos de la extracción con acetona a -20°C Sustrato Catecol (100mM).

Estadísticos descriptivos					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Temp 2°C	3	94,345	99,256	96,34533	2,578955
Tem 5°C	3	95,636	98,654	97,01200	1,526482
Temp 10°C	3	96,584	98,572	97,54067	,996101
N válido (por lista)	3				

Nota. Elaboración propia (2019)

Tabla 16

Actividad PFO en pulpa de palta expuestas a 2°C, 5°C y 10°C por 15 días de almacenamiento

Repeticiones	Actividad enzimática de la PFO (To)	Palta almacenada por 15 días		
		T° = 2°C	T° = 5°C	T° = 10°C
R1	386,465	1368,677	1306,943	1348,589
R2		1356,849	1244,734	1293,489
R3		1348,863	1080,720	1373,390
R4		1456,839	1310,450	1247,284
R5		1367,221	1134,980	1389,321
R6		1637,342	1257,873	1598,862
R7		1365,334	1173,284	1423,762
R8		1361,232	1235,826	1378,567
R9		1372,874	1031,763	1256,670
R10		1673,298	1028,749	1395,201
Promedio	--	1430,853	1180,532	1370,513
Desviación estándar	--	122,342	107,138	100,318

Nota elaboración propia (2019)

Tabla 17

Valores de estadística descriptiva de la evaluación enzimática de la polifenoloxidasa a diferentes temperaturas de almacenamiento

Descriptivos

Actividad Enzimática PFO

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo	Varianza entre-componente
					Límite inferior	Límite superior			
2°C	10	1430,85290	122,341863	38,687894	1343,33480	1518,37100	1348,863	1673,298	
5°C	10	1180,53220	107,123827	33,875529	1103,90043	1257,16397	1028,749	1310,450	
10°C	10	1370,51350	100,318425	31,723471	1298,75002	1442,27698	1247,284	1598,862	
Total	30	1327,29953	151,984057	27,748366	1270,54775	1384,05131	1028,749	1673,298	
Modelo									
Efectos fijos			110,312937	20,140295	1285,97506	1368,62400			
Efectos aleatorios				75,422584	1002,78235	1651,81672			15848,803991

Nota elaboración propia (2019)