



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

DIRECCIÓN DE CARRERA: AGROINDUSTRIAS

INFORME DE TRABAJO DE TITULACIÓN

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

MODALIDAD: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE ÁCIDO CÍTRICO Y
ASCÓRBICO EN LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL PLÁTANO
(*Musa paradisiaca*) PARA LA PRODUCCIÓN DE SNACKS
(CHIFLES)**

AUTOR:

CHRISTOPHER ALEXANDER PONCE CHICA

TUTOR:

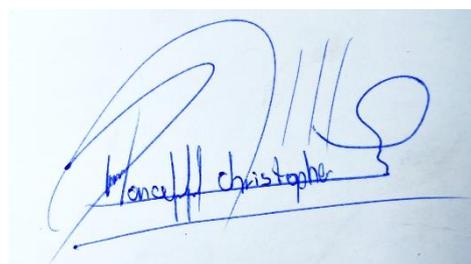
ING. ELY F. SACÓN VERA, PhD

CALCETA, MARZO 2022

DERECHOS DE AUTORÍA

CHRISTOPHER ALEXANDER PONCE CHICA, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Ponce Christopher', is written over a horizontal line. The signature is stylized and somewhat illegible due to the cursive nature of the handwriting.

CHRISTOPHER A. PONCE CHICA

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

ELY FERNANDO SACÓN VERA, PhD. certifica haber tutelado el trabajo de titulación **EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE ÁCIDO CÍTRICO Y ASCÓRBICO EN PLÁTANO (*Musa paradisiaca*) UTILIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE SNACKS (CHIFLES)**, que ha sido desarrollada por **CHRISTOPHER ALEXANDER PONCE CHICA**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo **REGLAMENTO DE UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL DE PROGRAMAS DE GRADO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López

ING. ELY F. SACÓN VERA, PhD

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el trabajo de titulación **EVALUACIÓN DE DIFERENTES DOSIS DE ÁCIDO CÍTRICO Y ASCÓRBICO EN PLÁTANO (*Musa paradisiaca*) UTILIZADO PARA LA PRODUCCIÓN DE SNACKS (CHIFLES)**, que ha sido propuesto, desarrollado por **CHRISTOPHER ALEXANDER PONCE CHICA**, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO DE UNIDAD DE TITULACIÓN ESPECIAL DE PROGRAMAS DE GRADO PARA LA ELABORACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. LUISA A. ZAMBRANO
MENDOZA, MG
MIEMBRO

ING. DIANA C. CEDEÑO
ALCIVAR, MG
MIEMBRO

ING. ROSA I. GARCÍA PAREDES, MG
PRESIDENTE

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad en la cual hemos forjado los conocimientos profesionales día a día;

A Dios por ser mi guía espiritual y darme fuerza para continuar y no desistir en este largo proceso de obtener una de mis metas más anheladas.

A mis padres, pilares fundamentales en mi vida, quienes con su esfuerzo han hecho posible la culminación de mi carrera.

A mi tutor y docentes en general que me han apoyado y han ayudado a la culminación de este trabajo.

CHRISTOPHER A. PONCE CHICA

DEDICATORIA

A Dios, por siempre ser mi guía espiritual, demostrándome que, para enfrentar las adversidades, nunca hay que perder la fe en él, ni desfallecer en el intento.

A mi trabajo y sacrificio realizado diariamente para lograr esta meta tan anhelada que quizás me costó mucho más que a otras personas, sin embargo, gracias a mi perseverancia por hacer las cosas bien pude decir finalmente lo logré lleno de satisfacción y orgullo.

CHRISTOPHER A. PONCE CHICA

CONTENIDO GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	ii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
CONTENIDO GENERAL.....	vii
CONTENIDO DE CUADROS.....	ix
CONTENIDO DE GRÁFICOS	x
CONTENIDO DE FIGURAS.....	x
RESUMEN	xi
PALABRAS CLAVES	xi
ABSTRACT.....	xii
KEY WORDS	xii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
1.4. HIPÓTESIS.....	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. PLÁTANO (<i>Musa Paradisiaca</i>).....	5
2.1.1. VARIEDAD BARRAGANETE	5
2.2. DERIVADOS DEL PLÁTANO (<i>Musa Paradisiaca</i>)	6
2.2.1. CHIFLES	6

2.3. PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO.....	6
2.3.1. POLIFENOL OXIDASA.....	7
2.3.2. FACTORES Y MECANISMOS DE INHIBICIÓN DE LA REACCIÓN PRODUCIDA POR LA PPO	7
2.4. AGENTES ANTIOXIDANTES	8
2.4.1. ÁCIDO CÍTRICO	9
2.4.2. ÁCIDO ASCÓRBICO.....	9
2.5. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO	9
2.5.1. MÉTODO CIE-L*a*b*	10
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	11
3.1. UBICACIÓN.....	11
3.2. DURACIÓN DEL PROYECTO	11
3.3. MÉTODOS.....	11
3.3.1. MÉTODO ANALÍTICO	11
3.3.2. MÉTODO DEDUCTIVO.....	11
3.4. TÉCNICAS.....	12
3.4.1. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO	12
3.4.2. DETERMINACIÓN DE pH	13
3.4.3. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ.....	13
3.4.4. MOHOS Y LEVADURAS	13
3.5. FACTORES EN ESTUDIO.....	14
3.5.1. NIVELES	14
3.6. TRATAMIENTOS.....	14
3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	14
3.8. UNIDAD EXPERIMENTAL.....	15
3.9. VARIABLES A MEDIR	15
3.10. MANEJO DEL EXPERIMENTO	16

3.10.1. DESCRIPCIÓN DE PROCESO PARA LA INMERSIÓN DE RODAJAS DE PLÁTANO (<i>MUSA PARADISIACA</i>) EN SOLUCIÓN ANTIOXIDANTE	17
3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	17
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
4.1. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO	19
4.2. EFECTO DEL pH Y ACIDEZ SOBRE EL PLÁTANO.....	21
4.2.1. pH.....	22
4.2.2. ACIDEZ	24
4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	26
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	29
5.1. CONCLUSIONES	29
5.2. RECOMENDACIONES.....	29
BIBLIOGRAFÍA.....	30
ANEXOS.....	33

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 2. 1. Composición nutricional del plátano verde (100 g)	5
Cuadro 2. 2. Mecanismos de inhibición de la reacción producida por la PPO	8
Cuadro 3. 1. Detalle de los tratamientos	14
Cuadro 3. 2. Esquema del ANOVA en arreglo factorial 3 ²	15
Cuadro 3. 3. Características de la unidad experimental	15
Cuadro 4. 1. Supuestos del Anova para la variable colorimétrica	19
Cuadro 4. 2. Anova para las coordenadas colorimétricas L* (luminosidad) y b* (ángulo de tono)	19
Cuadro 4. 3. Prueba Kruskal Wallis de los factores A y B en la coordenada colorimétrica a*.....	20
Cuadro 4. 4. Supuesto del ANOVA para la variable pH	22
Cuadro 4. 5. Supuesto del ANOVA para la variable acidez.....	24
Cuadro 4. 6. Anova para la variable acidez	25
Cuadro 4. 7. DHS de Tukey para el factor A de la variable acidez.....	25

Cuadro 4. 8. DHS de Tukey para el factor B de la variable acidez.....	26
Cuadro 4. 9. DHS de Tukey para tratamientos de la variable acidez	26
Cuadro 4. 10. Resultados de los análisis de mohos y levaduras realizados a los nueve tratamientos.	27

CONTENIDO DE GRÁFICOS

Gráfico 4. 1. Representación gráfica de los valores medios de L^* , a^* , b^* en los nueve tratamientos evaluados.....	21
Gráfico 4. 2. Diagrama de caja y bigotes para tratamientos la variable pH	24

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 3. 1. Diagrama de proceso para la inmersión de rodajas de plátano (<i>Musa Paradisiaca</i>) en soluciones antioxidantes	16
---	----

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes dosis de ácidos cítrico y ascórbico en la actividad antioxidante del plátano (*Musa paradisiaca*) para la producción de snacks (chifles). Los factores en estudio fueron: dosis de ácido cítrico y dosis de ácido ascórbico, ambos factores con tres niveles de 0,25%, 0,50% y 0,75%. Se aplicó un diseño por arreglo factorial 3^2 en DCA, se estudiaron nueve tratamientos con dos réplicas cada uno. Se utilizó como unidad experimental 1kg de plátano verde barraganete. Las variables evaluadas mediante análisis estadístico fueron: pardeamiento enzimático, pH, °brix, acidez, mohos y levaduras. Los resultados del análisis colorimétrico evidenciaron un efecto positivo en la inhibición del pardeamiento enzimático causado por la enzima Polifenoloxidasas, siendo el tratamiento T8 el que logró una mayor luminosidad ($L^* = 65,30$) y un desplazamiento desde la zona amarilla-roja ($a^* = 24,47$; $b^* = 12,24$). Con respecto a las variables de pH y acidez, el T5 fue considerado el que presentó mayor efecto en la inhibición del pardeamiento enzimático (0,2300 % de acidez y 6 de pH). En cuanto a los análisis microbiológicos, los tratamientos T1 y T2 presentaron valores menores a $<2 \times 10^2$ UFC para mohos y levaduras. Se concluye que el ácido cítrico y ascórbico si mejoran la calidad física, química y microbiológica del plátano.

PALABRAS CLAVES

Polifenoloxidasas; ácido cítrico; ácido ascórbico, análisis colorimétrico.

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate different doses of citric and ascorbic acids in the antioxidant activity of banana (*Musa paradisiaca*) for the production of snacks (chifles). The factors under study were: dose of citric acid and dose of ascorbic acid, both factors with three levels of 0.25%, 0.50% and 0.75%. A 32 factorial arrangement design was applied in DCA, nine treatments with two replicates each were studied. 1kg of barraganete green plantain was used as experimental unit. The variables evaluated by statistical analysis were: enzymatic browning, pH, °brix, acidity, molds and yeasts. The results of the colorimetric analysis showed a positive effect on the inhibition of enzymatic browning caused by the enzyme Polyphenoloxidase, with treatment T8 being the one that achieved greater luminosity ($L^*=65.30$) and a shift from the yellow-red zone (at $a^*:24.47$; $b^*:12.24$). Regarding the variables of pH and acidity, T5 was considered the one that presented the greatest effect in the inhibition of enzymatic browning (0.2300 % acidity and 6 pH). Regarding the microbiological analyses, treatments T1 and T2 presented values lower than $<2 \times 10^2$ CFU for molds and yeasts. It is concluded that citric and ascorbic acid do improve the physical, chemical and microbiological quality of the banana.

KEY WORDS

Polyphenoloxidase; citric acid; ascorbic acid, colorimetric analysis

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

El plátano (*Musa paradisiaca*) es considerado importante en la alimentación básica de toda la población, sobre todo en los países en vía de desarrollo. Esta fruta proporciona la mayor parte de los carbohidratos requeridos (45-65%) en la ingesta diaria, además es fundamental para los hogares y los pequeños y medianos productores de los países tropicales, al contribuir con la seguridad alimentaria, el autoempleo y en el sector de ingresos anuales de los hogares (Dávila, Cortés, & Gil, 2016).

El Ecuador es un país eminentemente agrícola, esta fruta es de alta producción en las dos épocas del año sin restricción alguna; además de ser apetecida por la gran mayoría de las personas que conocen sus características, su estupendo sabor y su inconfundible aroma (Bajaña, 2017). Del plátano pueden obtenerse diferentes productos procesados, sin embargo, debe tenerse un rápido procesamiento del mismo; debido a que tiene una corta vida útil causada por los cambios fisicoquímicos, reacciones químicas y enzimáticas (pardeamiento enzimático) (Dávila, Cortés, & Gil, 2016).

Por otra parte, al ser el plátano un producto que contiene enzimas, se expone rápidamente al pardeamiento enzimático durante la manipulación del mismo, lo que afecta y disminuye la calidad de comercio de la fruta. Este pardeamiento está causado por la actividad de la polifenol oxidasa (PFO), una enzima que oxida y polimeriza los compuestos fenólicos, lo que conlleva al desarrollo de un color café. Esta enzima disminuye su actividad a valores de pH menores a 7, aumentando la acidez (Bravo & Vélez, 2016).

Uno de los principales objetivos de la industria alimentaria es la prevención o inhibición de este pardeamiento, principal problema presentado en el plátano utilizado para la producción de snacks. La demanda de productos fritos, la exigencia de los consumidores, ha generado que la industria desarrolle nuevas tecnologías para el procesamiento de alimentos, incluyendo la aplicación de pretratamientos

con el fin de reducir el pardeamiento enzimático, conservando su aroma y sabor característico (Chacón, Muñoz, & Quiñónez, 2017).

Dado que la reacción de oxidación es la alteración que comúnmente se presenta en el plátano, resulta ser un factor limitante no utilizar antioxidantes naturales. Al no utilizar antioxidantes naturales en productos vegetales, disminuye el tiempo de utilidad del producto, lo que se basa en el aumento de la inestabilidad del color, con alteraciones organolépticas (Valenzuela & Pérez, 2016).

El uso de ácidos como el cítrico y ascórbico, influye directamente en la inhibición de microorganismos patógenos en alimentos, comprobando que poseen la misma capacidad de desinfectar que tienen los ácidos propiónico, acético, láctico y málico y cítrico, los mismos resultaron ser beneficiosos para detener el desarrollo de *E. coli*, mohos y levaduras (Rodríguez, Ortega, & Piñeros, 2018).

Se ha probado el uso de ácidos orgánicos como fuente potencial para aplicar en productos vegetales con fines de reducción del pardeamiento enzimático y de conservación, sin embargo, no hay estudios que establezcan las dosis idóneas, en este sentido surge la necesidad de evaluar la influencia de la combinación de dos tipos de ácidos orgánicos, sobre la calidad del plátano utilizado para la producción de chiles.

Con estos antecedentes se plantea la siguiente interrogante:

¿Qué dosificación de ácido cítrico y ascórbico, evitará el pardeamiento enzimático del plátano utilizado en la elaboración de snacks?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Es considerado importante evitar el pardeamiento enzimático que oscurece el plátano durante su etapa de almacenamiento, previo a la etapa de procesamiento del mismo, destacando que el color determina la calidad al momento de realizar una compra o adquisición de los productos finales. En el ámbito económico social, la presente investigación está enfocada en reducir el principal problema que presentan las empresas productoras de snacks, las mismas que no pueden

almacenar materia prima y tienen que realizar el proceso de fritura de manera inmediata después del pelado y corte, debido al pardeamiento enzimático.

Los ácidos empleados en esta investigación, no son considerados negativos para el consumo, debido a que el ácido cítrico está presente naturalmente en varias frutas y hortalizas y es usado en la industria para prevenir el oscurecimiento enzimático al actuar como sustancia compleja con iones de metales pesados, sobre el cobre de las enzimas PPO, mientras que, el ácido L – ascórbico se utiliza en frutas y hortalizas para evitar el pardeamiento y otras reacciones oxidativas (Peraza et al., 2020).

Dentro del marco legal, no existe reglamento interno que regule el pardeamiento enzimático del plátano utilizado para cocción o elaboración industrial (procesamiento de snacks), sin embargo, el presente trabajo se fundamentará en lo especificado por la norma para el banano (plátano) INEN 2801 (2013) validada por la norma del Codex 205 – 1997, al mismo tiempo se basará en la norma general para los aditivos alimentarios del CODEX 192 (2018), la misma que categoriza al ácido ascórbico y ácido cítrico.

Desde un punto de vista técnico, será posible aportar información relevante sobre la oxidación en la que el oxígeno molecular actúa como sustrato, catalizado por la enzima PPO (polifenol oxidasa), que provoca el pardeamiento de los plátanos.

De esta forma, lo que se quiere decir en esta investigación es evaluar el efecto del ácido cítrico y ascórbico en el pardeamiento enzimático y en la calidad microbiológica del plátano; consiguiendo así que la materia prima conserve sus características y condiciones óptimas para la elaboración de chifles principalmente.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de diferentes dosis de ácidos cítrico y ascórbico en plátano (*Musa paradisiaca*) utilizado para la producción de snacks.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la combinación de ácidos cítrico y ascórbico que logra un mayor efecto antioxidante, mediante colorimetría.
- Definir el tratamiento que logra un mejor efecto en el pH y acidez del plátano.
- Evaluar microbiológicamente el plátano para comprobar la dosis de ácido cítrico y ascórbico que previene el desarrollo de mohos y levaduras.

1.4. HIPÓTESIS

H₀ = Las diferentes combinaciones de ácido cítrico y ascórbico no mejoran la calidad física, química y microbiológica del plátano utilizado para la producción de snacks (chifles)

H₁ = Al menos una de las diferentes combinaciones de ácido cítrico y ascórbico mejorará la calidad física, química y microbiológica del plátano utilizado para la producción de snacks (chifles).

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. PLÁTANO (*Musa Paradisiaca*)

Es una planta herbácea, perteneciente a la familia *Musaceae*, las variedades cultivadas producen unas 30 hojas funcionales, dentro de las cuales se encuentran las hojas que producen los frutos. Es considerado el cuarto cultivo más importante del mundo por ser un commodity y que además tiene una gran capacidad exportadora (Villegas y otros, 2015).

Es considerado como un fruto exótico-étnico en mercados internacionales. Sirve de acompañamiento en las comidas principales, y se lo utiliza en la preparación de chifles que es un snack muy apetecido en el país. Tiene un alto consumo entre la población ecuatoriana de todas las edades pues aporta hidratos de carbono complejos. Pero a diferencia de otros alimentos ricos en almidones como la batata o la papa, el plátano verde contiene almidones retrógrados que actúan como fuente de fibras asimilables al organismo, con un bajo contenido de azúcar, sin grasas ni proteínas (Colmenares, Marín, & Martínez, 2018).

Cuadro 2. 1. Composición nutricional del plátano verde (100 g)

Nutriente	Porcentaje (%)
Porcentaje de agua	62.6
Energía (Kcal)	132
Proteína (g)	1.2
Grasas totales (g)	0.10
Carbohidratos totales (g)	35.3
Fibra total (g)	0.5
Calcio (mg)	0.8
Fósforo (mg)	40
Hierro (mg)	0.8
Vitamina C (mg)	28

Fuente: Villegas *et al.*, 2015

2.1.1. VARIEDAD BARRAGANETE

En Ecuador la variedad de plátano barraganete (*Musa paradisiaca*), fue la primera en ser destinada a la exportación por ser la favorita de la población caribeña que radica en Estados Unidos. El racimo es de pocas manos y con frutos en diferentes

direcciones, los frutos son grandes con forma curva, de tamaño intermedio (valores medios de 26 cm de longitud y 4cm de diámetro) (Ramos y otros, 2016).

2.2. DERIVADOS DEL PLÁTANO (*Musa Paradisiaca*)

El plátano verde en cualquiera de sus presentaciones ha sido transformado, principalmente en el área de actividades artesanales y PYMES, mismas que usan técnicas diversificadas para lograr la creación de productos derivados tales como los fritos (chifles con sal o diferentes sabores y condimentos), fritos congelados (patacones) y preparados (harina para coladas), que también poseen un alto consumo y son comercializados (Muñoz, Patiño & Muñoz, 2018).

2.2.1. CHIFLES

Son rodajas finas de plátano, mismas que son fritas espolvoreadas con sal, además de ser un producto muy popular y de gran consumo en todo el país, este producto pasa por un proceso de rebanado, fritura, envasado y finalmente depositado en bolsas plásticas por lo general de 30 gramos. Estos snacks se almacenan a temperatura ambiente, destacando que una de las principales características del producto es su larga vida útil, agradable sabor y además es considerado un producto natural (Barrera, Arrazola, & Cayón, 2016).

2.3. PARDEAMIENTO ENZIMÁTICO

Uno de los principales problemas que afecta la vida útil de las frutas y verduras mínimamente procesadas, incluido el plátano, es el pardeamiento enzimático que se produce en la superficie de corte. Este deterioro tiene un gran impacto visual que reduce la calidad de comercialización, la calidad organoléptica y la importancia nutricional (Rodríguez, Ortega, & Piñeros, 2018).

La decoloración de la superficie de corte es un problema que se encuentra en los plátanos. Estos cambios de color de la superficie se atribuyen a un proceso de pardeamiento enzimático mediante el cual los compuestos fenólicos se oxidan a

formas quinonas, a través de reacciones catalizadas por enzimas conocidas genéricamente como polifenol oxidasa (Jadán, 2016).

2.3.1. POLIFENOL OXIDASA

La polifenol oxidasa (PPO por sus siglas en inglés) es una metaloenzima que actúa durante el procesamiento y la senescencia de frutas y vegetales, catalizando dos tipos de reacciones que usan oxígeno molecular como agente oxidante: la orto-hidroxilación de monofenoles para producir orto-difenoles y la posterior oxidación de orto-difenoles a ortoquinonas, estas especies producidas son altamente reactivas e inestables y pueden reaccionar con grupos amino y tiol de aminoácidos libres y proteínas mediante mecanismos no enzimáticos, o reaccionar covalentemente con otros compuestos fenólicos para formar diferentes pigmentos, ocasionando así el efecto conocido como pardeamiento enzimático (Artés, Castañer, & Gil, 2016).

El pardeamiento enzimático es una reacción que provoca el deterioro de las características organolépticas de los productos, afecta su valor proteico e influye en las propiedades beneficiosas asociadas a los compuestos fenólicos, provocando grandes pérdidas económicas en la industria hortofrutícola (Artés, Castañer y Gil, 2016). El oscurecimiento o dorado es esencialmente la oxidación de sustratos fenólicos a quinonas y puede catalizar dos tipos diferentes de reacciones: (1) ortohidroxilación de monofenoles para producir odifenoles y (2) oxidación de odifenoles para producir quinonas, siendo estas últimas moléculas de condensación muy reactivas, combinadas con amino o grupos de proteínas sulfhidrilo y con azúcares reductores, por reacción no enzimática, dando lugar a polímeros marrones, rojizos y negros con gran peso molecular y de estructura desconocida, denominados melaninas. (Artés, Castañer y Gil, 2016).

2.3.2. FACTORES Y MECANISMOS DE INHIBICIÓN DE LA REACCIÓN PRODUCIDA POR LA PPO

La inhibición de la PPO y la prevención del pardeamiento enzimático son a menudo tratadas de manera similar. Son algunas las maneras que existen para controlar el pardeamiento enzimático, la primera inhibiendo la enzima, la segunda eliminando

uno de los dos sustratos de la reacción (oxígeno o polifenol) y la tercera reaccionando con los productos de la acción de la enzima. Todas estas formas inhiben el desarrollo de los pigmentos coloreados provenientes de las acciones secundarias de la fase no enzimática, por ello es importante tener en consideración que al ser la Polifenol Oxidasa (PPO) una cobreproteína que posee un ión Cu^{+2} en su centro activo, es difícil distinguir el mecanismo de acción por el que pueda controlar el pardeamiento enzimático, debido a que algunos inhibidores actúan en conjunto con la enzima y el sustrato o producto (Silveira, 2017).

La velocidad con la que puede ocurrir la reacción del pardeamiento de los tejidos vegetales, depende de la disponibilidad de la enzima, su concentración, sus compuestos fenólicos, el pH, temperatura, actividad del agua y sobre todo la el O_2 disponible en el tejido. Por otra parte, también existen algunos factores intrínsecos del vegetal que intervienen en la intensidad del pardeamiento, como por ejemplo la especie, la variedad y su estado fisiológico (Silveira, 2017).

Cuadro 2. 2. Mecanismos de inhibición de la reacción producida por la PPO

Factor	Modo de acción	Métodos y Compuestos
Enzima	(1) La acidificación o alcalinización	(1) Uso de acidulantes, son más sensibles al pH ácido: ácido fosfórico, etc. Por si solos no son muy efectivos
	(2) Tratamientos térmicos	(2) Uso del escaldado para inactivación de la enzima
	(3) Quelantes	(3) Cianida, CO, fosfatos, EDTA o ácidos orgánicos (AA)
	(4) Iones inorgánicos	(4) Fluoruro, azida o borato
	(5) Ácido benzoico y algunos sustitutos de los ácidos cinámicos	(5) Inhibidores competitivos de la enzima en plátano
	(6) Inhibidores específicos	(6) Ácidos carboxílicos aromáticos, alcoholes alifáticos, aniones, péptidos, resorcinol, sustituido
	(7) Otros	(7) Polímeros solubles o antibióticos inhibidores de la biosíntesis de las proteínas

Fuente: (Silveira, 2017).

2.4. AGENTES ANTIOXIDANTES

El pardeamiento enzimático también se puede controlar mediante el uso de antioxidantes y agentes complejos capaces de formar complejos con sustratos de PPO o interactuar con los productos de reacción. La principal acción de los

antioxidantes químicos es prevenir el pardeamiento reduciendo las o-quinonas a sus precursores los o-difenoles. Las investigaciones citan como principales antioxidantes al ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido eritórbito, ácido elágitico, nacetilcisteína, clorhidrato de cisteína y glutatión (Muñoz, Patiño & Muñoz, 2018).

2.4.1. ÁCIDO CÍTRICO

El ácido cítrico (ácido 2-hidroxi1,2,3-propantricarboxílico) se considera un ácido natural, pero también se puede sintetizar en el laboratorio, se encuentra en casi todos los tejidos animales y vegetales, se presenta como ácido de la fruta en limón, mandarina, lima, pomelo, naranja, piña, ciruela, guisantes, melocotones, así como en huesos, músculos y sangre de animales. Se le llama ácido carboxílico polivalente y se usa ampliamente en los campos alimentario, farmacéutico y cosmético. Físicamente, es un polvo cristalino blanco que puede ser anhídrido o monohidrato, considerado ácido tricarboxílico (Muñoz, Sáenz, López, Cantú y Barajas, 2014).

2.4.2. ÁCIDO ASCÓRBICO

Es un agente antioxidante soluble en agua y además es una vitamina esencial. Este ácido se obtiene a partir de la sintetización química de la glucosa, generando una serie de reacciones enzimáticas. Dentro de la industria alimentaria el ácido ascórbico se utiliza principalmente como agente vitamínico y como aditivo antioxidante, brindando protección en la calidad nutricional y sensorial de los alimentos.

Es bastante recomendado para evitar o disminuir el pardeamiento enzimático, debido a que es un inhibidor de la polifenol oxidasa. Su mecanismo de acción consiste en actuar sobre la reducción de las quinonas, por su propiedad de oxidarse a ácido dehidroascórbico (Ayala, García, Sánchez, Jirón, & Espinoza, 2016).

2.5. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO

La colorimetría está basada en la medición de la interacción que tiene la luz en una específica longitud de onda frente a un compuesto de interés o analito de una disolución. Las diferentes áreas de la investigación, utilizan de una forma amplia

las técnicas colorimétricas cuantitativas, consideradas de alta eficiencia. Estas facilitan un análisis rápido y simultáneo de una gran variedad de muestras, siendo las mismas de gran ayuda para la aplicación de lectores de placa robotizados, que por lo general no están disponibles en todos los laboratorios analíticos. De ahí que, el uso de la visión por computador puede ser una alternativa de bajo coste para llevar a cabo cuantificaciones colorimétricas (Condezo, Mohamed, & Arribas, 2015).

2.5.1. MÉTODO CIE-L*a*b*

Este método fue establecido para lograr una percepción uniforme del color. El modelo de coordenadas permite que los colores sean representados en el espacio a equitativas distancias, tomando en cuenta las diferencias visuales entre ellos, por ello este método es el más recomendado para las mediciones industriales del color de los productos. Las coordenadas de color L^* , a^* y b^* en una muestra de alimento, especifican lo siguiente: L^* la luminosidad (0 = negro y 100 = blanco) y a^* con b^* las coordenadas cromáticas rectangulares (+ a = rojo y $-a$ = verde / + b = amarillo y $-b$ = azul) (Padrón, 2010). Además se destaca que el croma o cromaticidad (C^*) indica cuán puro, intenso o vivo es un color en una escala del 1 al 100, donde este último valor expresa la mayor pureza (Castro, Cerquera & Gutierrez, 2013).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

El desarrollo de los tratamientos al igual que los análisis fisicoquímicos se efectuaron en el laboratorio de Bromatología, mientras que los análisis microbiológicos se desarrollaron en el laboratorio de Microbiología General de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, en el sitio El Limón a 2 Km de la ciudad de Calceta, entre las coordenadas de 0°49'23'' de latitud sur y 80°11'1' de longitud oeste a una altitud de 15 msnm (Google Maps, s.f.). Con respecto al análisis colorimétrico se lo realizó en el Analytical Laboratory Investigation, ubicado en la Av. Eloy Alfaro. Cdla Espejo.

3.2. DURACIÓN DEL PROYECTO

El presente trabajo de titulación tuvo una duración de nueve meses aproximadamente, a partir de su aprobación.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. MÉTODO ANALÍTICO

Este método permitió comprobar la hipótesis, analizando el problema planteado, se identificaron las causas que influyen en la oxidación alimentaria descomponiendo en sus partes todos y cada uno de los elementos que intervienen en el objeto de estudio, llegando así al fin perseguido. En el contexto de la investigación, se identificaron las causas que influyen en la oxidación alimentaria del plátano midiendo el efecto de dos ácidos orgánicos en el pardeamiento enzimático del plátano (Rodríguez & Pérez, 2017).

3.3.2. MÉTODO DEDUCTIVO

Con el objeto de partir de aspectos generales de la investigación para llegar a situaciones particulares se utilizó el método deductivo, extrayendo conclusiones lógicas y válidas a partir de un conjunto dado de premisas o proposiciones. Para evaluar el efecto del ácido ascórbico y cítrico sobre la inhibición del pardeamiento

enzimático, se partió del proceso por el cual los alimentos toman un color marrón debido a ciertas reacciones químicas, para luego a través de la experiencia y conocimiento lógico obtener los resultados y finalmente dar respuesta a la hipótesis (Rodríguez & Pérez, 2017).

3.4. TÉCNICAS

3.4.1. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO

Siguiendo la metodología de Condezo et al. (2015), se utilizó el análisis colorimétrico de alta eficiencia y de bajo coste mediante visión por computador.

- **Cuantificación colorimétrica de la capacidad antioxidante:** A través del método de Folin-Ciocalteu, se relacionaron las coordenadas colorimétricas, debido a que las mismas intervienen en la concentración antioxidante. Esta modificación potenció la visión del computador, debido que incluyó una etapa de neutralización que mejoró la estabilidad del color y al mismo tiempo permitió una mejora significativa en la reproducibilidad de las cuantificaciones analíticas con respecto a la capacidad antioxidante. Se trabajó con una longitud de onda de 760 nm para obtener la absorbancia.
- **Adquisición de imagen:** La cuantificación de polifenoles totales se realizó directamente en placas de 96 pocillos de 360 μ L usando el método modificado de Folin-Ciocalteu . Inmediatamente después, la imagen de la placa multipocillos se adquirió en un escáner estándar HP PSC 1510. El escáner se configuró con los siguientes parámetros: resolución = 1200 ppi, profundidad de bits = 32 y formato de imagen = TIFF comprimido.
- **Software:** El software empleado fue Adobe® Photoshop® CS3 Extended (Adobe Systems Incorporated, USA) que es una aplicación profesional para la edición y retoque de imágenes en diversos formatos (ASI 2007) y posee una amplia variedad de bibliotecas de colores, entre las que se incluyen las guías de colores PANTONE® (X-Rite, Inc., Grand Rapids, MI, USA). Presenta reguladores en el espacio de color CIE-L*a*b* y HSB ('hue, saturation, brightness') o HSV ('hue, saturation, value') un modelo similar al espacio de color CIE-L*C* h°.

El procedimiento empleado en Photoshop® fue el siguiente:

- Preprocesamiento.
- Discriminación de la brillantez del reflector.
- Fraccionamiento sucesivo, con el fin de obtener el área de interés.
- Promediado de los píxeles en el área de interés.
- Región de interés con coordenadas L^* , a^* y b^* .
- Obtención del promedio de las coordenadas colorimétricas en tres fotografías de un mismo tratamiento

3.4.2. DETERMINACIÓN DE pH

La determinación del pH se realizó mediante potenciometría, por el método 981.12/90 de la A.O.A.C, haciendo uso de un potenciómetro marca Milwaukee que se encontraba previamente calibrado. Al ser el plátano una muestra sólida, se utilizó la técnica establecida en el manual de bromatología de la Carrera de Agroindustria, para convertirla en una muestra líquida y evaluar el pH de forma directa (Barrera et al.,2016).

3.4.3. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ

Se realizó mediante el método volumétrico citado por Jadán (2016):

En 150 ml de agua destilada, se licuaron 50g de pulpa de plátano por un tiempo de dos minutos. Luego para el proceso de filtración, se utilizó un embudo y papel filtro. Luego se transfirieron 10 ml del filtrado a un Erlenmeyer de 125 ml, añadiendo 25 ml de agua destilada y 5 gotas del indicador fenolftaleína. La titulación se realizó con Hidróxido de Sodio (NaOH) al 0,1N, midiendo la acidez con base en ácido málico.

3.4.4. MOHOS Y LEVADURAS

Se lo realizó utilizando el método de recuento en placa, por siembra en profundidad, el mismo que se rige al procedimiento establecido en la NTE INEN 1529-10 (1998). El medio de cultivo utilizado fue agar sal-levadura de Davis o similar. La siembra se realizó en tres diluciones consecutivas: 1:10, 1:100, 1:1000.

3.5. FACTORES EN ESTUDIO

Los factores de estudio en la investigación fueron:

Factor A = Dosis de ácido cítrico

Factor B = Dosis de ácido ascórbico

3.5.1. NIVELES

Factor A: Dosis de ácido cítrico

$a_1 = 0,25 \%$

$a_2 = 0,50\%$

$a_3 = 0,75\%$

Factor B: Dosis de ácido ascórbico

$b_1 = 0,25 \%$

$b_2 = 0,50 \%$

$b_3 = 0,75 \%$

3.6. TRATAMIENTOS

De la combinación de los diferentes niveles de cada factor dio como resultado los siguientes tratamientos

Cuadro 3. 1. Detalle de los tratamientos

TRATAMIENTOS	CÓDIGOS	DESCRIPCIÓN	
		% ácido cítrico	% ácido ascórbico
T ₁	a ₁ b ₁	0,25	0,25
T ₂	a ₁ b ₂	0,25	0,5
T ₃	a ₁ b ₃	0,25	0,75
T ₄	a ₂ b ₁	0,50	0,25
T ₅	a ₂ b ₂	0,50	0,5
T ₆	a ₂ b ₃	0,50	0,75
T ₇	a ₃ b ₁	0,75	0,25
T ₈	a ₃ b ₂	0,75	0,5
T ₉	a ₃ b ₃	0,75	0,75

3.7. DISEÑO EXPERIMENTAL

En esta investigación de tipo experimental se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA), el mismo que fue por arreglo factorial 3² en DCA (Cuadro 3.2), para cada tratamiento se realizaron dos réplicas.

Cuadro 3. 2. Esquema del ANOVA en arreglo factorial 3²

FUENTES DE VARIACIÓN	gl
Total	17
Porcentaje de ácido cítrico (A)	2
Porcentaje de ácido ascórbico (B)	2
Interacción (AxB)	4
Error	9

3.8. UNIDAD EXPERIMENTAL

Para este trabajo se empleó 1kg de plátano verde (*Musa paradisiaca*) variedad barraganete por cada unidad experimental, se realizaron dos réplicas por cada tratamiento, obteniendo un total de 18 unidades experimentales (Cuadro 3.3).

Cuadro 3. 3. Características de la unidad experimental

Detalle	Cantidad
Unidad experimental	18
Tratamientos	9
Réplicas	2

3.9. VARIABLES A MEDIR

- Pardeamiento enzimático (análisis colorimétrico)
- pH
- Acidez
- Mohos y levaduras

3.10. MANEJO DEL EXPERIMENTO

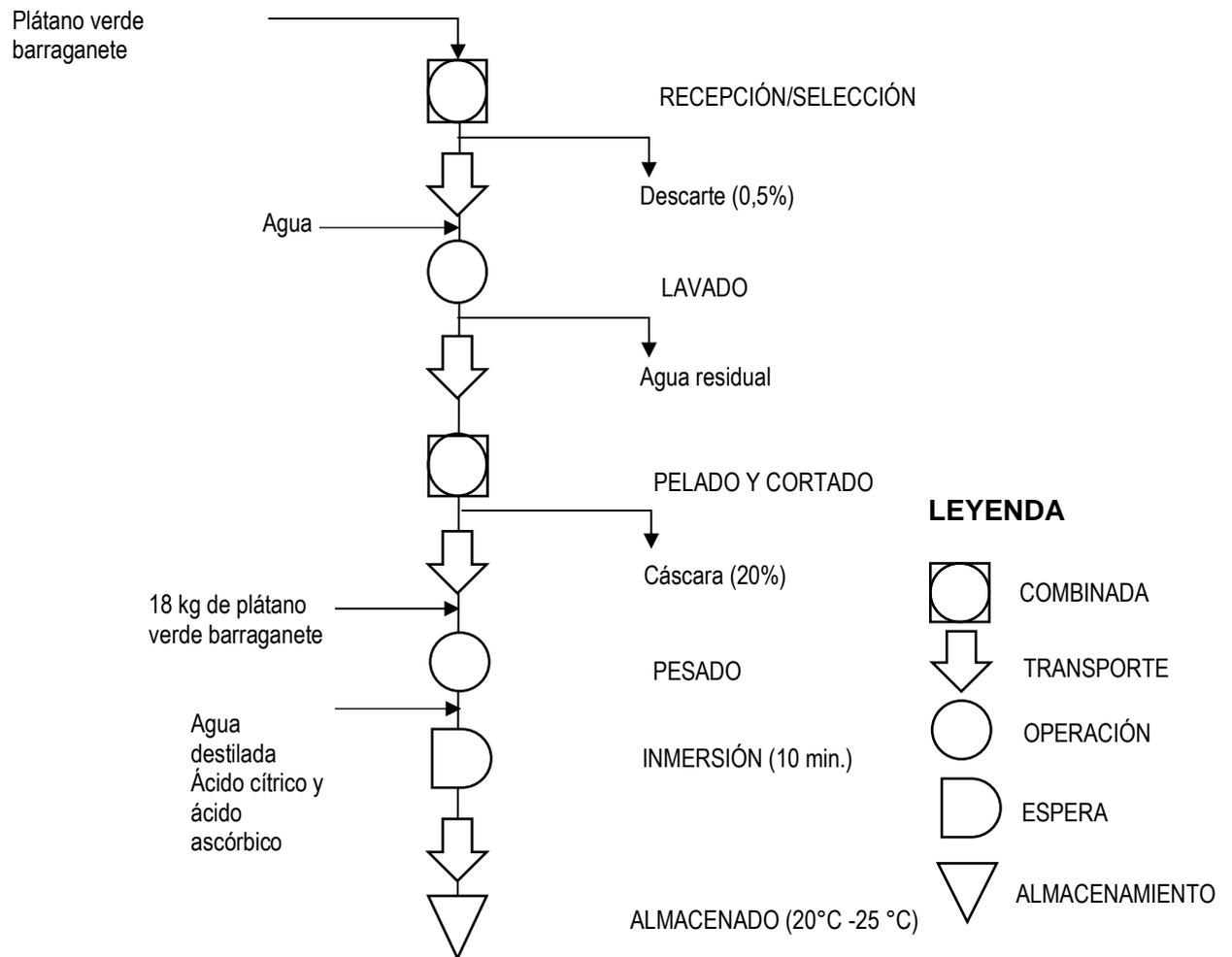


Figura 3. 1. Diagrama de proceso para la inmersión de rodajas de plátano (*Musa Paradisiaca*) en soluciones antioxidantes

3.10.1. DESCRIPCIÓN DE PROCESO PARA LA INMERSIÓN DE RODAJAS DE PLÁTANO (*MUSA PARADISIACA*) EN SOLUCIÓN ANTIOXIDANTE

RECEPCIÓN Y SELECCIÓN: La materia prima que se utilizó fue el plátano barraganete (18 Kg) de buena apariencia, con un estado de maduración grado 1 (anexo 1), cultivado en El Carmen, provincia de Manabí.

LAVADO: En esta etapa se eliminaron las impurezas de materia vegetal, utilizando agua potable y un cepillo.

PELADO Y CORTADO: Con ayuda de un cuchillo y de forma manual, al plátano verde se le retiró la cáscara y fue cortado en rodajas de aproximadamente 2 a 3 mm de espesor. Se utilizó el corte en rodajas debido a que en el mercado actual es el formato típico utilizado en snacks de plátano verde.

PESADO: Haciendo uso de una balanza analítica modelo T-Scale DHB, se colocó 1kg de materia vegetal por cada unidad experimental.

INMERSIÓN: Las rodajas de plátano fueron inmersas en soluciones diluidas (bajo porcentajes de soluto de 0,25%, 0,50% y 0,75% en relación a 1000 ml de solvente), compuestas de agua como solvente y antioxidantes (ácido cítrico y ácido ascórbico) como soluto, durante 10 minutos a temperatura de 27°C.

ALMACENADO: Después de la inmersión, las rodajas de plátano fueron expuestas a 27°C por un tiempo de 12 horas, simulando la temperatura de trabajo dentro de una fábrica de snacks, lo que permitió observar la efectividad de los ácidos cítrico y ascórbico sobre las reacciones de óxido-reducción.

3.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para realizar el análisis estadístico de las variables en estudio, se utilizaron las siguientes pruebas:

- **Análisis de varianza (ANOVA):** Supuestos de Normalidad, Homogeneidad y Homocedasticidad. Este análisis se realizó para determinar la existencia de diferencia significativa estadística entre los criterios de las variables, tratamientos y factores en estudio.
- **Prueba no Paramétrica de Kruskal –Wallis:** Esta prueba se aplicó a las variables que no cumplieron con los supuestos del ANOVA.

- **Prueba de Tukey:** Permitió determinar la magnitud de las diferencias entre tratamientos y factores efectuándose al 5% de probabilidad, de acuerdo a los grados de libertad (GL) del error.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS COLORIMÉTRICO

Los resultados de la variable colorimétrica, se presentaron mediante las coordenadas de color CIE L*a*b* (luminosidad, croma, ángulo de tono) (Anexo 5).

Las coordenadas de luminosidad (L*) y ángulo de tono (b*) cumplieron con los supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk) y el de homogeneidad (Levene) ($\text{sig} > 0,05$), mientras que la coordenada croma (a), no cumplió con los supuestos mencionados, por lo que se procedió a efectuar prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para este último (Cuadro 4.1).

Cuadro 4. 1. Supuestos del Anova para la variable colorimétrica

	gl	Shapiro-Wilk		Levene	
		Estadístico	Sig.	Estadístico	Sig.
L* (luminosidad)	18	0,951	0,433	0,349	0,924
a* (croma)	18	0,865	0,015	--	--
b* (ángulo de tono)	18	0,919	0,122	0,583	0,771

El cuadro del Anova para las coordenadas luminosidad y ángulo de tono (Cuadro 4.2), muestra que no hubo diferencia estadística significativa al evaluar los dos factores en estudio y su interacción, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula para las dos coordenadas colorimétricas mencionadas.

Cuadro 4. 2. Anova para las coordenadas colorimétricas L* (luminosidad) y b* (ángulo de tono)

Fuente de variación	Coordenadas colorimétricas	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
Total	L	17	732,494			
	B	17	2220,613			
Factor A: Dosis ácido cítrico	L	2	141,117	70,559	2,171	0,170
	B	2	71,736	35,868	0,211	0,813
Factor B: Dosis ácido ascórbico	L	2	125,821	62,911	1,936	0,200
	B	2	228,305	114,152	,673	0,534
Factor A* B: Dosis ácido cítrico * Dosis ácido ascórbico	L	4	173,094	43,273	1,332	0,330
	B	4	393,179	98,295	,579	0,685
Error	L	9	292,462	32,496		
	B	9	1527,394	169,710		

El análisis no paramétrico realizado para la coordenada a^* (croma), dio como resultado que tanto el factor A, como el factor B, no muestran diferencias significativas, por lo que la prueba de Kruskal Wallis indica retener la hipótesis nula (Cuadro 4.3).

Cuadro 4. 3. Prueba Kruskal Wallis de los factores A y B en la coordenada colorimétrica a^* .

Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de a^* es la misma entre las categorías de dosis ácido ascórbico	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,272	Retener la hipótesis nula
Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
La distribución de a^* es la misma entre las categorías de dosis ácido cítrico	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0,272	Retener la hipótesis nula

El criterio croma está vinculado con la luminosidad, entre mayor sea la luminosidad del objeto mayor será su saturación (croma), a su vez el aumento en la coordenada a^* logran un afín con la tendencia al pardeamiento no enzimático (Bravo y Vélez, 2016).

Por otra parte, Enríquez et al. (2020) mencionan que al analizar diferentes muestras de plátano barraganete la coordenada a^* presenta rangos de 8,73-30.64 siendo el idóneo $21,0 \pm 0,9$ en base a ello, se coloca como mejor tratamiento a T8, presentando un valor de $a^* > 20$, mostrando mayor pureza en el color.

La coordenada b^* presentó valores desde 2,35 hasta 42,82 en los tratamientos evaluados. Según Mejía (2013), en su investigación sobre comportamiento físico y químico del plátano, menciona que, el mismo debe presentar promedios desde 22,45 hasta 36.77, con un ligero y continuo crecimiento de estos valores, hasta que se obtenga una maduración total, donde ya ocurre un descenso o disminución de la intensidad de color.

Se puede visualizar en el gráfico 4.1 que la luminosidad o claridad (L^*) fue la coordenada colorimétrica que más influyó en el cambio de color del material experimental evaluado. A su vez en el mismo gráfico se puede observar que los valores de L se encontraron en un rango de 50 y 70. En el sistema CIE- $L^*a^*b^*$, L^*

representa claridad desde negro (0) a blanco (100). La claridad del plátano está entre 62 y 78 (Jiménez, 2019), por ello se presentó como mejor tratamiento a T8 (0,75 % ácido cítrico y 0,50% ácido ascórbico) y, con un valor de L* correspondiente a 66,67, seguido de T9 (L*= 65,30) (0,75% ácido cítrico y 0,50% ácido ascórbico). Los valores obtenidos, son posiblemente causados por las interacciones entre ácido cítrico y ascórbico, inhibiendo la reacción de polifenol oxidasa y finalmente reconvirtiendo las quinonas en fenoles, por ello menor pardeamiento enzimático y más claridad (Dávila, Cortés, & Gil, 2016).

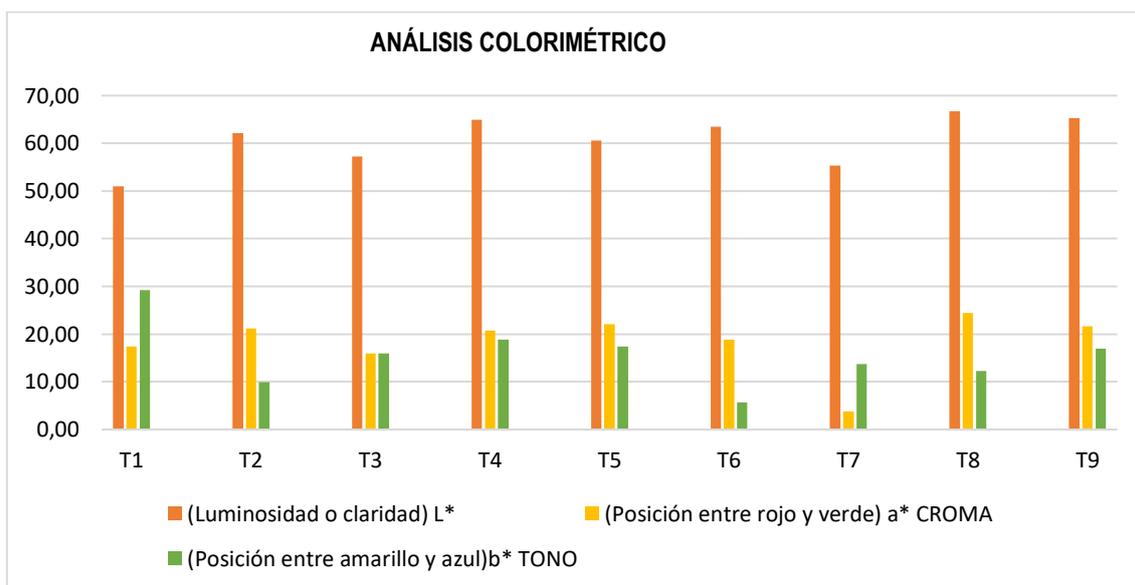


Gráfico 4. 1. Representación gráfica de los valores medios de L*, a*, b* en los nueve tratamientos evaluados.

La evaluación del color en el plano cromático (anexo 2) de los tratamientos evaluados con diferentes dosis de ácido cítrico y ácido ascórbico, permitieron colocar como mejor tratamiento a T8 (0,75 % ácido cítrico y 0,50% ácido ascórbico), mismo que tiene un desplazamiento desde la zona amarilla-roja hasta los límites de la zona amarilla (a*: 24,47; b*: 12,24).

4.2. EFECTO DEL pH Y ACIDEZ SOBRE EL PLÁTANO

En el cuadro 4.4, se observa que la variable pH no cumplió con el supuesto de normalidad ($\text{sig} < 0,05$), por ello directamente, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, para el análisis de los factores.

4.2.1. pH

Cuadro 4. 4. Supuesto del ANOVA para la variable pH

	g l	Shapiro-Wilk		Levene	
		Estadístico	Sig.	Estadístico	Si g.
Ph	1 8	0,863	0,014	--	--

Kruskal-Wallis, rechazó la hipótesis nula para el factor A, es decir que la dosis de ácido cítrico si causa diferencia significativa del pH entre tratamientos (anexo 3), mientras que para el factor B, se aceptó la hipótesis nula, es decir que las diferentes dosis de ácido ascórbico no influyen en el pH de los tratamientos (anexo 4). Los resultados obtenidos se deben posiblemente al poder acidulante del ácido cítrico, que en conjunto con sus sales de sodio y potasio actúan en la regulación del pH; generando al mismo tiempo un sinergismo con ayuda del ácido ascórbico, destacando que estos ácidos funcionan como agentes retenedores de vitaminas, regulando y previniendo la oxidación enzimática (Dávila, Cortés, & Gil, 2016).

La mayor influencia para este factor, fue evidenciada para el nivel α_2 (0,50% ácido cítrico), mismo que presentó los valores más bajos de pH (Gráfico 4.2). Según Cerda et al. (2018), la enzima polifenoloxidasasa tiene la mayor actividad a pH de 7, siendo un pH de 5 el idóneo para inhibir el desarrollo de la misma, sin embargo, el pH obtenido para cada uno de los tratamientos, no alcanzó un valor de 5, pero si menor a 7, por lo que esta enzima no presentó su mayor actividad.

Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes

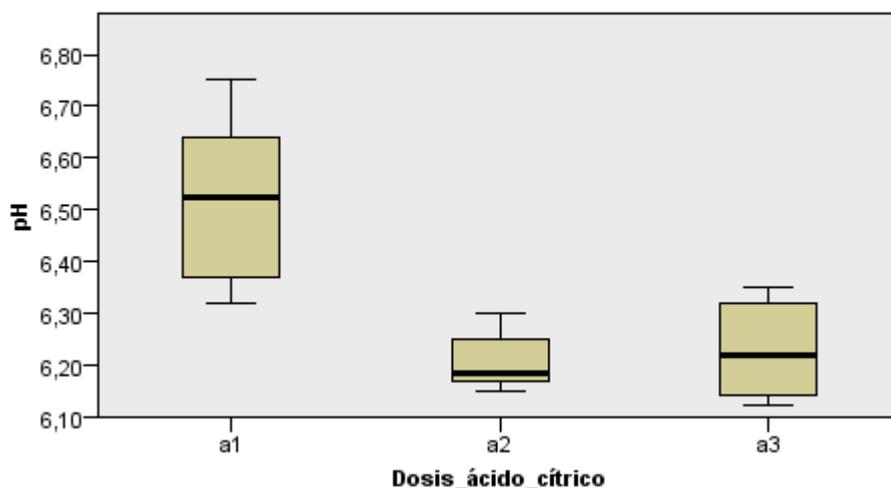


Gráfico 4.2. Diagrama de caja y bigotes para el factor A de la variable pH

Aunque la dosis de ácido ascórbico no mostró diferencia significativa, los mayores valores de pH, se logró evidenciar para el nivel más alto es decir b₃ (0,75 ácido ascórbico).

Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes

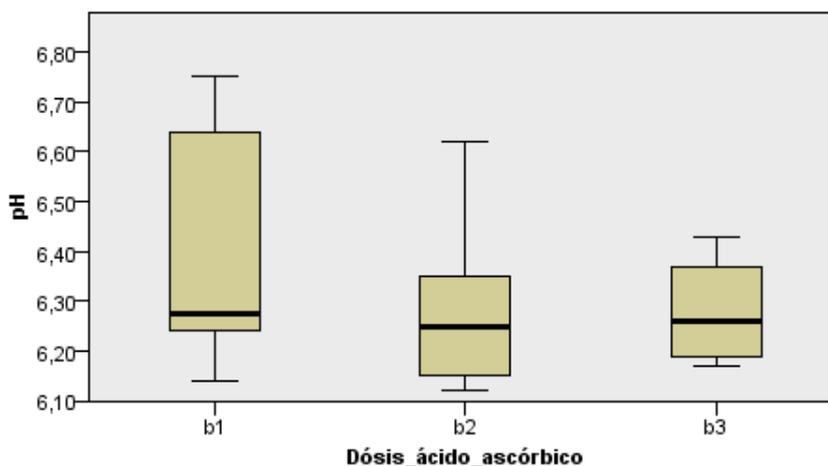


Gráfico 4.3. Diagrama de caja y bigotes para el factor B de la variable pH

La interacción de ambos factores mostró como mejor tratamiento para pH a T₅ (0,50% ac. cítrico y 0,50% ac. ascórbico) (gráfico 4.4) ya que logró obtener el menor valor, correspondiente a 6, para dicha variable. Yupangui (2016) detalla que un pH bajo cesa en la actividad enzimática y aunque luego se vuelva al pH original, la enzima no se recupera, impidiendo así el pardeamiento. A su vez, añade que garantiza la inocuidad microbiológica del producto.

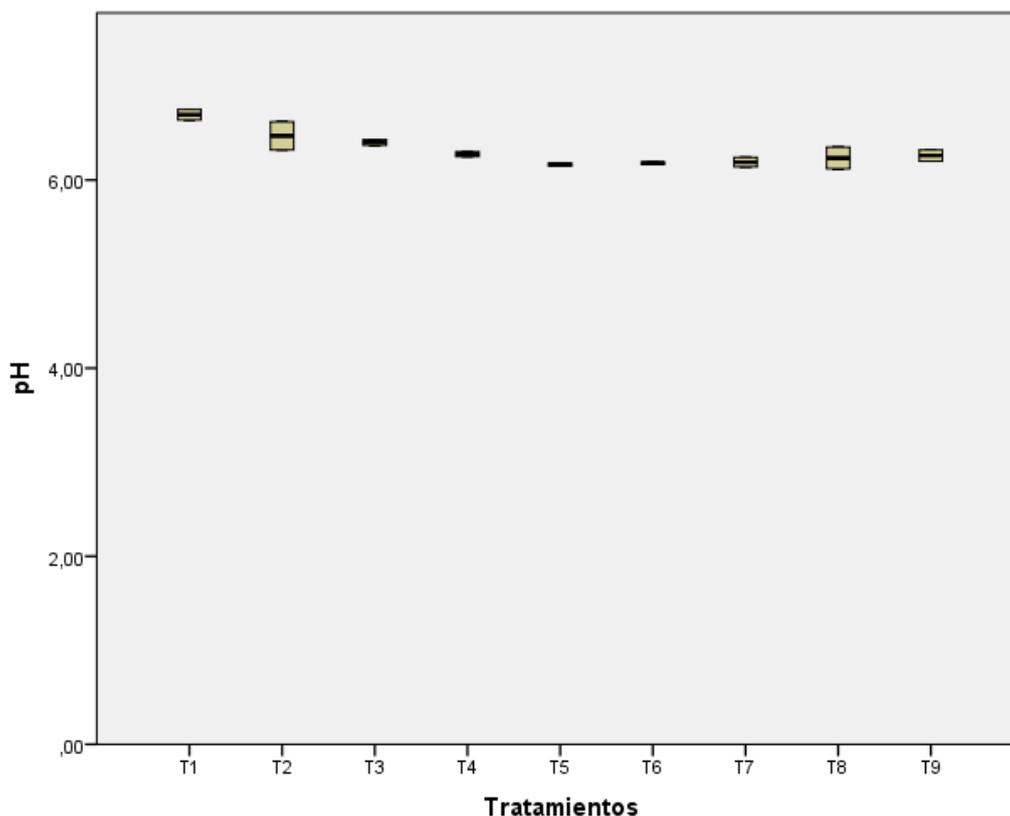


Gráfico 4. 2. Diagrama de caja y bigotes para tratamientos la variable pH

4.2.2. ACIDEZ

El cuadro 4.4 evidencia que la variable acidez cumplió con los supuestos del ANOVA ($\text{sig} > 0,05$), por ello se utilizaron pruebas paramétricas para el análisis de los factores.

Cuadro 4. 5. Supuesto del ANOVA para la variable acidez

	gl	Shapiro-Wilk		Levene	
		Estadístico	Sig.	Estadístico	Sig.
Acidez	18	0,899	0,055	2,146	0,138

El análisis de varianza (Cuadro 4.5) determinó diferencia significativa para los dos factores y tratamientos (combinación de factores), esto debido a que, el ácido cítrico es un corrector de acidez, mismo que actúa como agente quelante de iones de metales responsables de las reacciones de pardeamiento enzimático, potenciando a su vez el efecto de compuestos tales como el ácido ascórbico.

Cuadro 4. 6. Anova para la variable acidez

Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	F	Sig.
Total	17	0,041			
Factor A: Dosis ácido cítrico	2	0,006	0,003	9,982	0,005
Factor B: Dosis ácido ascórbico	2	0,014	0,007	22,518	0,000
Factor A*B: Dosis ácido cítrico * Dosis ácido ascórbico	4	0,018	0,004	14,321	0,001
Error	9	0,003	0,000		

La prueba de Tukey para el factor A (Cuadro 4.6), mostró dos subconjuntos homogéneos, mostrando al nivel α_1 (0,25 % de ácido cítrico), con el mayor valor de acidez, lo que resultó conveniente debido a que la actividad de la enzima polifenol oxidasa, disminuye su actividad aumentando la acidez en función a una disminución de pH (Bravo & Vélez, 2016).

Cuadro 4. 7. DHS de Tukey para el factor A de la variable acidez

Dosis ácido cítrico	N	Subconjunto	
		1	2
a2	6	0,1450	
a3	6	0,1617	0,1617
a1	6		0,1900
Sig.		0,280	0,051

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos

Basadas en las medias observadas

El término de error es la media cuadrática (Error)=0,000.

Usa el tamaño muestral de la media armónica=6,000a

Alfa=0,05b

El factor B, mostró tres subconjuntos homogéneos en la prueba de Tukey (Cuadro 4.7), siendo el nivel b_2 (0,50 % de ácido ascórbico) el que obtuvo el mayor valor de acidez.

Cuadro 4. 8. DHS de Tukey para el factor B de la variable acidez

Dosis ácido ascórbico	N	Subconjunto		
		1	2	3
b1	6	0,1317		
b3	6		0,1650	
b2	6			0,2000
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos

Basadas en las medias observadas

El término de error es la media cuadrática (Error)=0,000.

Usa el tamaño muestral de la media armónica=6,000a

Alfa=0,05b

La prueba de Tukey para tratamientos de la variable acidez, evidenció tres subconjuntos homogéneos, destacando al tratamiento T₅ (0,50% de ácido cítrico y 0,50% de ácido ascórbico) como el mejor tratamiento, ya que presentó el mayor valor de porcentaje de acidez. Lo anterior concuerda con Sepúlveda (2010), quien argumenta que conforme se aumenta la acidez el pH tiende a disminuir, logrando reducir la actividad enzimática de la PPO.

Cuadro 4. 9. DHS de Tukey para tratamientos de la variable acidez

Tratamientos	N	Subconjunto		
		1	2	3
T ₆	2	0,1000		
T ₄	2	0,1050		
T ₇	2	0,1100	0,1100	
T ₂	2		0,1750	0,1750
T ₁	2			0,1800
T ₉	2			0,1800
T ₈	2			0,1950
T ₃	2			0,2150
T ₅	2			0,2300
Sig.		0,999	0,072	0,155

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos

Basadas en las medias observadas

El término de error es la media cuadrática (Error)=0,000.

Usa el tamaño muestral de la media armónica=6,000a

Alfa=0,05b

4.3. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

En el Cuadro 4.10, se presentan los análisis microbiológicos para identificar mohos y levaduras en los diferentes tratamientos de plátanos mínimamente procesados tratados con ácido cítrico y ascórbico, con las réplicas (R) de cada uno de ellos.

Cuadro 4. 10. Resultados de los análisis de mohos y levaduras realizados a los nueve tratamientos.

Tratamientos	Mohos (UFC/g)	Levaduras (UFC/g)
T ₁ R ₁	2,0x10 ¹	Ausencia
T ₁ R ₂	5,0x10 ¹	1,0x10 ¹
T ₂ R ₁	2,0x10 ¹	Ausencia
T ₂ R ₂	1,0x10 ¹	Ausencia
T ₃ R ₁	6,0x10 ¹	Ausencia
T ₃ R ₂	8,0x10 ¹	1,0x10 ¹
T ₄ R ₁	4,0x10 ¹	5,0x10 ¹
T ₄ R ₂	5,0x10 ¹	2,0x10 ¹
T ₅ R ₁	7,0x10 ¹	3,0x10 ¹
T ₅ R ₂	3,0x10 ¹	Ausencia
T ₆ R ₁	7,0x10 ¹	2,0x10 ¹
T ₆ R ₂	3,0x10 ¹	1,0x10 ¹
T ₇ R ₁	15,0x10 ¹	2,0x10 ¹
T ₇ R ₂	11,0x10 ¹	3,0x10 ¹
T ₈ R ₁	3,0x10 ¹	Ausencia
T ₈ R ₂	7,0x10 ¹	5,0x10 ¹
T ₉ R ₁	4,0x10 ¹	2,0x10 ¹
T ₉ R ₂	10,0x10 ¹	2x0x10 ¹

Los resultados obtenidos muestran que cada uno de los tratamientos con sus réplicas presentaron variaciones en los parámetros microbiológicos, por cuanto los mismos indican que las muestras evaluadas tienen un nivel microbiológico variable.

La norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1529-10 (1998) establece los parámetros mínimos que debe tener un producto alimentario como lo es el plátano, por tanto, el límite de unidades formadoras de colonia (UFC) en relación a mohos y levaduras es de 2×10^2 .

En el caso de los tratamientos T₁ (0,25% ácido cítrico y 0,25% ácido ascórbico) y T₂ (0,25% ácido cítrico y 0,25% ácido ascórbico), se evidenciaron resultados menores al límite establecidos por la norma, siendo estos los mejores tratamientos.

Los mohos y levaduras resultan generalmente inhibidos por concentraciones de ácido cítrico y ascórbico de 0,01 a 0,03%. Estos compuestos constituyen un eficaz agente antimicrobiano a valores de pH inferiores a 6, por ello los tratamientos con menores concentraciones de ácido cítrico y ascórbico presentaron valores bajos de UFC e incluso ausencia para mohos y levaduras.

Los demás tratamientos presentaron valores de mohos y levaduras por encima del límite, lo que según Bajaña (2017) esto podría deberse a una contaminación debido al ambiente.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- El tratamiento que logra el mayor efecto antioxidante en el plátano barraganete superior a los demás tratamientos fue el T8 (0,75% de ácido cítrico y 0,50% de ácido ascórbico), presentando mayor pureza en el color del mismo.
- El tratamiento que presenta mayor incidencia en las variables de pH y acidez fue el T₅ (0,50% ac. cítrico y 0,50% ac. ascórbico), considerándose el mejor en la inhibición del pardeamiento enzimático.
- Los análisis de mohos y levaduras determinan que el plátano verde mínimamente conservado con ácido ascórbico y cítrico (T₁ y T₂) presentaron valores menores a lo indicado por la norma INEN 1529-10 ($<2 \times 10^2$), siendo considerados los mejores tratamientos.

5.2. RECOMENDACIONES

- Las diferentes dosis de ácido cítrico y ácido ascórbico, permitieron inhibir el pardeamiento enzimático en el plátano, sin embargo, se comprobó mejores resultados para las dosis de 0,75% de ácido cítrico y 0,50% de ácido ascórbico, por lo que es recomendable utilizar estas concentraciones en futuras investigaciones.
- Aumentar el tiempo de inmersión, para así lograr obtener mejores valores de pH y acidez, inhibiendo mejor el desarrollo de la enzima PFO.
- Evaluar la vida útil del plátano verde mínimamente procesado con ácido cítrico y ascórbico, sobre todo con los tratamientos donde se mostró ausencia de levaduras.

BIBLIOGRAFÍA

- Artés, F., Castañer, M., & Gil, M. (2016). Pardeamiento enzimático en frutas y hortalizas mínimamente procesadas. *Tecnología de los Alimentos*, IV(6), 377–389.
- Ayala, H., García, C., Sánchez, R., Jirón, Y., & Espinoza, W. (2016). Efecto de la adición de ácido ascórbico en la degradación de nitratos y nitritos en mortadela. *UNEMI*, IX(20), 85-92.
- Bajaña, E. (2017). *Uso de tres tipos de antioxidantes para la conservación de plátano verde (Musa x paradisiaca), mínimamente procesado y empacado al vacío*. Riobamba. Recuperado el 03 de mayo de 2019, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8133/1/27T0390.pdf>
- Barrera, J., Arrazola, G., & Cayón, D. (2016). Caracterización fisicoquímica y fisiológica del proceso de maduración de plátano Hartón (musa AAB Simmonds) en dos sistemas de producción. *SciELO*, I(2), 20-29.
- Bravo, E., & Vélez, E. (2016). *Efecto de la temperatura y adición de ácido ascórbico en el pardeamiento enzimático de la pulpa de mate*. Calceta. Recuperado el 03 de mayo de 2019, de <http://repositorio.esPAM.edu.ec/bitstream/42000/265/1/TAI106.pdf>
- Castro, J., Cerquera, N., & Gutiérrez, N. (2013). Determinación del color del exocarpio como indicador de desarrollo fisiológico y madurez. *EIA*, X(2), 78-89.
- Cerda, V., Pérez, A., & Gonzáles, E. (2018). *Evaluación del efecto de ácido cítrico y ácido ascórbico en el tratamiento poscosecha de pitahaya amarilla (Hylocereus triangularis) en el cantón Palora*. Tesis doctoral, Puyo. Recuperado el 28 de diciembre de 2019, de <http://201.159.223.17/bitstream/123456789/273/1/T.AGROIN.B.UEA.2066>
- Chacón, G., Muñoz, A., & Quiñónez, G. (2017). Descripción del mercado de los snacks saludables en Villavicencio. *Revista Libre Empresa*, XIV(2), 33-45.
- CODEX STAN 192. (2018). *Norma general para los aditivos alimentarios*. Recuperado el 12 de mayo de 2019, de http://www.fao.org/gsfonline/docs/CXS_192s.pdf
- Colmenares, M., Marín, J., & Martínez, E. (2018). Evaluación de la composición proximal, almidón total y color de las harinas obtenidas de la pulpa de clones de musáceas. *CIBIA*, VII(1), 1-4.
- Condezo, L., Mohamed, A., & Arribas, S. (2015). Análisis colorimétrico de alta eficiencia y de bajo coste mediante visión. *CEA-IFAC*, II(1), 9-12.

- Dávila, R., Cortés, M., & Gil, J. (2016). Cambios físicos y fisicoquímicos durante el almacenamiento en plátano impregnado al vacío con soluciones antioxidantes. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustria*, XIV(2), 125-134.
- Díaz, A., Martínez, M., Contreras, J., & Gallardo, C. (2019). Índice Glucémico in vitro, Contenido fenólico y Actividad Antioxidante de Snacks Elaborados con Harinas de Plátano (*Musa paradisiaca*) y Yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *COInformación Tecnológica*, XXX(5), 111-120.
- Google Maps. (s.f.). *Mapa de laboratorio de Laboratorio de Análisis Químicos y Biotecnológicos de la UTM*. Portoviejo. Recuperado el 13 de agosto de 2019
- Google Maps. (s.f.). *Mapa de carrera de agroindustria ESPAM*. Calceta. Recuperado el 13 de agosto de 2019
- Jadán, F. (2016). Control del pardeamiento enzimático en manzanas cortadas (Red Delicious) mediante un sistema de envasado activo. *Enfoque UTE*, VIII(2).
- Jiménez, J. (2019). *Estudio colorimétrico de las tinciones ocasionadas por las técnicas de revascularización pulpar y su tratamiento*. Tesis doctoral, Alicante. Recuperado el 27 de diciembre de 2019, de https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/93640/1/tesis_juan_luis_jimenez_padilla.pdf
- Mejía, L. (2013). *Evaluación del comportamiento físico y químico poscosecha del plátano dominico harton (Musa AAB Simmonds) cultivado en el municipio de belalcalzar (caldas)*. Tesis doctoral, Bogotá. Recuperado el 28 de diciembre de 2019, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/9479/1/01107468.2013.pdf>
- Muñoz, A., Sáenz, A., López, L., Cantú, L., & Barajas, L. (2014). Ácido cítrico: Compuesto interesante. *Revista científica de la universidad autónoma de coahuilla*, VI(12), 18-23.
- Muñoz, C., Patiño, C., & Muñoz, E. (2018). Estudio de la cinética de deterioro de patacones prefritos congelados como alimento derivado del plátano verde (*Musa paradisiaca*). *Perfiles*, XX(2), 7-9.
- NTE INEN 1529-10. (1998). *Control microbiológico de alimentos. Mohos y levaduras viables*. Quito. Recuperado el 15 de Julio de 2019, de <https://ia801902.us.archive.org/33/items/ec.nte.1529.10.1998/ec.nte.1529.10.1998.pdf>
- NTE INEN 2801. (2013). *Norma para el banano (plátano) (codex stan 205-1997,mod)*. Recuperado el 12 de mayo de 2019, de http://181.112.149.204/buzon/normas/nte_inen_2801.pdf
- Ramos, D., Terry, E., Soto, F., Cabrera, A., Martín, G., & Fernández, L. (2016). Respuesta del cultivo del plátano a diferentes proporciones de suelo y

- bocasho, complementadas con fertilizante mineral en etapa de vivero. *Cultivos tropicales*, XXXVII(2), 165-174.
- Rodríguez, A., & Pérez, J. (2017). Métodos científicos de indagación y de construcción del conocimiento. *Revista Escuela de Administración de Negocios*, I(82), 1-26.
- Rodríguez, D., Ortega, R., & Piñeros, Y. (2018). Propiedades Físicoquímicas, Funcionales y Microbiológicas de Lechuga (*Lactuca sativa* L.) adicionada con Ácidos Orgánicos. *Información tecnológica*, 4(xxix), 21-30.
- Rodríguez, D., Ortega, R., & Piñeros, Y. (2018). Propiedades Físicoquímicas, Funcionales y Microbiológicas de Lechuga (*Lactuca sativa* L.) adicionada con Ácidos Orgánicos. *Información Tecnológica*, XXIX(4), 21-30.
- Sepúlveda, A. (2010). Efecto de inhibidores del pardeamiento enzimático en peras (*pyrus communis* L.) cv. packham's triumph mínimamente procesadas. Recuperado de http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112416/Memoria_titulo_Abigail_Sepulveda.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=%C3%81cido%20c%C3%ADtrico%3A%20su%20principal%20acci%C3%B3n,actividad%20enzim%C3%A1tica%20de%20la%20PPO.
- Silveira, A. (2017). Uso de aditivos y métodos físicos para mantener la calidad de los productos de IV gama o mínimamente procesados. *Agrociencia Uruguay*, XXI(1), 1-6.
- Valenzuela, C., & Pérez, P. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos. *Revista chilena de nutrición*, XLIII(2), 188-195.
- Villegas, B., Villa, G., Torres, J., Ospina, S., Rocha, L., & LA VERDE, J. (2015). Bananut plus: harina de banano verde enriquecida con micronutrientes. *Vitae*, XIX(1), 213-215.
- Peraza, G., Salinas, R., Brito, H., Corzo, C., Mercado, J., García, J., Osorio, R. (2020). Efecto de antioxidantes en la calidad físicoquímica y sensorial de Jícama (*Pachyrhizus erosus*) mínimamente procesada. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, XXI (1), 1-6.
- Yuoanguí, M. (2016). Métodos utilizados para evitar el pardeamiento enzimático y no enzimático en el puré de banano en la industria alimenticia. Recuperado de <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/7588>

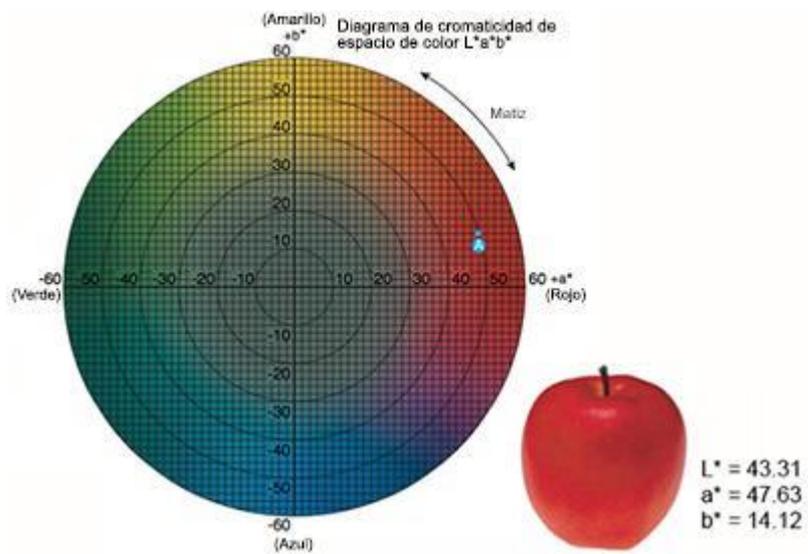
ANEXOS

ANEXO 1. GRADO DE MADUREZ DEL PLÁTANO



Fuente: (Bajaña, 2017).

ANEXO 2. PLANO CROMÁTICO



Fuente: (Bajaña, 2017)

ANEXO 3.
PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS PARA EL FACTOR A DE LA
VARIABLE PH

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de pH es la misma entre las categorías de Dosis_ácido_cítrico.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,005	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

ANEXO 4.
PRUEBA DE KRUSKAL-WALLIS PARA EL FACTOR B DE LA
VARIABLE PH

Resumen de prueba de hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de pH es la misma entre las categorías de Dosis_ácido_ascórbico.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	,734	Retener la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es ,05.

ANEXO 5.

RESULTADOS ANÁLISIS COLORIMÉTRICOS

EisAmir

Analytical Laboratory Investigation

Ciencia al Servicio del Ambiente
Av. Eloy Alfaro. Cda. Espejo



Cliente	Christopher Ponce	N° de análisis: 0133
Dirección	Calceta	Fecha de recibido
Teléfono	0996499118	10-12-2019
Muestra	Plátano mínimamente procesado para chifles	Fecha del análisis
Cantidad recibida	18	10-12-2019
Objetivo del análisis	Determinar coordenadas luminosidad (L*), posición entre rojo y verde (a*), y posición entre amarillo y azul (b*).	Fecha de reporte
		17-12-2019

RESULTADOS

TRATAMIENTOS	PRUEBAS SOLICITADAS			MÉTODO DE ENSAYO
	(LUMINOSIDAD O CLARIDAD) L*	(POSICIÓN ENTRE ROJO Y VERDE) A* CROMA	(POSICIÓN ENTRE AMARILLO Y AZUL) B*	
T1R1	57,65	3,29	15,53	FOLIN-CIOCALTEU
T1R2	44,31	31,53	42,82	
T2R1	65,88	31,53	16,47	
T2R2	58,43	10,82	3,29	
T3R1	52,94	8	22,12	
T3R2	61,57	24	9,88	
T4R1	60,39	8	12,71	
T4R2	69,41	33,41	24,94	
T5R1	60,02	32,47	24	
T5R2	61,18	11,76	10,82	
T6R1	61,18	12,71	8	
T6R2	65,88	24,94	3,29	
T7R1	54,90	3,29	24,94	
T7R2	55,69	4,24	2,47	
T8R1	61,57	13,65	2,35	
T8R2	71,76	35,29	22,12	
T9R1	69,41	36,24	30,59	
T9R1	61,18	7,06	3,29	

Gerardo Cuenca Nevárez
JEFE DE LABORATORIOS
Bioquímica / Microbiología
Bromotología

ELABORADO POR:	Fabiola Reyna	REVISADO POR:	Visiana Talledo Solórzano	APROBADO POR:	Gerardo Cuenca Nevárez	PÁGINA
FECHA	10-12-2019	FECHA	17-12-2019	FECHA	17-12-2019	1

ANEXO 6.

RESULTADOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

REPÚBLICA DEL ECUADOR



ESPAMMFL
 ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
 AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ
 Ley 2006 – 49 Suplemento R.O. 298 – 23 – 06 - 2006
 CALCETA – ECUADOR



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		Página 1 de 3	
CLIENTES:	Christopher Alexander Ponce Chica	Nº DE ANÁLISIS:	36
DIRECCIÓN:	CALCETA BARRIO LAS VEGAS	Fecha de recibido:	21/01/2020
TELEFONO:	0996499118	Fecha de análisis:	21/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	"Plátano minimamente procesado para la elaboración de chifles"	Fecha de reporte:	11/08/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	18	Fecha de muestreo:	21/01/2020
TIPO DE ENVASE:	Recipiente de plástico de 100 g de capacidad	Método de muestreo:	NTE INEN 1529-2
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Responsables del muestreo:	Investigador
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad		

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T1R1	Recuento de Mohos	UP/g	2,0x10 ¹	AOAC Método oficial 997.02
	Recuento de Levaduras	UP/g	Ausencia	
T1R2	Recuento de Mohos	UP/g	5,0x10 ¹	
	Recuento de Levaduras	UP/g	1,0x10 ¹	
T2R1	Recuento de Mohos	UP/g	2,0x10 ¹	
	Recuento de Levaduras	UP/g	Ausencia	
T2R2	Recuento de Mohos	UP/g	1,0x10 ¹	
	Recuento de Levaduras	UP/g	Ausencia	
T3R1	Recuento de Mohos	UP/g	6,0x10 ¹	
	Recuento de Levaduras	UP/g	Ausencia	
T3R2	Recuento de Mohos	UP/g	8,0x10 ¹	
	Recuento de Levaduras	UP/g	1,0x10 ¹	

Nota:

Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y, no para otros productos de la misma procedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.

