

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

“Efectos del tratamiento en aguacate (persea americana) aplicando soluciones de polímeros naturales de almidón de maíz y de yuca, con antioxidantes en la calidad durante la postcosecha a temperatura ambiente”

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIEROS DE ALIMENTOS

Presentada por:

María José Alvarado Suárez

Samuel Arturo Sánchez Ávila

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2013

AGRADECIMIENTO

A todas las personas que de uno u otro modo colaboraron en la realización de este trabajo.

En especial a la M.Sc. Sandra Acosta Directora de Tesis, por su invaluable ayuda.

DEDICATORIA

A DIOS

A MI FAMILIA

María José

DEDICATORIA

A Dios y a mi familia, por su incondicional apoyo y confianza

Samuel

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Dr. Kléber Barcia V., Ph.D.

DECANO DE LA FIMCP

PRESIDENTE

M.Sc. Sandra Acosta D.

DIRECTORA DE TESIS

M.Sc. Karín Coello O.

VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de ésta Tesis de Grado, nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

María José Alvarado Suarez

Samuel Arturo Sánchez Ávila

RESUMEN

La necesidad de prolongar el tiempo de almacenamiento postcosecha del aguacate y aliviar el daño ocasionado durante el mismo en condiciones ambientales, nos impulsa a realizar este estudio en la variedad perseá americana, la cual es importante para la producción y comercialización del aguacate en el Ecuador.

Con el desarrollo de esta técnica se espera obtener un aumento del tiempo de vida útil postcosecha, evaluando los resultados fisiológicos y físicos pre establecidos como factores de calidad siendo estos:

- Cambios de color del aguacate evaluados a través de pantones.
- Pérdidas de peso.
- Acidez.
- Sólidos solubles totales.

Mediante la aplicación de films de polímeros naturales de almidón de maíz y de yuca, con antioxidantes (metabisulfito de sodio y ácido ascórbico), mezclados mediante dos corridas experimentales usando un diseño factorial 2^k , donde k es igual a dos, ya que representa los 2 factores involucrados en cada corrida, que son 2 antioxidantes y luego se aplica lo mismo para el otro polímero natural maíz, de manera que se pueda evaluar los factores de calidad de cada polímero y cual antioxidante presenta mejores condiciones para comercialización y de agrado para el consumidor. Finalmente se aplicarán pruebas hedónicas de aceptación – rechazo para la evaluación sensorial realizada por consumidores habituales quienes darán la aprobación o rechazo a la calidad sensorial del producto final.

De manera que podamos comprobar si este ensayo puede ayudar de manera efectiva para lograr prolongar los tiempos de almacenamiento en supermercados y autoservicios sin que los frutos presenten daños por afecciones de plagas ni enfermedades propias de este tipo de alimento, de manera que económicamente sea rentable para el fabricante, el comercializador y el consumidor.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	I
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS	VI
SIMBOLOGÍA.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
1. CAPÍTULO 1.....	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. Objetivos generales	1
1.2. Objetivos específicos	1
1.3. Justificación del tema.....	2
1.4. Aguacate (Persea americana Mill)	4
1.4.1. Situación de Comercialización actual en el Ecuador	11
1.4.2. Modo de conservación post cosecha	15
1.5. Cubiertas de polímeros	19
1.6. Antioxidantes.....	19
2. CAPÍTULO 2.....	22
2. CARACTERIZACIÓN DE MATERIAS PRIMAS	22
2.1. Aguacate: Variedad Hass.....	22

2.1.1.	Características fisicoquímicas	25
2.1.2.	Composición nutricional	26
2.2.	Almidones	27
2.2.1.	Yuca.....	27
2.2.2.	Producción y caracterización	28
2.2.3.	Usos y aplicaciones	34
2.2.4.	Maíz	36
2.2.5.	Producción y caracterización	37
2.2.6.	Usos y aplicaciones	41
2.3.	Antioxidantes	42
2.3.1.	Ácido ascórbico.....	42
2.3.1.1.	Usos y aplicaciones	44
2.3.2.	Metabisulfito de Sodio.....	45
2.3.2.1.	Usos y aplicaciones	48
CAPÍTULO 3.....		50
3.	PRUEBAS EXPERIMENTALES.....	50
3.1.	Equipos y reactivos	50
3.2.	Procedimiento	51
3.2.1.	Formulación de soluciones.....	56
3.2.2.	Almidón de yuca - ácido ascórbico - metabisulfito de sodio.....	56
3.2.3.	Almidón de maíz - ácido ascórbico - metabisulfito de sodio.....	57
3.3.	Diseño de experimentos.....	57

3.3.1.	Variables fijas	57
3.3.2.	Variables independientes y dependientes.....	58
3.3.3.	Corridas experimentales.....	59
4.	CAPÍTULO 4.....	61
4.	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	61
4.1.	Características físico-químicas.....	61
4.1.1.	Humedad	61
4.1.2.	Sólidos Solubles (°BRIX).....	61
4.1.3.	Acidez	62
4.1.4.	Colorimetría	62
4.2.	Características microbiológicas.....	83
4.2.1.	Identificación de género de hongos	84
4.3.	Validación estadística del diseño experimental	84
	CAPÍTULO 5.....	88
5.	VALORACIÓN SENSORIAL	87
5.1.	Descripción del método.....	88
5.2.	Hoja de respuestas	91
5.3.	Resultados de la evaluación sensorial	92
6.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	94

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ABREVIATURAS

JECFA	The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives
CORPEI	Corporación de Promoción de Exportaciones e Importaciones
FOB	Free on board
CMYK	Cyan, Magenta, Yellow, Black
mg	miligramos
Kcal	kilocalorías
°C	grados Centígrados
g	gramos
kg	kilogramos
m ²	metros cuadrados
n	Número de observaciones
Ha	Hectáreas
PFO	Polifenoloxidasa
S	solución
et. al.	Y otros

SIMBOLOGÍA

T_i Temperatura inicial

T_p Temperatura promedio

T_f Temperatura final

% Porcentaje

> Mayor que

< Menor que

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Estados de maduración.....	7
Figura 2. Muestra patrón del color de la pulpa del aguacate.....	9
Figura 3. Pesos en gramos por calibre de aguacates.....	10
Figura 4. Destinos de las exportaciones ecuatorianas de aguacate.....	13

CAPÍTULO 2

Figura 1. Caracterización de almidón de yuca.....	33
Figura 2. Caracterización de almidón de maíz.....	40

CAPÍTULO 3

Figura 1. Caracterización del aguacate variedad Hass.....	51
Figura 2. Baño de aguacate en solución.....	55

CAPÍTULO 4

Figura 1. Pantone PANTONE PLUS SERIES CMYK.....	62
Figura 2. Pérdida de peso Patrón.....	64
Figura 3. Pérdida de peso Solución 1.....	65
Figura 4. Pérdida de peso Solución 2.....	66

Figura 5. Pérdida de peso Solución 3.....	67
Figura 6. Pérdida de peso Solución 4.....	68
Figura 7. Pérdida de peso Solución 5.....	69
Figura 8. Pérdida de peso Solución 6.....	70
Figura 9. Pérdida de peso Solución 7.....	71
Figura 10. Pérdida de peso Solución 8.....	72
Figura 11. Sólidos solubles.....	76
Figura 12. Acidez.....	77
Figura 13. Color de la pulpa patrón en la pantonera	78
Figura 14. Colores de las pulpas a los 5 días de almacenamiento.....	79

CAPÍTULO 5

Figura 1. Hoja de respuestas.....	91
Figura 2. Resultados de la evaluación sensorial.....	92

ÍNDICE DE TABLAS

CAPÍTULO 1

Tabla 1 Composición química y valor calórico en 100g de pulpa de aguacate.....	4
Tabla 2. Minerales en 100g de pulpa de aguacate.....	5
Tabla 3. Valor vitamínico y aporte nutricional en 100g de pulpa de aguacate.....	6
Tabla 4. Peso por calibre de aguacate.....	10
Tabla 5. Exportaciones Ecuatorianas del aguacate.....	11
Tabla 6. Principales mercados del aguacate.....	13
Tabla 7. Propiedades del Ácido Ascórbico.....	20
Tabla 8. Propiedades del Metabisulfito de sodio.....	21

CAPÍTULO 2

Tabla 1. Comparación del aguacate entre variedades.....	23
Tabla 2. Composición del aguacate variedad Hass.....	25
Tabla 3. Composición nutricional aguacate crudo variedad Hass.....	27
Tabla 4. Superficie sembrada de yuca por provincias.....	30
Tabla 5. Propiedades del almidón de yuca.....	33

Tabla 6. Superficie sembrada de maíz por provincias.....	38
Tabla 7. Propiedades del almidón de maíz.....	41
Tabla 8. Propiedades del Ácido Ascórbico.....	44
Tabla 9. Composición del Metabisulfito de Sodio.....	46
Tabla 10. Propiedades del Metabisulfito de Sodio.....	47

CAPÍTULO 3

Tabla 1. Equipos y reactivos.....	50
Tabla 2. Tabla de criterios.....	52
Tabla 3. Tabla de resultados.....	53
Tabla 4. Resultados.....	54
Tabla 5. Soluciones de yuca al 10%.....	56
Tabla 6. Soluciones de maíz al 10%.....	57
Tabla 7. Variables fijas.....	58
Tabla 8. Antioxidantes.....	58
Tabla 9. Corridas experimentales.....	59
Tabla 10. Tabla de resultados.....	60

CAPÍTULO 4

Tabla 1. Pérdida de peso Patrón.....	61
Tabla 2. Pérdida de peso Solución 1.....	62
Tabla 3. Pérdida de peso Solución 2.....	63
Tabla 4. Pérdida de peso Solución 3.....	64
Tabla 5. Pérdida de peso Solución 4.....	65
Tabla 6. Pérdida de peso Solución 5.....	66
Tabla 7. Pérdida de peso Solución 6.....	67
Tabla 8. Pérdida de peso Solución 7.....	68
Tabla 9. Pérdida de peso Solución 8.....	69
Tabla 10. Sólidos Solubles.....	73
Tabla 11. Acidez.....	75
Tabla 12. Características microbiológicas.....	82

CAPÍTULO 5

Tabla 1. Resultados de la evaluación sensorial.....	90
---	----

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Objetivos generales

Determinar los efectos de la aplicación de antioxidantes usando como vehículos films de polímeros naturales y determinar el comportamiento fisiológico, microbiológico y sensorial del aguacate frente a condiciones de almacenamiento en temperatura ambiente.

1.2. Objetivos específicos

- Determinar mejoras en la calidad y la extensión de vida útil del aguacate durante el almacenamiento en temperatura de ambiente.

- Evaluar los resultados fisiológicos cómo el color y sabor de la carne, pérdida de peso, disminución de acidez y sólidos solubles totales durante el tiempo de vida útil.
- Utilización de polímeros naturales abundantes y a bajos costos siguiendo las tendencias del mercado. Se usará uno de origen cereal y el otro un tubérculo como son el maíz y la yuca respectivamente, y estos con aditivos con acción antioxidante que son el ácido ascórbico y el metabisulfito de sodio.
- Aplicación de tablas hedónicas de aceptación – rechazo para la evaluación sensorial en consumidores y la aceptación de la técnica aplicada en aguacate.

1.3. Justificación del tema

En respuesta a la necesidad de prolongar el tiempo de almacenamiento postcosecha del aguacate y aliviar el daño ocasionado durante el mismo en condiciones ambientales, se realiza este estudio en la persea americana variedad Hass.

Se estima que en el país existen alrededor de 7.000 hectáreas de aguacate, de las cuales 500 hectáreas se encuentran sembradas con la variedad Hass para la producción y comercialización del aguacate.

En los últimos 5 años el Ecuador exportó 34.352 toneladas de la fruta, con un ingreso de USD 2,3 millones, según cifras del Banco Central del Ecuador (BCE).

De ese total el 93% salió a Colombia, 6% a España y la diferencia en proporciones mínimas a EE.UU., Antillas Holandesas, Canadá, Holanda, Hong Kong y Corea del Sur. Los estudios del Iniap se han centrado en la variedad Hass, calificado para la exportación, y la variedad Fuerte o Guatemalteco, para el consumo local.

Mediante la aplicación de films de polímeros naturales y la aplicación de los antioxidantes se espera obtener un aumento del tiempo de vida útil postcosecha, y de esta manera lograr prolongar los tiempos de almacenamiento en supermercados y autoservicios sin que los frutos presenten daños por afecciones de plagas ni enfermedades propias de este tipo de alimento.

1.4. Aguacate (*Persea americana* Mill)

Originario de México y Perú e introducido por los españoles. Pertenecen a la familia de las Lauráceas. Es un fruto muy atractivo y energético, casi una mantequilla vegetal, rico vitamina E a la que se le asigna un papel activo en retrasar los procesos de envejecimiento.

Los aguacates son un alimento perfecto como sustituto natural vegetariano de las proteínas contenidas en carne, huevos, queso y aves de corral. Las propiedades de los aguacates son muy beneficiosas para la salud: contienen los ácidos grasos esenciales y proteínas de alta calidad que se digieren fácilmente sin contribuir negativamente en el colesterol.

Macro nutrientes:

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR CALÓRICO EN 100g DE PULPA DE AGUACATE						
FUENTE	CALORÍAS [cal]	H. de C. [g]	PROTEÍNAS [g]	ACEITE [g]	AGUA [g]	FIBRA [g]
I.N.N. 81	72	2.9	1.2	6.1	86	0.7
I.N.C.A.P.	154	4.4	1.7	15.8	77	1.8
Handbook 8	167	6.3	2.1	16.4	74	1.6
A.B. 8 § 9	159	7.6	1.7	15.3	74	1.4
FRANCO 5	162	6.4	1.8	16.0	No reporta	1.4
P.N. (6)	177	6.9	2.0	17.3	73	2.1
SOUCI (7)	266	7.4	1.6	21.2	65	2.0
Valor prom.	160	5.9	1.7	15.4	75	1.6

Tabla N° 1. Actas V Congreso Mundial del Aguacate. México 2003. Página 746.

Micro nutrientes:

MINERALES EN 100 g DE PULPA DE AGUACATE			
MINERALES	CONTENIDO [mg]	NECESIDADES DIARIAS [mg]	NECESIDAD CUBIERTAS [%]
CALCIO	10.00	800.0	1.25
HIERRO	1.06	15.0	7.06
FÓSFORO	40.00	800.0	5.00
COBRE	0.35	1.7	20.58
MAGNESIO	41.00	300.0	13.66
MANGANESO	2.30	3.5	65.71
SODIO	4.00	3450.0	0.12
POTASIO	463.00	4900.0	0.12

Tabla N° 2. Actas V Congreso Mundial del Aguacate. México 2003. Página 747.

VALOR VITAMÍNICO Y APOORTE NUTRICIONAL EN 100 g DE PULPA DE AGUACATE			
VITAMINAS	CONTENIDO [mg]	RDA [mg]	RDA CUBIERTAS [%]
A	85.00	900.0	9.4
D	10.00	5.0	200.0
E	3.00	9.0	33.0
K	8.00	110.0	7.3
B1	0.11	1.4	7.8
B2	0.20	1.6	12.5
B6	0.45	2.1	21.4
NIACINA	1.60	16.0	10.0
AC. PANTOTÉNICO	1.00	5.5	18.0
BIOTINA	10.00	100.0	10.0
ÁCIDO FÓLICO	32.00	200.0	16.0
C	14.00	60.0	23.3

Tabla N° 3. Actas V Congreso Mundial del Aguacate. México 2003. Página 747.

En la tabla, podemos observar la presencia en la pulpa de aguacate de prácticamente todas las vitaminas, tanto Liposolubles como Hidrosolubles, cubriendo un buen porcentaje de las RDA (recommended daily allowances, cantidades diarias recomendadas).

Estados de maduración

El fruto del aguacate es una baya que adopta diferentes formas, puede ser: ovalado, piriforme, redondo, elipsoidal, etc. El color de su piel cuando está maduro también adopta una amplia diversidad cromática en función de su variedad, pudiéndose encontrar aguacates de color verde variando desde claro hasta oscuro, amarillentos, de tonos rojizos, morados, marrón oscuro y negros.



Gráfico N° 1. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

- El producto se encuentra muy duro y en color verde claro.
- El producto se encuentra duro y en un color verde oscuro, si se mantiene a temperatura ambiente el producto estará listo para su consumo en aproximadamente 3 días.
- El producto se encuentra aún duro y el color se oscurece por lo cual ya no se encuentran fácilmente los tonos verdes, si se mantiene a temperatura ambiente el producto estará listo para su consumo en aproximadamente 2 días.
- El producto se encuentra menos duro pero aún con cierta firmeza y el color es oscuro.
- El producto se encuentra suave al tacto y de color negro lo cual indica que está en su punto de maduración adecuado y listo para su consumo.
- Así mismo, la coloración de la pulpa del aguacate se puede transformar desde un tono marfil, hasta los amarillentos claros y oscuros o los matices verdosos.



Gráfica N° 2. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

Por último, existen un amplio abanico de tamaños y pesos comerciales que varían en función de su especie, y que pueden oscilar desde algo menos de 100 gramos hasta más de 2 kg. El gráfico a continuación explica el peso en gramos de los calibres comerciales del aguacate.



Gráfico N° 3. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

CALIBRE	PESO MÍNIMO [g]	PESO MÁXIMO [g]
28	389,81	446,51
32	333,11	396,9
36	297,67	354,37
40	271,87	326,02
48	212,62	269,32
60	177,18	212,62
70	134,66	177,18
84	106,31	134,66

Tabla N° 4. Norma del CODEX para el aguacate (codex stan 197), 1.995.

1.4.1. Situación de Comercialización actual en el Ecuador

Nuestro país considerado por muchos uno de los más ricos países a nivel mundial en flora, fauna y productos agrícolas.

Últimamente se ha registrado un aumento en la demanda internacional del aguacate ecuatoriano, ya sea por su sabor, textura o las propiedades nutricionales de este producto, que han cautivado a innumerables consumidores de varios países que lo han adoptado. Entre estos se encuentran Colombia, Francia, Rusia, entre otros. Este fruto lleva conquistando paladares de todo el mundo desde hace 500 años.

EXPORTACIONES ECUATORIANAS DEL AGUACATE				
AÑO	VALOR FOB (MILES USD)	TONELADAS	VARIACIÓN FOB	VARIACIÓN TONELADAS
2004	324	5340	-	-
2005	304	4951	-6.14	-7.28
2006	436	6808	43.26	37.51
2007	334	3805	-23.21	-44.11
2008	365	4809	9.27	26.37

Tabla N° 5. CORPEI, Centro de inteligencia e información comercial CICO, 2009.

Ecuador ha exportado USD 1.8 millones en el periodo 2004-2008, con un crecimiento promedio anual del 5.8%. Dentro de este periodo, el año de mayores exportaciones fue el 2006, con USD 436 mil exportados, ese año se registro un crecimiento del 43.3% respecto del año anterior. Para el año 2008, las exportaciones ascendieron a USD 365 mil, USD 31 mil más que en el 2007, que fue el año de mayor decrecimiento (23.2%).

En cuanto a cantidades, Ecuador ha exportado un total de 25.7 mil toneladas en el periodo 2004-2008, siendo el año 2006, nuevamente, el de mayor cantidad exportada (6.8 mil). Durante este periodo, el crecimiento promedio anual en cantidades fue del 3.12%, inferior al crecimiento en valores, lo que supone un aumento de los valores referenciales de exportación de este producto.

PRINCIPALES MERCADOS DEL AGUACATE					
PAÍS	miles USD				
	2004	2005	2006	2007	2008
Colombia	323.90	290.15	432.43	257.28	298.51
España	0.00	0.03	0.01	77.04	66.00
Antillas Holandesas	0.00	0.00	0.00	0.11	0.66
Alemania	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Italia	0.01	0.22	0.00	0.00	0.00
Estados Unidos	0.00	13.60	3.08	0.00	0.00
TOTAL GENERAL	323.91	304.00	435.52	334.43	364.57

Tabla N° 6. CORPEI, Centro de inteligencia e información comercial CICO, 2009.

Destinos de las exportaciones ecuatorianas de aguacate

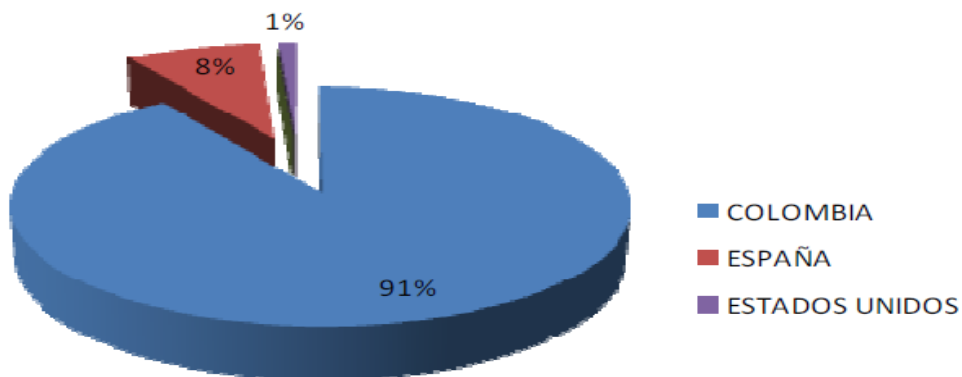


Gráfico N° 4. CORPEI, Centro de inteligencia e información comercial CICO, 2009.

El principal destino de las exportaciones ecuatorianas es Colombia, que representa un 90,7% de las exportaciones de aguacate ecuatoriana hacia el mundo, el año de mayores exportaciones a este mercado coincide con el año de mayores exportaciones totales ecuatorianas (2006) habiendo exportado USD 432 mil a este mercado, para el 2008 se exportaron USD 134 mil menos que en el 2006, aunque los USD 298.5 mil exportados significaron una recuperación y un crecimiento (16%) respecto del 2008, que fue el de menores exportaciones hacia el mercado colombiano en los últimos 5 años.

Los otros mercados de cierta relevancia para Ecuador han sido España y Estados Unidos, que representaron el 8% y 1% de las exportaciones ecuatorianas en el periodo 2004-2008, respectivamente, mientras a España se exportó un total de USD 143.8 mil en esos años, a Estados Unidos se exportaron USD 16.7 mil.

1.4.2. Modo de conservación post cosecha

El aguacate es cosechado manualmente. Los frutos de las partes bajas de los árboles son cortados utilizando tijeras y depositados en bolsas de cosecha. A través de los años se han usado diversas metodologías para retardar la maduración y conservar el fruto o la pulpa. Entre estos métodos constan: refrigeración, atmósferas controladas, aplicación de cera y reducción de presión. La combinación de tratamientos térmicos y almacenamiento en frío también ha sido probada. La combinación de alta actividad metabólica y susceptibilidad al daño por frío son factores de cuidado para la selección de método.

El aguacate por desarrollarse en zonas tropicales, cálidas de todo el mundo está expuesto al desarrollo de diferentes plagas y enfermedades; el agricultor determinará con que insecticidas y plaguicidas puede combatir.

Enfermedades

- **Pudrición de la raíz o marchitez del aguacate: *Phytophthora cinnamomi* Rands.**

Esta enfermedad se presenta en cualquier estado de desarrollo de la planta. Los síntomas se inician con un amarillamiento de las hojas el cual puede desaparecer por un tiempo para luego resurgir de forma más pronunciada. Las nuevas hojas que brotan son más pequeñas o acucharadas de color verde claro.

Al evolucionar la enfermedad el árbol muestra marchitez y pérdida del follaje, generalmente no produce nuevos brotes y hay muerte descendente de ramas. Las raíces presentan coloración oscura y son quebradizas, y la producción de frutos disminuye, tanto en cantidad como en tamaño, hasta desaparecer totalmente.

La humedad del suelo es el factor ambiental primario que influye en el desarrollo de esta enfermedad; por lo tanto, se recomienda hacer las plantaciones en terrenos bien drenados o hacer drenajes artificiales con el fin de evitar estancamientos de agua.

Aunque los tratamientos con fungicidas a los árboles enfermos no han dado resultados satisfactorios contra la enfermedad, se ha obtenido un buen combate con los tratamientos con fungicidas clorotalonil, mancozeb, metalaxyl, tanto al suelo como el follaje.

- **Mancha negra o cercospora: *Cercospora purpura* Cooke**

Ataca las hojas y produce lesiones pequeñas color café oscuro. Cuando el ataque es severo causa su caída quedando los árboles defoliados. En los frutos produce lesiones pequeñas, oscuras, de bordes irregulares y el resquebramiento de la corteza. Tanto las lesiones en las hojas como en el fruto son puerta de entrada para otros organismos como *Colletotrichum*.

Para su combate se recomiendan aspersiones con fungicidas a base de cobre, como hidróxido de cobre (Kocide 101), oxiclورو de cobre (Cupravit, Cobox, Vitigram) o sulfato de cobre, ya sea solos o mezclados con otros como clorotalonil, benomyl, etc.

- **Polvillo o mildiu: *Oidium* sp.**

La enfermedad se presenta principalmente en épocas de poca lluvia. Inicialmente se manifiesta por la presencia de un polvillo blanco o grisáceo sobre las hojas y racimos de flores principalmente tiernas. Las hojas afectadas se deforman o corrugan y posteriormente aparecen en ellas manchas irregulares color negro grisáceo.

La enfermedad produce quema y caída de gran cantidad de flores y frutos pequeños. Algunas lesiones en hojas y frutos se convierten en puerta de entrada para otros organismos.

Para el combate se recomienda el uso de dinocap (Karathane, 230-460 g/378 l), también se pueden usar preparados a base de azufre, usados de acuerdo a las recomendaciones dadas para cada uno de ellos.

- **Mancha negra o antracnosis: Colletotrichum gloesporioides**

Esta enfermedad es bastante corriente en aguacate. Penetra por lesiones viejas causadas por cercospora o mildiu, tanto en las hojas como en los frutos. Ataca a los frutos cuando casi están para cosechar y produce reventaduras en su cáscara.

El combate recomendado para cercospora es apropiado contra esta enfermedad.

1.5. Cubiertas de polímeros

Para efectos del desarrollo de este experimento, se aplicó una cubierta de polímeros naturales, se utilizó almidones de maíz y yuca, ambos en una concentración del 10%.

1.6. Antioxidantes

Los antioxidantes son aditivos alimentarios que prolongan la vida en almacén de los alimentos protegiéndolos del deterioro ocasionado por la oxidación, estos son:

- Antioxidantes
- Antipardeamiento
- Sinérgicos de antioxidantes
- Para el desarrollo de este estudio se utilizaron dos antioxidantes: Metabisulfito de Sodio y Ácido Ascórbico.

Nombre del producto:	Ácido Ascórbico
Nomenclatura:	E 300
Nombre del Químico:	Vitamina C, Acido L-xiloascórbico, Acido 3-oxo-L-gulofuranolactona (forma enólica).
Fórmula Química:	$C_6H_8O_6$
Aspecto:	Polvo o cristales de color blanco a amarillento, de fluidez libre.
Usos en la industria alimenticia:	Como aditivo (preservativo), antioxidante.
Concentración utilizada en el experimento:	0,25% y 0,5%.

Tabla N° 7. Determinación del ácido ascórbico en zumos de frutas. Esther Agramunt, Montserrat Pujolà, Patricia Jiménez, 1994.

Nombre del producto:	Metabisulfito de Sodio.
Nomenclatura:	E 223
Nombre Químico:	Bisulfito de sodio en polvo, Bisulfito seco, Pirosulfito de Sodio.
Fórmula Química:	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$
Aspecto:	Pequeños cristales blancos, aciculares de fluidez libre.
Usos en la industria alimenticia:	Como aditivo (preservativo), antioxidante, bacteriostático.
Concentración utilizada en el experimento:	0,25% y 0,5%.

Tabla N° 8. Aditivos Alimentarios, Nuria Cubero, Albert Monferrer, Jordi Villalta, 2003.

CAPÍTULO 2

2. CARACTERIZACIÓN DE MATERIAS PRIMAS

2.1. Aguacate: Variedad Hass

Actualmente, la variedad Hass es la más extendida entre todos los países productores de aguacate, lo que añadido a sus inmejorables cualidades, convierten a esta especie en la más conocida por el gran público.

La apariencia del fruto es oval asimétrica, con una piel resistente y rugosa, de color, entre violáceo y café cuando está en su punto de maduración.

El fruto de Hass, es de un tamaño intermedio comparado con otras variedades de aguacate, presentando un peso medio comprendido entre los 180 y los 300 gramos.

Destaca por la excelente calidad de su pulpa, de color ligeramente amarillento y un exquisito sabor que recuerda los frutos secos como nuez y almendra.

- **Comparación con otras variedades**

VARIEDAD	LONGITUD [mm]	DIÁMETRO [mm]	RELACIÓN [L/D]	FORMA	PESO [g]	CÁSCARA [mm]
Hass	88.6	66.4	1.3	Ovoide	197.0	1.45
Fuerte	119.5	76.2	1.6	Piriforme	334.1	0.84
Booth 8	106.6	84.9	1.3	Ovoide	387.4	1.41
Trinidad	99.4	90.1	1.1	Esférico	410.2	0.72
Lorena	128.9	94.5	1.5	Piriforme	457.6	0.85
Trapp	137.4	94.5	1.5	Piriforme	552.2	1.11
Choquette	130.5	99.2	1,3	Ovoide	662.4	1.53
Santana	159.7	97.1	1.6	Piriforme	683.4	1.41

Tabla N° 1. Rojas et al., 2004.

- **Microorganismos**

Los microorganismos aislados fueron identificados como *Colletrotrichum* sp., *Cercospora* sp., *Fusarium* sp., y *Phytosphthora* sp. El *Colletrotrichum* sp. es el causante de la antracnosis; esta enfermedad es bastante corriente en aguacate. El aspecto colonial es de anillos color naranja o salmón, con espículas oscuras entre conidióforos; conidias ovoides ligeramente curvadas. La *Phytophthora* sp. provoca la pudrición de la raíz o marchitez del aguacate.

La Mancha negra es producida por la *Cercospora* sp., y *Fusarium* sp. se presenta como un amarillamiento de las hojas posteriormente se observa una defoliación y el árbol termina por morir.

2.1.1. Características fisicoquímicas

La porción comestible del aguacate está constituida principalmente por grasas, proteínas, carbohidratos y minerales, en concentraciones que varían dependiendo de la raza, variedad, localización y del estado fisiológico del fruto.

COMPOSICIÓN	VARIEDAD HASS
PESO [g]	200.00
PORCIÓN COMESTIBLE [g/100g]	75.00
HUMEDAD [g/100g]	68.40
PROTEÍNA [g/100g]	1.80
GRASA [g/100g]	20.00
CARBOHIDRATOS [g/100g]	7.80
CENIZAS [g/100g]	1.20

Tabla N° 2. Norma del CODEX para el aguacate (codex stan 197), 1.995.

2.1.2. Composición nutricional

La importancia alimenticia del aguacate se debe a que posee hasta 1,8% de proteínas y un alto contenido de lípidos, en donde los ácidos predominantes son el oleico, linoleico y palmítico.

La relación de ácidos grasos insaturados a saturados es alta (entre 6 y 8) por lo que comparado con otros frutos es de fácil digestión y rápida asimilación.

En su valor nutritivo se considera su alto contenido en vitaminas tales como la tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina y ácido pantoténico así como la presencia de minerales de interés nutricional como el fósforo, hierro y potasio. La importancia alimenticia del aguacate se debe a que posee un gran número de componentes nutricionales que aportan beneficios al ser humano.

COMPOSICIÓN NUTRICIONAL			
AGUACATE CRUDO VARIEDAD HASS POR CADA 100 g			
AGUA [g]	74.27	HIERRO [mg]	0.40
ENERGÍA [Kcal]	161.00	ZINC [mg]	1.00
GRASA [g]	15.32	VITAMINA. C [mg]	7.80
PROTEÍNA [g]	1.98	VITAMINA. B1 [mg]	0.108
HIDRATOS DE CARBONO [g]	7.39	VITAMINA. B2 [mg]	0.122
FIBRA [g]	5.00	VITAMINA. B6 [mg]	0.280
POTASIO [mg]	600.00	VITAMINA. A [UI]	61.00
SODIO [mg]	10.00	VITAMINA. E [mg]	1340.00
FÓSFORO [mg]	41.00	FOLACINA [mcg]	626
CALCIO [mg]	11.00	NIACINA [mg]	1921.00
MAGNESIO [mg]	39.00	GLUTATION [mg]	27.7
COBRE [mg]	0.26	LUTEÍNA [µg]	284.00

Tabla N° 3. Nuevas tecnologías en el cultivo del aguacate, Sánchez - Colín, S. 1989.

2.2. Almidones

2.2.1. Yuca

La yuca o mandioca es un cultivo humilde pero muy generoso en nutrientes. Este tubérculo procedente de un arbusto, presenta una carne de color blanco, recubierto por una corteza de color pardo o marrón oscuro y de aspecto leñoso.

El arbusto, cuyo nombre científico es *Manihot Esculenta*, mide unos 2 metros de alto y posee una gran tolerancia a los suelos pobres y a la sequía.

La planta requiere de pocos fertilizantes, plaguicidas y agua, lo cual es una ventaja para los agricultores de bajos ingresos.

Por otro lado, se caracteriza por su alta capacidad de recuperación a las plagas y enfermedades y por su adaptación a diversos ecosistemas.

2.2.2. Producción y caracterización

La yuca es un cultivo que puede cosecharse en cualquier momento de los 8 a los 24 meses después de plantarla, por lo que puede quedarse en la tierra como defensa contra una escasez de alimentos inesperada.

Se la cultiva principalmente en las llanuras tropicales y en las estribaciones exteriores de la cordillera; sin embargo los cultivos están localizados en todas las provincias del país incluido Galápagos. Las provincias de mayor producción son Manabí, Cotopaxi, Pichincha, Los Ríos y Esmeraldas.

El cultivo de la yuca es tradicional en Manabí, siendo la provincia que acusa la mayor superficie sembrada en el Ecuador, por cuanto constituye un producto básico para la alimentación campesina de escasos recursos.

- Superficie sembrada por provincias

PROVINCIAS	SUPERFICIE SEMBRADA [Ha]
Azuay	63.00
Bolívar	88.00
Cañar	87.00
Carchi	36.00
Chimborazo	83.00
Cotopaxi	1278.00
El Oro	160.00
El Piedrero	-
Esmeraldas	705.00
Galápagos	34.00
Guayas	291.00
Imbabura	291.01
La Concordia	109.00
Las Golondrinas	5.00
Loja	1349.00
Los Ríos	1463.00
Manabí	1678.00
Manga de Cura	13.00
Morona Santiago	2328.00
Napo	1179.00
Orellana	826.00
Pastaza	425.00
Pichincha	3189.00
Sucumbíos	369.00
Tungurahua	2.00
Zamora Chinchipe	1196.00

Tabla N° 4. INIAP, 5 de septiembre del 2005.

- **Breve proceso de elaboración del almidón**

Las raíces recogidas deben entregarse a la fábrica en menos de 48 horas para evitar que se descompongan. Una vez lavadas y peladas las raíces, se rallan para que liberen los gránulos de almidón. A continuación se separa de la pulpa el líquido que contiene los gránulos en suspensión, después de lo cual éstos se extraen del agua por sedimentación o con una centrífuga. A continuación, el almidón se seca al sol o mecánicamente para eliminar la humedad, antes de molerlo, colarlo y envasarlo.

- **Industria Alimenticia y Farmacéutica**

El almidón natural (llamado también almidón nativo, dulce o industrial), puede modificarse por medios físicos y se convierte en almidón pregelatinizado (almidón-PG). Este almidón tiene la propiedad de que se dispersa en agua sin necesidad de someterlo a cocción.

Se usa como aditivo para espesar y estabilizar. El almidón nativo puede modificarse también por medios químicos, el producto resultante se utiliza como espesante, estabilizante y emulsificante. El almidón fermentado (agrio) también se utiliza para elaborar productos alimenticios como el pan de yuca.

- **Industria del Papel, Textil y Química**

El almidón nativo usado en estas industrias se denomina almidón no modificado (almidón-NM). El tratamiento que recibe este producto comprende de tres operaciones: el refinado (o tamizado), la purificación (operación estrictamente industrial), y el secado.

- **Caracterización**

La solubilidad del almidón de yuca aumenta conforme se incrementa la temperatura a la que se somete.

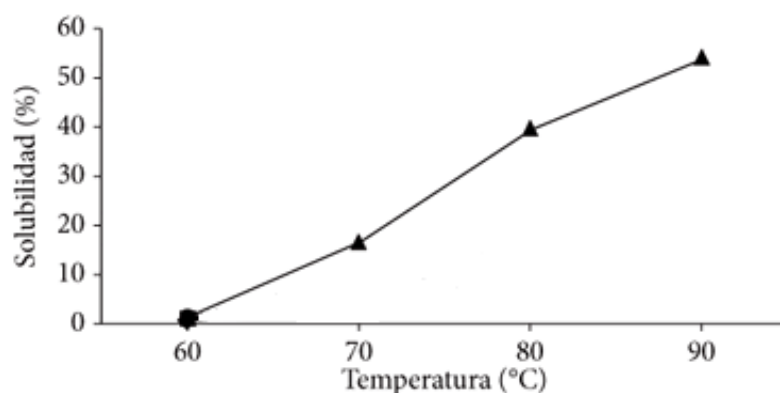


Gráfico N° 1. Memorias del Curso: Actualización en Química y Nutrición del Almidón. Yautepec, Morelos: Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional (CEPROBI-IPN), 2001.

TEMPERATURA [°C]			ENTALPÍA DE GELATINIZACIÓN [J.g ⁻¹]	PODER DE HINCHAMIENTO [g agua.g ⁻¹ almidón a 90°C]	PODER DE HINCHAMIENTO [g agua.g ⁻¹ almidón]
Ti	Tp	Tf			
50.68	54 - 78	60 - 100	40 - 22	58.83	27.18

Tabla N° 5. Memorias del Curso: Actualización en Química y Nutrición del Almidón. Yautepec, Morelos: Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional (CEPROBI-IPN), 2001.

2.2.3. Usos y aplicaciones

El almidón de yuca es la sustancia amilácea obtenida de las raíces del *Manihot Esculenta*, que se presenta al microscopio en forma de glóbulos sencillos y compuestos, cilíndricos, y con núcleo próximo al extremo curvado. El tamaño de cada glóbulo es de 0,007 a 0,03 mm.

El almidón de yuca es un polvo blanco, fino, insoluble en agua fría y en solventes orgánicos. Por la acción del agua fría aumenta el volumen y con el agua caliente a 75°C da una suspensión que por enfriamiento y en concentraciones adecuadas produce engrudo.

En la industria de alimentos el almidón de yuca que se utiliza es el almidón natural (llamado también almidón nativo, dulce o industrial) se usa, solo o mezclado, en la elaboración de macarrones y de diversas harinas; con éstas se preparan pudines, pasteles, galletas, obleas, bizcochos, cremas, helados, sopas, ensaladas, embutidos y otros productos alimenticios.

El almidón nativo puede modificarse por medios físicos y se convierte en almidón pregelatinizado (almidón PG). Este almidón tiene la propiedad de que se dispersa en agua sin necesidad de someterlo a cocción.

Se usa como aditivo para espesar, estabilizar o recubrir tortas de frutas, mezclas secas, pudines, crema de leche. La adición del almidón-PG mejora la textura y la apariencia de estos productos y de otros similares.

El almidón nativo puede modificarse también por medios químicos. El producto resultante se utiliza en la industria alimenticia como espesante de salsas blancas, y para estabilizar y emulsificar aderezos para ensaladas, gelatinas nutritivas, postres instantáneos, helados, pudines y alimentos para bebé. Según la modificación que se le haga, el almidón modificado se usa en la industria del papel, de los adhesivos, entre otras.

2.2.4. Maíz

El maíz cuyo nombre científico es *Zea Mays* es una planta monoica; sus inflorescencias masculinas y femeninas se encuentran en la misma planta. Si bien la planta es anual, su rápido crecimiento le permite alcanzar hasta los 2,5 m de altura, con un tallo erguido, rígido y sólido.

El tallo está compuesto a su vez por tres capas: una epidermis exterior, impermeable y transparente, una pared por donde circulan las sustancias alimenticias y una médula de tejido esponjoso y blanco donde almacena reservas alimenticias, en especial azúcares.

Las hojas toman una forma alargada íntimamente arrollada al tallo, del cual nacen las espigas o mazorcas. Cada mazorca consiste en un tronco que está cubierta por filas de granos, la parte comestible de la planta, cuyo número puede variar entre ocho y treinta.

En apariencia el grueso recubrimiento de brácteas de su mazorca, la forma en que los granos se encuentran dispuestos y están sólidamente sujetos, impedirían que la planta pueda hacer germinar sus granos.

2.2.5. Producción y caracterización

En el Ecuador hay una gran variedad de razas de maíz, adaptadas a distintas altitudes, tipos de suelos y ecosistemas. De acuerdo a una clasificación oficial existen 25 razas de maíz ecuatoriano. El 18% de las colecciones de maíz del Centro Internacional de Mejoramiento de maíz y trigo (CIMMYT) proviene de Ecuador, lo que le sitúa como en tercer país en cuanto a diversidad de cultivo.

- Superficie sembrada por provincias

PROVINCIAS	SUPERFICIE SEMBRADA [Ha]
LOS RIOS	77194.00
MANABI	52716.00
GUAYAS	50164.00
LOJA	17382.00
ORELLANA	3896.00
BOLIVAR	3678.00
ESMERALDAS	3451.00
SUCUMBIOS	2750.00
IMBABURA	2714.00
PICHINCHA	2319.00
ZAMORA CHINCHIPE	2085.00
MORONA SANTIAGO	2064.00
NAPO	2011.00
COTOPAXI	1584.00
EL ORO	1532.00
CAÑAR	1106.00
CARCHI	948.00
AZUAY	695.00
CHIMBORAZO	271.00
PASTAZA	265.00
GALAPAGOS	42.00
Total general	228867.79

Tabla N° 6. INIAP, 5 de septiembre del 2005.

- **Breve proceso de elaboración del almidón**

Se limpia el maíz al granel liberándolo de las impurezas o materias extrañas, para luego aplicar una humidificación controlada del grano que va a molienda de tal forma que solo la cascara y el germen aumenten su humedad y el endospermo quede con su porcentaje original; someter a molienda seca el maíz.

Se separan las cáscaras y el germen, los cuales son derivados hacia otros destinos de procesamiento, sometiendo el endospermo resultante a una maceración en una solución de anhídrido sulfuroso combinada con agitación constante durante 0,5 a 16 horas. Después se separa mediante mallas, la lechada almidón-gluten resultante de las partículas de maíz que subsistan, las cuales se someten a molienda y posterior lavado, retirando la fibra resultante del flujo principal del proceso y el resto del lavado se incorpora a la lechada, previamente concentrada, para ingresar a separadores del almidón-gluten.

El gluten obtenido es deshumidificado y secado; y el almidón obtenido de esta separación es lavado para liberarlo de los residuos del gluten para, finalmente, someterlo a deshumidificado y secado.

- **Caracterización**

La solubilidad del almidón de maíz aumenta conforme se incrementa la temperatura a la que se somete.

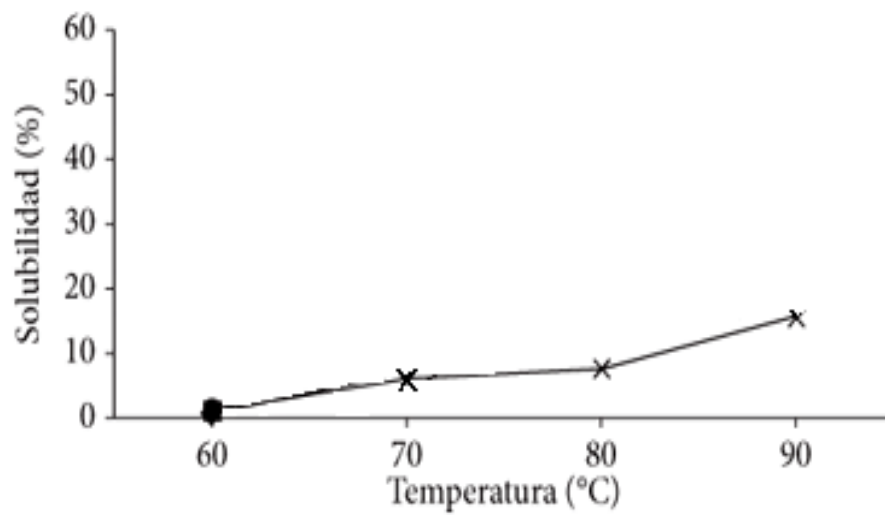


Gráfico N° 2. Gelatinización de sémola de maíz por rodillo y la cocción por extrusión. ANDERSON, R. et al. 1969.

TEMPERATURA [°C]			ENTALPÍA DE GELATINIZACIÓN [J.g ⁻¹]	PODER DE HINCHAMIENTO [g agua.g ⁻¹ almidón a 90°C]	PODER DE HINCHAMIENTO [g agua.g ⁻¹ almidón]
Ti	Tp	Tf			
62,3	66,3	72,9	10,3	16,98	17.2

Tabla N° 7. Gelatinización de sémola de maíz por rodillo y la cocción por extrusión. ANDERSON, R. et al. 1969.

2.2.6. Usos y aplicaciones

Por lo regular, el almidón de maíz suele utilizarse como agente espesante en diferentes procedimientos, sin embargo sus usos son más variados. A continuación se enlistan algunos de ellos:

- Alimentos: Se utiliza para espesar y engrosar preparaciones. En productos horneados, pan, dulces, aderezos para ensaladas, entre otros.
- Alcohol: Se utiliza en la preparación de bebidas no alcohólicas, perfumes, aerosoles fijadores de cabello y para la pureza del alcohol etílico.
- Farmacéutica.

- Alimentación de mascotas.
- Fabricación de papel.
- Adhesivos.
- Cremas de afeitar.
- Productos textiles.
- Diversos productos de la industria del cuidado personal.
- Solventes.

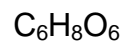
2.3. Antioxidantes

2.3.1. Ácido ascórbico

El ácido ascórbico (Ficha técnica realizada por: The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). ANEXO 1.), se emplea en la industria alimentaria con el código: E-300, como antiséptico, antioxidante, y conservante. Es hidrosoluble, y solamente es una vitamina para el hombre, los primates superiores, y algunas aves.

La inmensa mayoría de los animales, incluidos los de granja, pueden sintetizarla, por lo que no la acumulan en su organismo (ni, eventualmente, la segregan en la leche). Esto tiene como consecuencia que los alimentos animales sean generalmente pobres en esta vitamina.

- Fórmula Química



- Peso molecular

176,1 g/mol

- Sinónimos

Vitamina C/ Acido L-xiloascórbico/ Acido 3-oxo-L-gulofuranolactona (forma enólica)

- Propiedades físicas y químicas:

COLOR	Blanco
OLOR	Inodoro
VALOR PH A 50 G/L H₂O, 20 °C	2,2 a 2,5
PUNTO DE FUSIÓN	190-192°C
DENSIDAD RELATIVA [g/cm³]	1,65
ESTADO FÍSICO	Cristales
SOLUBILIDAD EN AGUA	33 g/100 ml

Tabla N° 8. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 2.003.

2.3.1.1. Usos y aplicaciones

El ácido ascórbico y sus sales de sodio, potasio y calcio suelen usarse como aditivos antioxidantes de los alimentos. Estos compuestos son solubles en agua y, por tanto, no pueden proteger a las grasas de la oxidación.

Para este último fin pueden usarse como antioxidantes los ésteres de ácido ascórbico solubles en grasa, con ácidos grasos de cadena larga (palmitato de ascorbilo o estereato de ascorbilo).

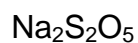
Otro de sus usos es como añadido al agua que ha sido tratada con yodo, para hacerla potable, neutralizando el sabor desagradable del yodo y aumentando las ventajas para la salud del agua potable, aunque aumenta la posibilidad de caída de los dientes.

En la fabricación de plástico, el ácido ascórbico puede usarse para ensamblar cadenas moleculares más rápidamente y con menos residuos que con los métodos de síntesis tradicionales.

2.3.2. Metabisulfito de Sodio

El Metabisulfito de sodio (Ficha técnica realizada por: The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). ANEXO 2.), es una sal sódica, concretamente un sulfito. Suele emplearse en la industria alimentaria con el código: E-223, como desinfectante, antioxidante y conservante.

- Fórmula Química



- Peso molecular

190,1 g/mol

- Sinónimo

Pirosulfito de Sodio

- **Composición**

METABISULFITO DE SODIO	96% mín.
DIÓXIDO DE SULFURO (SO₂)	64,7% min.
TIOSULFATO (S₂O₃) %	0.04 máx.
HIERRO (Fe)	7 ppm máx.
ARSÉNICO (As)	0,4 ppm máx.
METALES PESADOS (COMO Pb)	10 ppm máx.

Tabla N° 9. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 2.003.

- **Propiedades físicas y químicas:**

ESTADO FÍSICO	Polvo
COLOR	Incoloro
OLOR	Débilmente picante
VALOR PH A 50 G/L H₂O, 20 °C	3,5-5
PUNTO DE FUSIÓN	150°C (descomposición)
DENSIDAD A 20 °C	2,36 g/cm ³
DENSIDAD DE AMONTONAMIENTO	1.000-1.200 kg/m ³
SOLUBILIDAD EN AGUA 20 °C	650 g/l
DESCOMPOSICIÓN TÉRMICA	>150 °C

Tabla N° 10. The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). 2.003.

2.3.2.1. Usos y aplicaciones

El Metabisulfito de Sodio es usado en la industria alimenticia, química y farmacéutica. En la industria alimenticia es usado como aditivo para alimentos, los usos más importantes en esta industria son los siguientes:

- Tratamiento de: fruta seca, almíbar y escarchada.
- Frutas y vegetales.
- Cebolla y papa.
- Almidón seco, cebada, gelatina comestible.
- Caramelos duros y blandos.
- Preservativo de jaleas y mermeladas.
- Fermentación del vinagre, frutos cítricos, jugo de toronja y jugo de naranja.

- Pescado, camarón y otros crustáceos.
- En la fabricación de algún tipo de harina de trigo (pasta).
- Para blanqueamiento de la piña y procesar el café en grano.
- Es usado en el tratamiento de agua potable para destruir los excesos de cloro, en casos especiales puede usarse para remover oxígeno y en la purificación de aguas residuales con contenido de cromo.
- En la industria de adhesivos, artes, curtidora, limpieza y mantenimiento, fotográfica, pulpa y papel. Es utilizado como agente reductor en la polimerización de fibras sintéticas.

CAPÍTULO 3

3. PRUEBAS EXPERIMENTALES

3.1. Equipos y reactivos

MUESTRA	MATERIALES Y EQUIPOS	REACTIVOS
Aguacates	Pinzas	Ácido ascórbico
	Balanza	Metabisulfito de sodio
	Vasos de precipitación	Almidón de yuca
	Varilla de vidrio	Almidón de maíz
	Vidrio reloj	

Tabla N° 1. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

3.2. Procedimiento

- **Caracterización de la materia prima**

Aguacate de la variedad Hass (NTE INEN 1755:2009 ANEXO 3), debe cumplir ciertos requisitos para el consumo en estado fresco, después de su madurez fisiológica.

El fruto es de forma ovoide, de piel arrugada y textura corchosa, su color característico va del verde mate al negro, la masa varía de 140g – 400g, la semilla es pequeña de forma esférica. La pulpa es de color verde amarillento, suave y sin fibra (tipo mantequilla) el contenido de aceite oscila entre 20% - 23%.

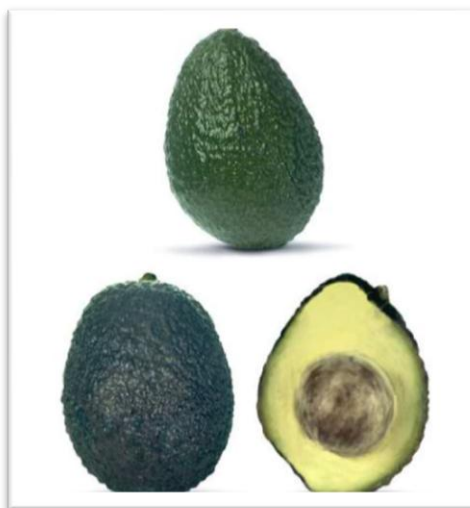


Gráfico N° 1. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

Para la realización de nuestro experimento seleccionamos nosotros mismos los aguacates de manera sensorial. Se realizó una tabla de referencia dónde se definió los parámetros de los aguacates que participarían en el experimento centrándose en la firmeza de la fruta evaluada por nuestro tacto. Antes de definir los criterios se decidió que el aguacate “ACEPTADO” debía estar totalmente duro sin magulladuras y golpes en ningún sitio, cualquier parámetro diferente a este sería clasificado como aguacate “RECHAZADO”.

TABLA DE CRITERIOS	
4	Duro
3	Por madurar
2	Maduro firme
1	Maduro

Tabla N° 2. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

1. Maduro: Cede ante una sutil presión.
2. Maduro firme: Cede ante una presión más fuerte.
3. Por madurar: La fruta tiene una leve flexibilidad.
4. Duro: La fruta está muy dura, en general.

- **Tabla de resultados**

N°	1 -4	ESTADO DE ACEPTACIÓN	N°	1 -4	ESTADO DE ACEPTACIÓN	N°	1 -4	ESTADO DE ACEPTACIÓN
1	4	ACEPTADO	31	3	RECHAZADO	61	4	ACEPTADO
2	3	RECHAZADO	32	4	ACEPTADO	62	4	ACEPTADO
3	4	ACEPTADO	33	4	ACEPTADO	63	4	ACEPTADO
4	3	RECHAZADO	34	4	ACEPTADO	64	4	ACEPTADO
5	3	RECHAZADO	35	4	ACEPTADO	65	4	ACEPTADO
6	4	ACEPTADO	36	3	RECHAZADO	66	4	ACEPTADO
7	2	RECHAZADO	37	4	ACEPTADO	67	4	ACEPTADO
8	3	RECHAZADO	38	4	ACEPTADO	68	4	ACEPTADO
9	3	RECHAZADO	39	4	ACEPTADO	69	4	ACEPTADO
10	4	ACEPTADO	40	4	ACEPTADO	70	4	ACEPTADO
11	4	ACEPTADO	41	4	ACEPTADO	71	4	ACEPTADO
12	3	RECHAZADO	42	4	ACEPTADO	72	2	RECHAZADO
13	4	ACEPTADO	43	4	ACEPTADO	73	4	ACEPTADO
14	4	ACEPTADO	44	4	ACEPTADO	74	4	ACEPTADO
15	3	RECHAZADO	45	4	ACEPTADO	75	4	ACEPTADO
16	4	ACEPTADO	46	4	ACEPTADO	76	4	ACEPTADO
17	2	RECHAZADO	47	4	ACEPTADO	77	4	ACEPTADO
18	4	ACEPTADO	48	4	ACEPTADO	78	4	ACEPTADO
19	4	ACEPTADO	49	4	ACEPTADO	79	4	ACEPTADO
20	3	RECHAZADO	50	4	ACEPTADO	80	4	ACEPTADO
21	4	ACEPTADO	51	4	ACEPTADO	81	4	ACEPTADO
22	4	ACEPTADO	52	4	ACEPTADO	82	4	ACEPTADO
23	3	RECHAZADO	53	4	ACEPTADO	83	4	ACEPTADO
24	4	ACEPTADO	54	4	ACEPTADO	84	4	ACEPTADO
25	4	ACEPTADO	55	4	ACEPTADO	85	4	ACEPTADO
26	4	ACEPTADO	56	4	ACEPTADO	86	4	ACEPTADO
27	4	ACEPTADO	57	4	ACEPTADO	87	4	ACEPTADO
28	4	ACEPTADO	58	4	ACEPTADO	88	4	ACEPTADO
29	3	RECHAZADO	59	4	ACEPTADO	89	3	RECHAZADO
30	4	ACEPTADO	60	4	ACEPTADO	90	4	ACEPTADO

Tabla N° 3. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

RESULTADOS	
ACEPTADO	74
RECHAZADO	16

Tabla N°4 María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

La evaluación arrojó un 82% de aguacates aceptados, siendo las muestras con los que se realizaron los experimentos respectivos.

- **Pesado individual de los aguacates:**

Se agruparon por pesos para que las muestras a tratar sean lo más homogéneas posibles, los pesos variaron entre 150 +/- gramos.

- **Preparación de las soluciones:**

Se procedió a pesar cada sustancia, y a preparar las soluciones de acuerdo a las proporciones establecidas mediante el diseño de experimentos.

Baño de solución polímero-antioxidante:

Los aguacates se someten a un baño de solución polímero-antioxidante, esta inmersión se realiza por 30 segundos, que posteriormente son colocados en una gradilla suspensoria de varios niveles con una malla de orificios de 2cm^2 fabricada especialmente para el experimento donde, se secaron con una corriente de aire en cada fruto.



Gráfico N° 2. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

En el gráfico está el aguacate, después de haber sido sometido a un baño de solución polímero-antioxidante por 30 segundos.

3.2.1. Formulación de soluciones

Para todas las corridas experimentales se preparó dos litros de solución de polímero al 10% con antioxidantes proporcionados de la siguiente manera:

3.2.2. Almidón de yuca - ácido ascórbico - metabisulfito de sodio

YUCA 10%		
Solución	Antioxidante	Concentración [%]
S1	Metabisulfito	0,25
	Ac. Ascórbico	0,5
S4	Metabisulfito	0,5
	Ac. Ascórbico	0,5
S5	Metabisulfito	0,5
	Ac. Ascórbico	0,25
S6	Metabisulfito	0,25
	Ac. Ascórbico	0,25

Tabla N° 5. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

3.2.3. Almidón de maíz - ácido ascórbico - metabisulfito de sodio

MAÍZ 10%		
Solución	Antioxidante	Concentración [%]
S2	Metabisulfito	0,5
	Ac. Ascórbico	0,25
S3	Metabisulfito	0,25
	Ac. Ascórbico	0,25
S7	Metabisulfito	0,5
	Ac. Ascórbico	0,5
S8	Metabisulfito	0,25
	Ac. Ascórbico	0,5

Tabla N° 6. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

3.3. Diseño de experimentos

3.3.1. Variables fijas

- Las variables fijas o variables controladas del experimento fueron:
 - Almidón de yuca (concentración: 10%)
 - Almidón de maíz (concentración: 10%)

Polímeros	%
Almidón de Yuca	10%
Almidón de Maíz	

Tabla N° 7. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

3.3.2. Variables independientes y dependientes

- Los factores o variables independientes del experimento, que se analizaron son los antioxidantes añadidos a la solución de polímeros al 10%. Es decir que como factores o variables independientes, se consideraron:

1) Metabisulfito de sodio (concentraciones: 0,25% y 0,50%)

2) ácido Ascórbico (concentraciones: 0,25% y 0,50%)

Antioxidantes	%	
Metabisulfito de sodio	0,25	0,50
Ác. Ascórbico	0,25	0,50

Tabla N° 8. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

- La variable de respuesta o variable dependiente del experimento fue el tiempo de vida útil expresado en días.

3.3.3. Corridos experimentales

ORDENEST	ORDEN CORRIDA	TIPOPT	BLOQUES	POLÍMERO	METABISULFITO	AC. ASCÓRBICO
10	1	1	2	1	1	2
15	2	1	2	2	2	1
13	3	1	2	2	1	1
12	4	1	2	1	2	2
11	5	1	2	1	2	1
9	6	1	2	1	1	1
16	7	1	2	2	2	2
14	8	1	2	2	1	2
7	9	1	1	2	2	1
8	10	1	1	2	2	2
5	11	1	1	2	1	1
6	12	1	1	2	1	2
1	13	1	1	1	1	1
4	14	1	1	1	2	2
2	15	1	1	1	1	2
3	16	1	1	1	2	1

Tabla N° 10. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

Nivel	Factores		
	Polímero	1	2
		Metabisulfito	Ac. Ascórbico
1	Almidón de Yuca	0,25	0,25
2	Almidón de Maíz	0,50	0,50

Tabla N° 9. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

El diseño experimental, modelo 2^2 (dos niveles y 2 factores), arroja 8 corridas distintas, con dos repeticiones de cada una. Serán 8 soluciones diferentes de almidón con antioxidante que se realizarán por duplicado.

CAPÍTULO 4

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Características físico-químicas

4.1.1. Humedad

Las muestras de aguacate fueron pesadas todos los días durante 14 días, dónde se evaluó la pérdida de peso vs el tiempo y la pérdida de agua vs el tiempo.

4.1.2. Sólidos Solubles (°BRIX)

Se colocó la muestra del aguacate en el refractómetro realizando dos repeticiones según el método 932.14C de la AOAC (ANEXO 4).

4.1.3. Acidez

La acidez de las muestras de aguacate se determinó de acuerdo al método 18 – 942.15 de la AOAC ANEXO 5).

Se debe preparar una solución de $2,5 \pm 0,1$ g de aguacate con 50 ml de agua destilada, mezclar y filtrar. La acidez puede calcularse con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez} = \frac{\text{ml NaOH} \times \text{N NaOH} \times \text{meq. ácido} \times \text{factor dil.}}{\text{ml muestra titulada}} \times 100$$

4.1.4. Colorimetría

A los cinco días de almacenamiento se analizó el color de las pulpas de las muestras de los aguacates con una pantonera PANTONE PLUS SERIES CMYK contiene 2.868 colores, dispuestos cromáticamente para suavizar la transición entre colores y posibilitar una selección más intuitiva.



Gráfico N° 1. Pantonera PANTONE PLUS SERIES CMYK, 2012.

- **Humedad**

PATRÓN		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	240	-
DÍA 1	237	3
DÍA 2	234	3
DÍA 3	231	3
DÍA 4	228	3
DÍA 5	225	3
DÍA 6	221	4
DÍA 7	218	3
DÍA 8	214	4
DÍA 9	207	7
DÍA 10	197	10
DÍA 11	182	15
DÍA 12	165	17
DÍA 13	145	20
DÍA 14	125	20

Tabla N° 1. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012

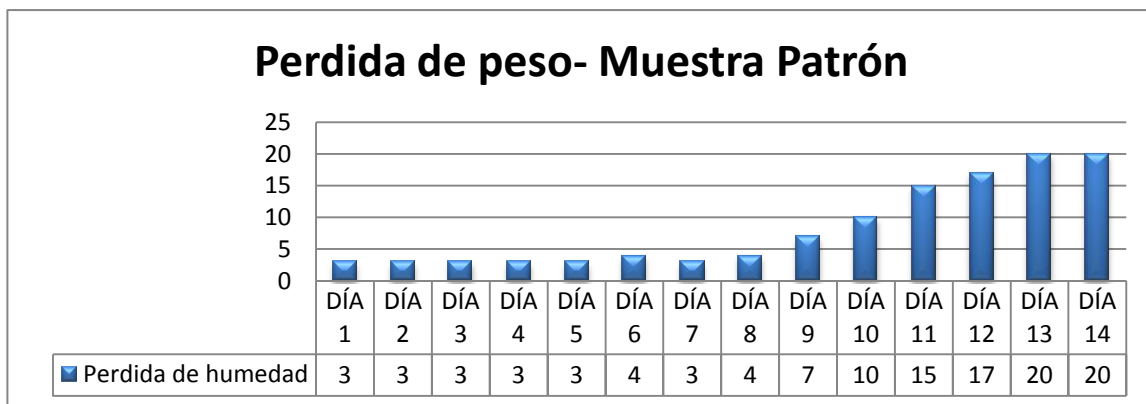


Gráfico N° 2. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 1		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	196	-
DÍA 1	194	2
DÍA 2	192	2
DÍA 3	189	3
DÍA 4	187	2
DÍA 5	186	1
DÍA 6	184	2
DÍA 7	183	1
DÍA 8	179	4
DÍA 9	177	2
DÍA 10	176	1
DÍA 11	173	3
DÍA 12	169	4
DÍA 13	162	7
DÍA 14	155	7

Tabla N° 2. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

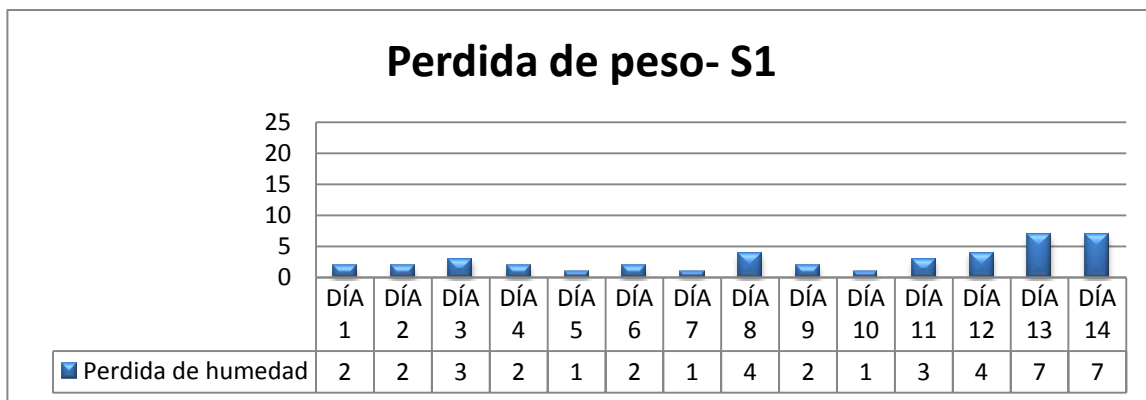


Gráfico N° 3. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 2		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	226	-
DÍA 1	223	3
DÍA 2	220	3
DÍA 3	217	3
DÍA 4	215	2
DÍA 5	212	3
DÍA 6	210	2
DÍA 7	206	4
DÍA 8	202	4
DÍA 9	198	4
DÍA 10	193	5
DÍA 11	188	5
DÍA 12	180	8
DÍA 13	168	12
DÍA 14	150	18

Tabla N° 3. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

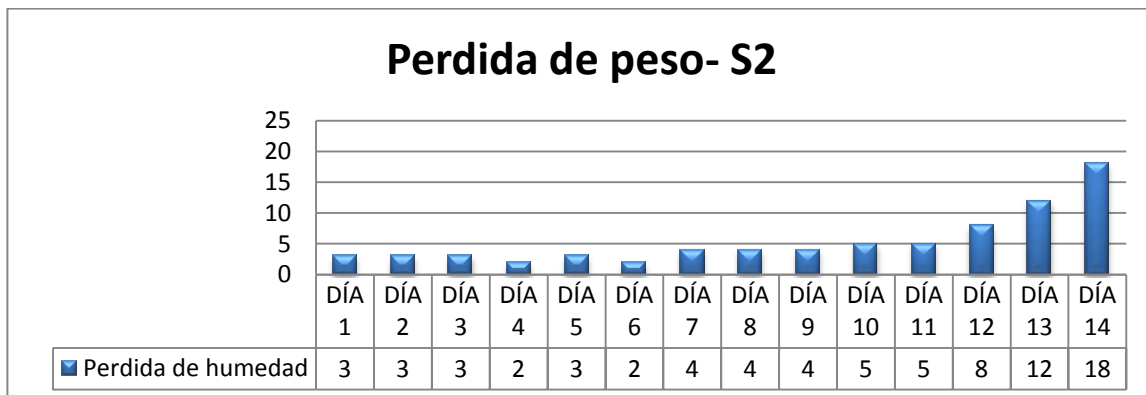


Gráfico N° 4. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 3		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	193	-
DÍA 1	191	2
DÍA 2	189	2
DÍA 3	187	2
DÍA 4	185	2
DÍA 5	183	2
DÍA 6	181	2
DÍA 7	180	1
DÍA 8	177	3
DÍA 9	176	1
DÍA 10	174	2
DÍA 11	172	2
DÍA 12	169	3
DÍA 13	165	4
DÍA 14	161	4

Tabla N° 4. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

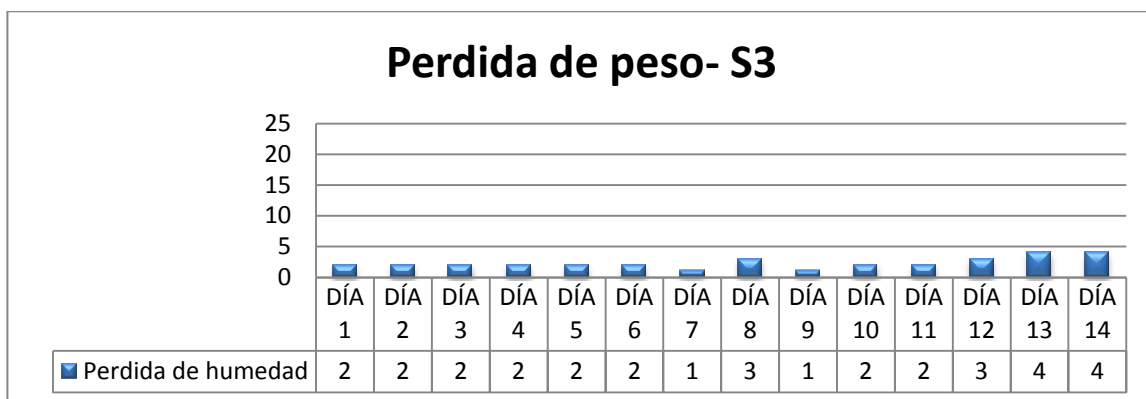


Gráfico N° 5. María José Alvarado y Sael Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 4		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	185	-
DÍA 1	182	3
DÍA 2	180	2
DÍA 3	179	1
DÍA 4	177	2
DÍA 5	175	2
DÍA 6	173	2
DÍA 7	173	0
DÍA 8	172	1
DÍA 9	170	2
DÍA 10	169	1
DÍA 11	167	2
DÍA 12	164	3
DÍA 13	159	5
DÍA 14	154	5

Tabla N° 5. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

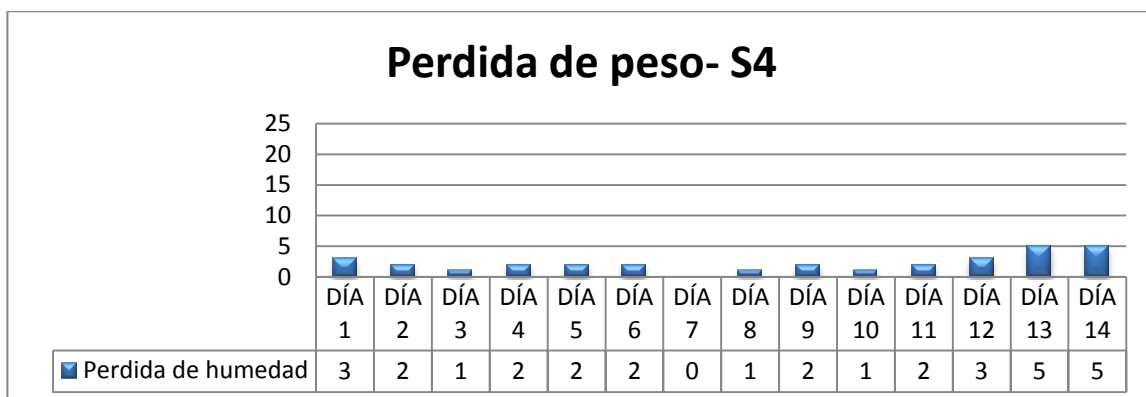


Gráfico N° 6. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 5		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	213	-
DÍA 1	210	3
DÍA 2	208	2
DÍA 3	205	3
DÍA 4	202	3
DÍA 5	200	2
DÍA 6	197	3
DÍA 7	194	3
DÍA 8	191	3
DÍA 9	188	3
DÍA 10	184	4
DÍA 11	176	8
DÍA 12	168	8
DÍA 13	158	10
DÍA 14	146	12

Tabla N° 6. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

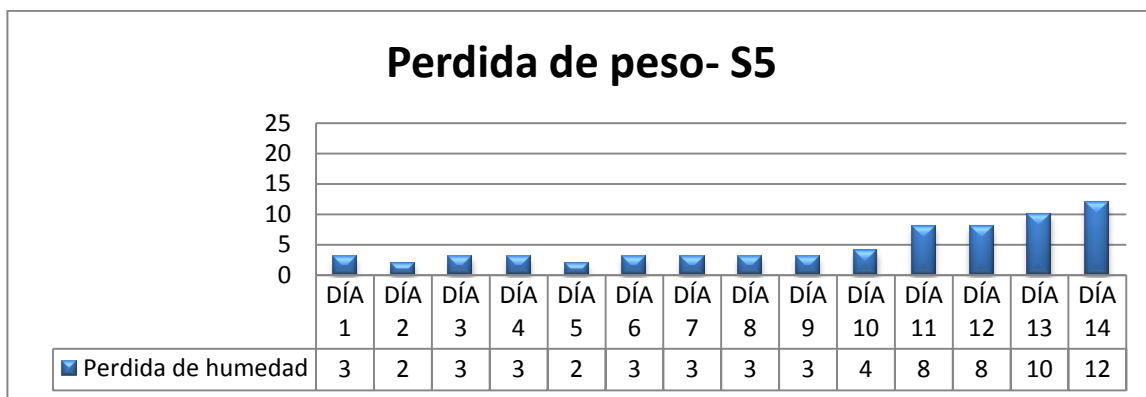


Gráfico N° 7. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 6		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	186	-
DÍA 1	183	3
DÍA 2	181	2
DÍA 3	179	2
DÍA 4	178	1
DÍA 5	176	2
DÍA 6	173	3
DÍA 7	172	1
DÍA 8	169	3
DÍA 9	168	1
DÍA 10	166	2
DÍA 11	164	2
DÍA 12	161	3
DÍA 13	158	3
DÍA 14	155	3

Tabla N° 7. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

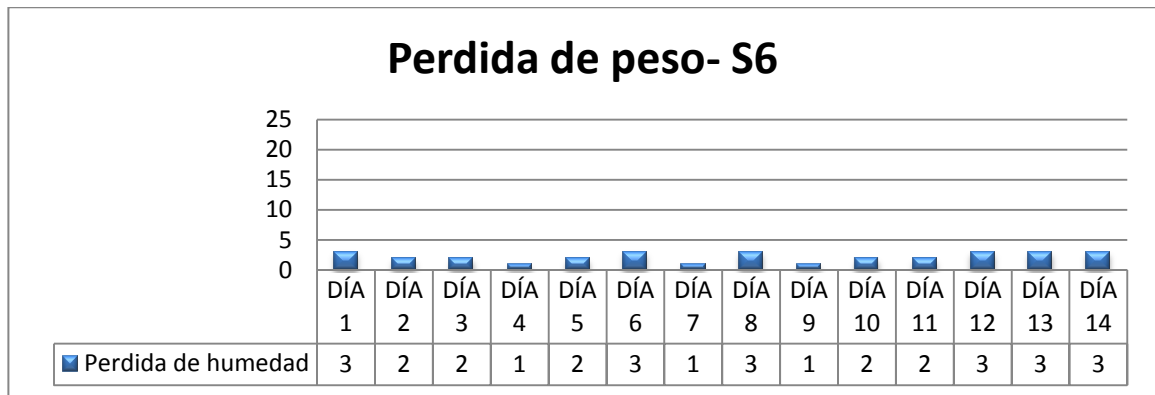


Gráfico N° 8. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 7		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	215	-
DÍA 1	212	3
DÍA 2	210	2
DÍA 3	207	3
DÍA 4	205	2
DÍA 5	203	2
DÍA 6	200	3
DÍA 7	197	3
DÍA 8	194	3
DÍA 9	191	3
DÍA 10	186	5
DÍA 11	179	7
DÍA 12	168	11
DÍA 13	154	14
DÍA 14	136	18

Tabla N° 8. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

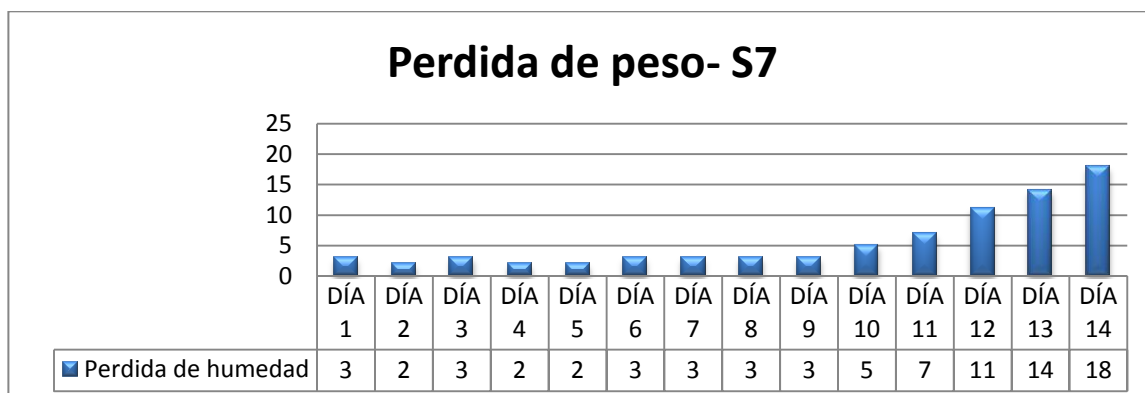


Gráfico N° 9. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

SOLUCIÓN 8		
TIEMPO	PESOS	Perdida de humedad
DÍA 0	190	-
DÍA 1	188	2
DÍA 2	187	1
DÍA 3	185	2
DÍA 4	183	2
DÍA 5	182	1
DÍA 6	180	2
DÍA 7	178	2
DÍA 8	177	1
DÍA 9	175	2
DÍA 10	175	0
DÍA 11	173	2
DÍA 12	171	2
DÍA 13	169	2
DÍA 14	167	2

Tabla N° 9. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

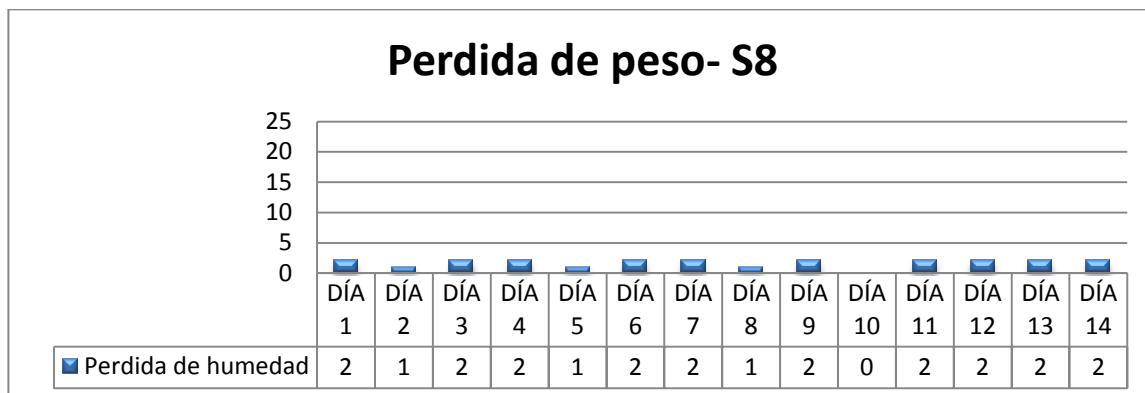


Gráfico N° 10. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

Después del período de almacenamiento de 14 días a 26°C, se incrementó la pérdida de agua de todas las muestras y el peso disminuyó.

La muestra que mayor pérdida de agua tuvo fue el patrón, la cual no tuvo ningún tipo de inmersión con ninguna solución, perdió 115 gramos de agua.

Esto nos hace deducir que no hubo deshidratación osmótica con respecto al resto de muestras con inmersiones de soluciones polímero-antioxidante. Debido a que las soluciones polímeros-antioxidantes que utilizamos crean una barrera protectora que minimiza de manera significativa la pérdida de humedad.

La velocidad de pérdida de agua del producto durante la deshidratación osmótica depende de las siguientes variables: concentración del soluto en la deshidratación osmótica, tiempo de inmersión, temperatura del proceso, geometría de la materia prima, área de la superficie expuesta y velocidad de agitación.

La fuerza impulsadora para la deshidratación osmótica es la diferencia de presiones osmóticas entre el producto y la solución concentrada en la cual está inmerso. Por otro lado, la presión osmótica es proporcional a la concentración de la solución, por lo que un aumento de concentración traerá como consecuencia un incremento en la presión osmótica de esta y por lo tanto en la fuerza impulsadora total. A mayor concentración de la solución osmótica, la velocidad de la deshidratación también será mayor. Sin embargo, el incremento de la concentración de la solución trae como consecuencia un aumento en la viscosidad, lo que puede dificultar la agitación y el manejo de la solución, haciéndose necesario encontrar una concentración óptima.

Las películas o recubrimientos comestibles de polímeros-antioxidantes, funcionan como una barrera para el intercambio de gases y vapor de agua.

La característica funcional más importante de las películas comestibles es la resistencia que presenta contra la migración de la humedad, esto es porque deben conservarse los niveles críticos de actividad de agua para que el producto mantenga una calidad y sanidad óptimas.

Sin embargo, al recubrir un fruto u hortaliza para retardar la pérdida de humedad, es necesario que exista una cierta permeabilidad al oxígeno y el dióxido de carbono para evitar una respiración anaeróbica que podría inducir desórdenes fisiológicos y una pérdida rápida de la calidad y vida útil de los productos.

Se crea una atmósfera modificada en el interior del fruto para retardar el proceso de maduración y senescencia de una forma similar a la de una atmósfera controlada que es mucho más costosa.

Sin embargo, resulta que las formulaciones que proporcionan un adecuado intercambio gaseoso frecuentemente no son buenas barreras para la humedad y por otro lado, las que son eficientes para reducir la pérdida de agua tienden a crear condiciones de anaerobiosis en la atmósfera interna del fruto, la importancia de todo esto es encontrar la solución que nos brinde un equilibrio entre pérdida de agua vs respiración controlada del fruto.

- **Sólidos solubles**

Sólidos solubles (Brix)		
MUESTRA	DÍAS	
	7	14
PATRÓN	11,80%	15,42%
SOLUCIÓN 1	17,30%	20,24%
SOLUCIÓN 2	14,6%	16,35%
SOLUCIÓN 3	16,80%	18,65%
SOLUCIÓN 4	14,80%	17,17%
SOLUCIÓN 5	13,30%	14,90%
SOLUCIÓN 6	19,40%	22,31%
SOLUCIÓN 7	14,50%	16,53%
SOLUCIÓN 8	10,10%	11,92%

Tabla N° 10. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

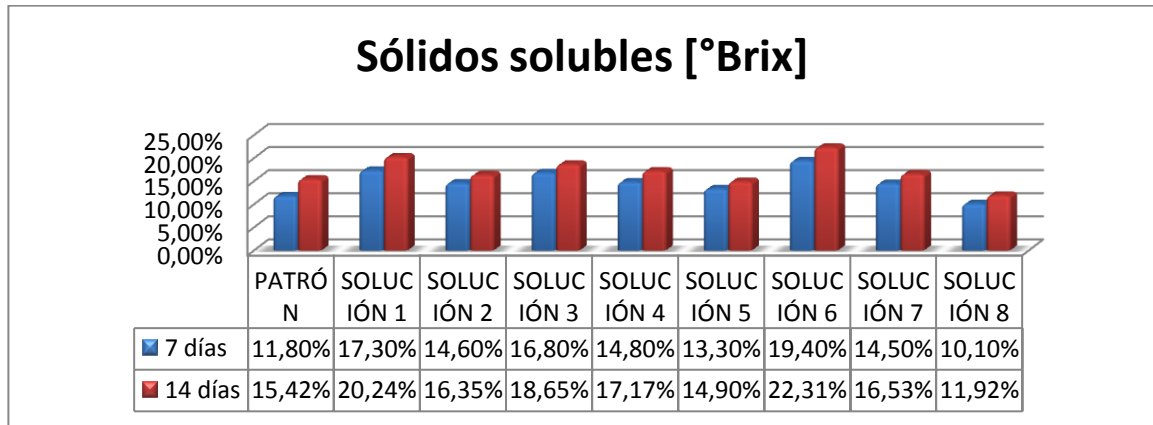


Gráfico N° 11. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

El aguacate Hass no se caracteriza por tener alto contenido de sólidos solubles en comparación con otras especies frutales. Al analizar la tabla número 10 se puede decir que existe un aumento del contenido de sólidos solubles durante el almacenamiento a parte de la muestra patrón, siendo significativamente mayor en la solución número 1 y en la solución 6.

- Acidez

Acidez		
MUESTRA	DÍAS	
	7	14
PATRÓN	0,80%	1,50%
SOLUCIÓN 1	1%	2,90%
SOLUCIÓN 2	1,4%	2%
SOLUCIÓN 3	1,30%	2,10%
SOLUCIÓN 4	0,9%	0,9%
SOLUCIÓN 5	0,80%	2,40%
SOLUCIÓN 6	1,10%	0,60%
SOLUCIÓN 7	0,9%	1%
SOLUCIÓN 8	1,0%	1,20%

Tabla N° 11. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

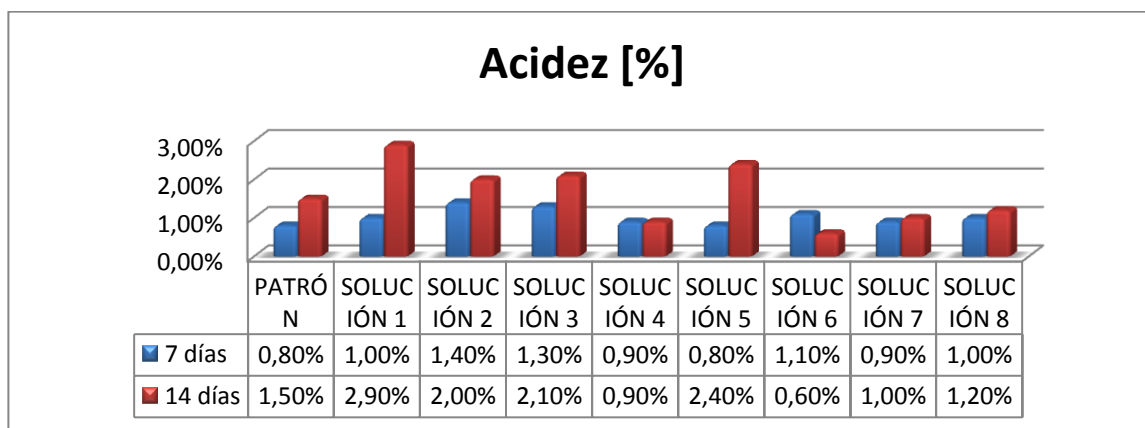


Gráfico N° 12. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

En el gráfico número 12 podemos ver que hubo un incremento en los valores de acidez lo cual está relacionado como signo de deterioro por desarrollo microbiano en el producto. Podemos destacar que la solución número 4 no tuvo variación de su acidez con relación al tiempo y en la solución 6 hubo disminución de la misma.



Gráfico N° 13. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

- **Colorimetría**

A los cinco días de almacenamiento se analizó el color de las pulpas de cada una de las frutas sumergidas en las 8 soluciones, y se las comparó frente al color arrojado por la fruta patrón del día 0 con una pantonera PANTONE PLUS SERIES CMYK obteniendo los siguientes resultados:

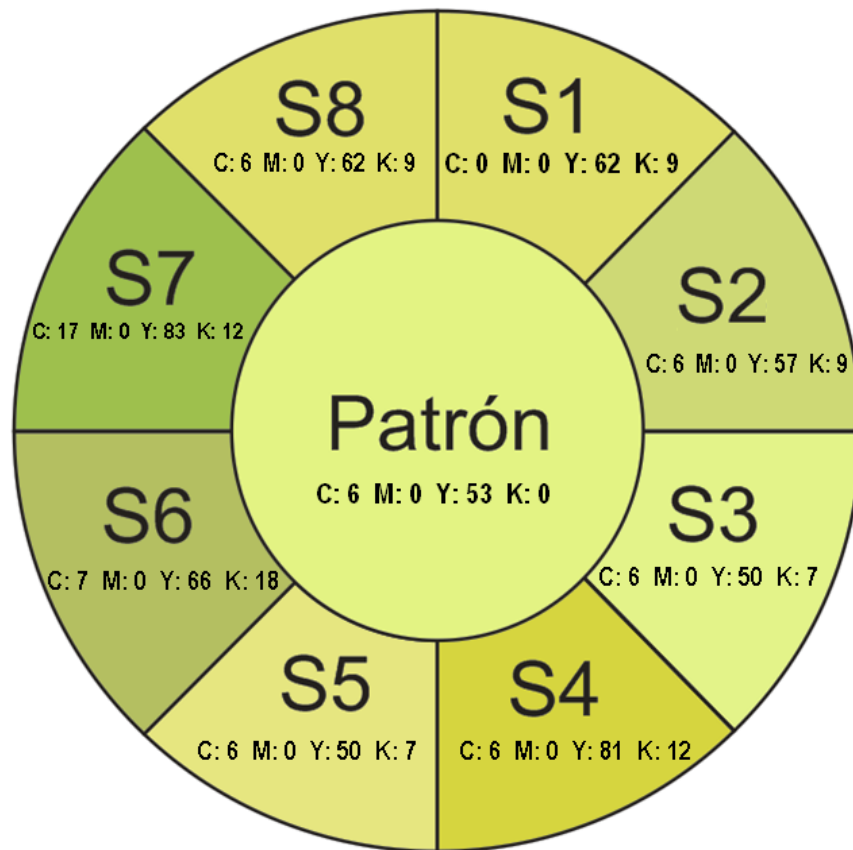


Gráfico N° 14. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

La pulpa con 0 días de almacenamiento es tomada como "Patrón", la muestra que más se aproxima al color de la pulpa patrón es la de la solución número 3 a los 5 días de almacenamiento con una temperatura de 26°C que muestra el gráfico número 13.

Una de las alteraciones importantes que sufre el aguacate es el oscurecimiento de la pulpa, producido por la degradación de los tejidos por la sobre maduración y cuando se expone al aire durante su proceso de consumo; por lo que la conservación del aguacate se ha encaminado a la disminución y por lo tanto a la inactivación de la enzima de la polifenoloxidasas (PFO), responsable de este cambio (Braverman, 1988).

La polifenoloxidasas (PFO) pertenece al grupo de la oxidoreductasas. Se denomina también: fenolasa, tirosinasa, catalasa, cresolasa y se clasifica como 1,2-bencendiol: oxígeno oxido-reductasa. (Whitaker, 1994).

La polifenoloxidasas se encuentra en frutas y vegetales en general, donde también se encuentran compuestos fenólicos. Cuando se alteran los tejidos de estos vegetales o se dañan por golpes durante los procesos: pelado, corte, triturado para la preparación de jugos, congelación y deshidratación se produce la reacción de oscurecimiento.

Ejemplo de productos en los que estas reacciones ocurren con facilidad son el plátano, manzanas, peras, albaricoque, melón, aguacate, papas y champiñones. Las reacciones enzimáticas que tienen lugar se clasifican en actividad cresolasa, actividad catecolasa y las o-quinonas.

En resumen, el oscurecimiento enzimático se manifiesta por la presencia de una pigmentación café en la superficie de los frutos y verduras, y para formarse requiere el contacto del tejido con oxígeno (del aire).

La polifenol oxidasa (PFO) está presente en bacterias, hongos, en algunos artrópodos, mamíferos y probablemente esté presente en todas las plantas. La concentración de PFO en plantas depende de la especie, cultivo, madurez y edad. La actividad de la enzima es muy baja en plantas jóvenes, casi indetectables. Esto es debido a que la enzima se encuentra fuertemente unida a una membrana mediante un puente peptídico de un aminoácido no aromático y se requiere que el enlace se rompa para liberar la enzima.

La reacción es catalizada por la enzima fenolasa, la cual requiere cobre como cofactor. El cobre es la enzima recién preparada está en estado cúprico y durante el oscurecimiento cambia a cuproso sin que cambie la actividad de la enzima, son incoloras en estado puro; su espectro de absorción es en la región visible o ultravioleta como cualquier proteína. Son estables a pH neutro.

El oscurecimiento enzimático se considera como un proceso deteriorativo, en el puré de plátano, manzanas, aguacates, papas fritas, en otros casos el oscurecimiento es esencial para el desarrollo del color y sabor, como el del té, café y cacao.

La mayoría de los métodos para evitar el oscurecimiento enzimático son aplicados a la enzima y al oxígeno presentes de los cuales tenemos:

1. Desnaturalización de la enzima por calor (agua hirviendo o vapor).
2. Minimizar el contacto con el oxígeno.
3. Controlar las condiciones de pH y actividad acuosa.

4. Empleo de antioxidantes, que actúan como reductores entre los que se tienen: ácido ascórbico, dióxido de azufre, butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxa-tolueno (BHT). Reduciendo las o-quinonas a los o-difenoles originales.
5. Inhibidores de las fenolasas como: sulfitos, bisulfitos, metabisulfitos, formando sulfito-quinonas y evita que se polimerice. El uso de agentes quelantes como el EDTA actúa como secuestrante del cobre, impidiendo que la enzima tenga actividad.
6. Congelación, de acuerdo al producto en cuestión, evitando daño por frío.

4.2. Características microbiológicas

La contaminación post-cosecha de los aguacates se da abundantemente en ausencia de cualquier tipo de tratamiento. La alteración está influida por los antecedentes de la tierra en la que han crecido. Igualmente, el suelo contaminado con inundaciones o el agua de riego de mala calidad, los expone a microorganismos.

4.2.1. Identificación de género de hongos

Se realizó el análisis microbiológico de la muestra patrón a los 0 días, en un laboratorio certificado. El método de ensayo fue US FDA/CFSAN-BAM 2001 Cap. 18 (ANEXO 6).

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS	
PARÁMETROS	RESULTADOS
Identificación de Género de Hongos	Colletotrichum sp, Cercospora sp, Fusarium sp, Phytosphthora sp
Recuento de mohos y levaduras	68,6 x 10 ¹ UFC / G

Tabla N ° 12. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

4.3. Validación estadística del diseño experimental

Para determinar los datos de la evaluación sensorial se utilizó el software estadístico MINITAB 16.

ANOVA dos factores

Modelo Estadístico

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_j + \beta_i + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = Variable de respuesta "calificación"

μ = Media general

τ_j = Efecto del factor "muestras"

β_i = Efecto del factor "juez"

ε_{ijk} = Error aleatorio

Prueba de hipótesis

Ho₁: Las muestras son iguales

Ha₁: Las muestras son diferentes

Ho₂: El efecto de los jueces sobre la variable de respuesta no es significativo

Ha₂: El efecto de los jueces sobre la variable de respuesta es significativo

Modelo lineal general: CALIFICACIÓN vs. MUESTRA. PANELISTA

Análisis de varianza para CALIFICACIÓN, utilizando SC ajustada para pruebas

Fuente	GL	SC Sec.	SC Ajust.	CM Ajust.	F	P
MUESTRA	4	39,5067	39,5067	9,8767	25,52	0,000
PANELISTA	29	9,4733	9,4733	0,3267	0,84	0,694
Error	116	44,8933	44,8933	0,3870		
Total	149	93,8733				

Con un valor p menor a 0.05 ($p=0.000$) existe evidencia estadística suficiente para rechazar H_01 a favor de H_{a1} , por lo tanto al menos una muestra es diferente, a un nivel de confianza del 95%.

Con un valor p mayor a 0.05 ($p=0.694$) existe evidencia estadística suficiente para no rechazar H_02 a favor de H_{a2} , por lo tanto el efecto de los jueces no es significativo sobre la variable de respuesta.

Prueba de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95,0%

MUESTRA	N	Media	Agrupación
S3	30	5,8	A
S7	30	4,6	B
S2	30	4,6	B
S8	30	4,5	B
S4	30	4,4	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Se puede concluir de acuerdo a la prueba de Tukey que la muestra diferente es la S3, la cual tuvo una media de 5.8 puntos.

Las muestras S7, S2, S8 y S4 no presentaron diferencias significativas entre sí.

CAPÍTULO 5

5. VALORACIÓN SENSORIAL

5.1. Descripción del método

Dentro de los métodos afectivos tenemos la Prueba Hedónica con la que evaluaremos, de acuerdo con un criterio personal-subjetivo, cuánto agrada o desagrade la muestra presentada.

Este método tiene como objetivo el poder de observar, detectar y analizar el sabor de los aguacates y poder medir el grado de aceptación por parte del consumidor, mediante escalas hedónicas.

Luego de los primeros 5 días de experimentación, se separó una cantidad de muestra suficiente por corrida experimental – un aguacate –, para desarrollar los paneles de degustación. Se descartaron las muestras 1, 5 y 6 debido a que presentaba deterioro y manchas en la pulpa, por lo que el número de muestras se redujeron a 5.

- **Jueces**

El número de jueces fueron 30, escogidos aleatoriamente en las instalaciones de las oficinas administrativas de una industria procesadora de alimentos.

Los jueces deberán ser consumidores del producto en estudio, para que nos puedan comunicar su punto de vista con respecto al sabor de los aguacates.

Las evaluaciones se realizarán de la siguiente manera:

1. Las respuestas serán subjetivas.
2. Se pide al juez que luego de su primera impresión responda cuánto le agrada o desagrada el producto.

3. El resultado lo anotará en la hoja de respuestas entregada, de acuerdo a una escala verbal-numérica que va en la ficha.

- **Materiales**

Muestras de aguacate cortados en forma de cubo de aproximadamente 1 cm, pocillos de degustación de un solo color, cucharas, vasos desechables.

- **Preparación**

Las muestras para la degustación es preparada de la siguiente manera:

Se Coloca cada cubo de fruta en los cinco pocillos de degustación, y agua en vasos para neutralizar el sabor residual. Se indica a los panelistas que deben de paladear la muestra sin tragarla, registrar sus observaciones y tragarla. Después deberán de enjuagarse la boca con agua.

5.2. Hoja de respuestas

Nombre: _____ Fecha: _____

Producto : AGUACATE

Pruebe las muestras de aguacate que se le presentan e indique, **según su escala**, su opinión sobre ellas

Marque con una **X** el renglón que corresponda a la calificación para cada una

MUESTAS

ESCALA	7330	7251	4624	7229	5303
Me gusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____
Me gusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me gusta ligeramente	_____	_____	_____	_____	_____
Ni me gusta ni me disgusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta ligeramente	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios: _____

MUCHAS GRACIAS

5.3. Resultados de la evaluación sensorial

	3091	6041	4022	2803	3008
	S2	S3	S4	S7	S8
P1	5	6	5	6	4
P2	4	6	6	5	4
P3	5	6	5	5	4
P4	3	6	4	4	5
P5	5	5	4	4	4
P6	5	6	4	5	5
P7	5	6	5	5	5
P8	5	5	5	4	5
P9	5	6	4	4	5
P10	4	6	3	4	5
P11	4	6	5	4	3
P12	4	5	4	5	5
P13	5	5	4	4	5
P14	4	6	4	4	5
P15	4	6	5	5	3
P16	4	6	4	5	4
P17	4	6	5	4	5
P18	5	5	4	5	4
P19	5	6	5	4	3
P20	4	6	5	5	5
P21	5	6	5	4	5
P22	4	6	4	4	4
P23	4	6	4	5	4
P24	5	6	5	4	5
P25	5	6	4	5	5
P26	5	5	5	5	5
P27	5	6	3	6	4
P28	5	5	4	5	5
P29	5	6	3	4	4
P30	5	6	4	5	5

Tabla Nro.1. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

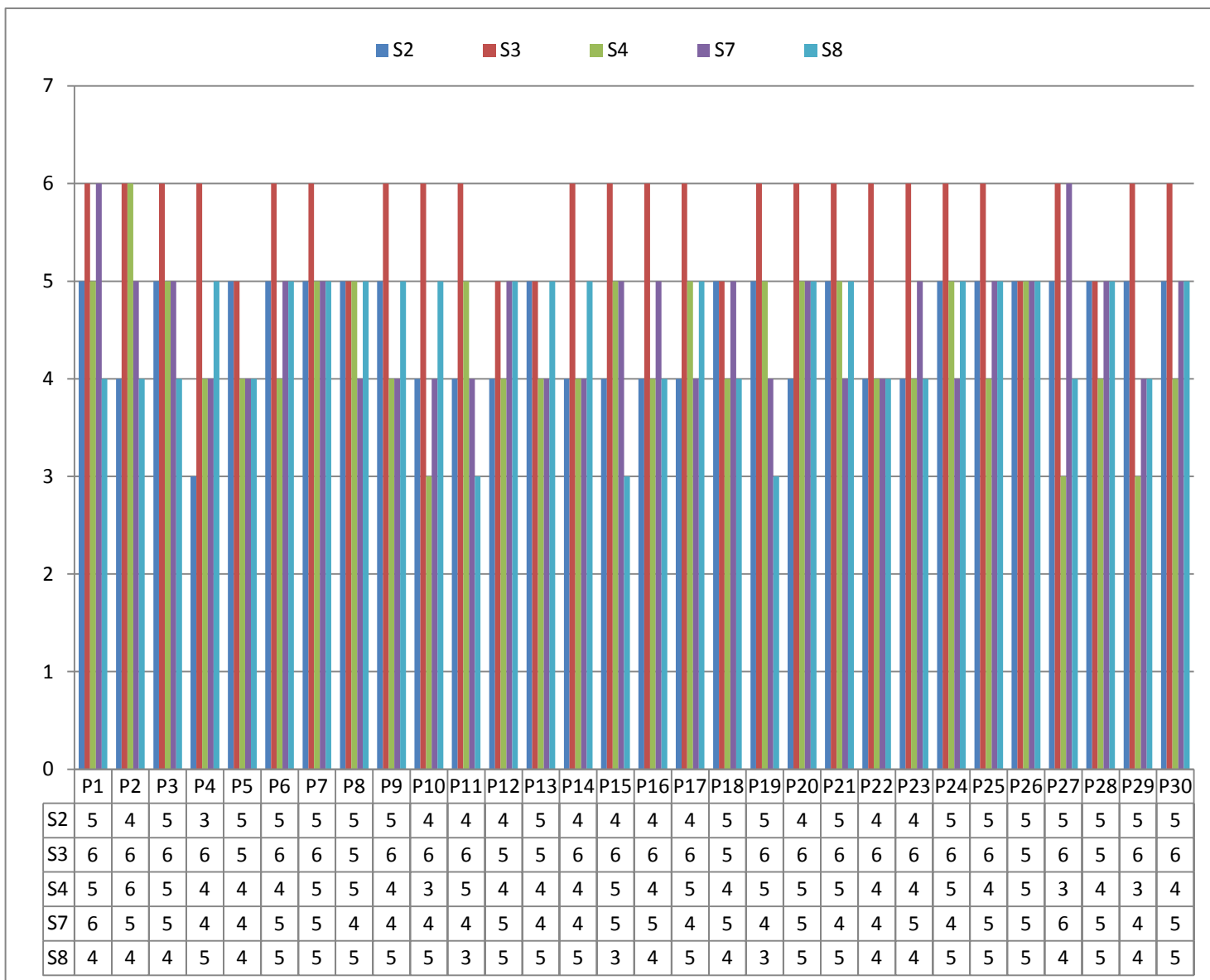


Gráfico Nro.1. María José Alvarado y Samuel Sánchez, 2012.

El 77% de los panelistas califico con la máxima puntuación (“Me gusta mucho”) la solución número 3, como podemos notar en el gráfico número 1, fueron las que presentaron mayor agrado, según nuestros panelistas.

CAPITULO 6

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El recubrimiento con polímeros naturales es una tecnología postcosecha que permite prolongar la vida útil, mejorar la calidad y generar valor agregado a frutas y hortalizas, frescas.

- Los recubrimientos han permitido reducir la pérdida de peso, la velocidad de respiración y la maduración, lográndose extender la vida comercial del producto y mejorar su apariencia; debido, a que ésta tecnología actúa como una atmosfera modificada, que restringe la transferencia de gases (O_2 , CO_2 y vapor de agua).
- Al recubrir un fruto u hortaliza para retardar la pérdida de humedad, es necesario que exista una cierta permeabilidad al oxígeno y el dióxido de carbono para evitar una respiración anaeróbica que podría inducir desórdenes fisiológicos y una pérdida rápida de la calidad y vida útil de los productos.

- La muestra que mayor pérdida de agua tuvo fue el patrón, la cual no tuvo ningún tipo de inmersión con ninguna solución, perdió al final del ensayo 115 gramos de peso.
- No hubo deshidratación osmótica con respecto al resto de muestras con inmersiones de soluciones polímero-antioxidante.
- Mediante un diseño de experimentos determinamos las ocho posibles combinaciones de soluciones con polímeros naturales de almidón y de yuca al 10% para cada uno y ácido ascórbico y metabisulfito de sodio como antioxidantes en proporciones de 0,25% y 0,50% respectivamente.

- Al 5to día se realizó un análisis sensorial con pruebas hedónicas para evaluar el sabor de las muestras de los aguacates, se descartaron las muestras 1, 5 y 6 debido a que presentaba deterioro y manchas en la pulpa, por lo que el número de muestras se redujeron a 5, la evaluación determino que la solución número 3 era la de mejor sabor.
- A los 7 y 14 días de almacenamiento en una habitación con corrientes de aire a $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, fueron realizadas pruebas físico químicas: humedad, sólidos solubles, acidez y colorimetría.
- A la muestra patrón de aguacate a los 0 días se le realizó un recuento e identificación de mohos y levaduras dónde se aislaron los siguientes géneros: *Colletotrichum* sp, *Cercospora* sp, *Fusarium* sp, *Phytophthora* sp.

- La polifenoloxidasas (PFO) está presente en el aguacate, pertenece al grupo de la oxidorreductasas. Se denomina también: fenolasa, tirosinasa, catalasa, cresolasa y se clasifica como 1,2-bencendiol: oxígeno oxido-reductasa, cuando se alteran los tejidos del vegetal o se daña, (golpes durante los procesos de pelado, corte, triturado para la preparación de jugos, congelación y deshidratación), se produce la reacción de oscurecimiento en el vegetal provocado por esta enzima.
- Las reacciones enzimáticas que tienen lugar en el oscurecimiento de vegetales se clasifican en, actividad cresolasa, actividad catecolasa y las o-quinonas.
- El empleo del ácido ascórbico funciona como reductor, reduciendo las o-quinonas a los o-difenoles originales.

- La solución número 3 empleada en el tratamiento de los aguacates retardó la degradación de la pulpa, obteniendo después de 5 días el color más parecido al patrón.
- Los análisis físico químicos humedad, sólidos solubles y acidez no determinaron suficiente diferencia entre las muestras a analizar.
- La solución número 3 (maíz al 10%, metabisulfito de sodio al 0,25% y ácido ascórbico al 0,25%), resultó ser la más efectiva ya que la pulpa tuvo el mejor sabor según la evaluación del análisis sensorial.
- No se pudieron analizar a los 14 días las muestras ya que no estaban en condiciones para el consumo.

- Se obtiene buenos resultados con la aplicación de polímeros naturales más antioxidantes en el tiempo de vida útil del aguacate, que habitualmente es de 2 o 3 días se lo pudo extender hasta 5 días a temperatura ambiente, lo que indica que se puede alargar si se cambian las condiciones ambientales de temperatura y humedad.

BIBLIOGRAFÍA

Bosques, M,E.; Vernon C, J.; Pérez F, L.; Guerrero L, I. Industria Alimentaria, 2.000.

Actas V Congreso Mundial del Aguacate. México 2003. Páginas 746-747.

Norma del CODEX para el aguacate. CODEX STAN 197, 1.995.

Sánchez - Colín, S. Nuevas tecnologías en el cultivo del aguacate, 1.989.

Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional (CEPROBI-IPN), Memorias del Curso: Actualización en Química y Nutrición del Almidón. Yautepec, Morelos, 2.001.

ANDERSON, R. et al. Gelatinization of corn griffts by roll and extrusion cooking, 1.969.

Badui, S. (2006). Química de los Alimentos. Cuarta edición, Pearson Educación, México, pp. 401-438.

ANEXOS

ANEXO 1

ANEXO 2

ANEXO 3

ANEXO 4

ANEXO 5

ANEXO 6

ASCORBIC ACID

Prepared at the 17th JECFA (1973), published in FNP 4 (1978) and in FNP 52 (1992). Metals and arsenic specifications revised at the 61st JECFA (2003). A group ADI 'not specified' was established for ascorbic acid and its Ca, K and Na salts at the 25th JECFA (1981).

SYNONYMS Vitamin C; INS No. 300

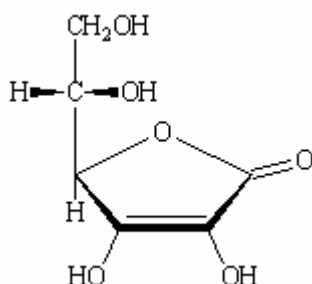
DEFINITION

Chemical names L-Ascorbic acid, ascorbic acid, 2,3-didehydro-L-threo-hexono-1,4-lactone, 3-keto-L-gulofuranolactone

C.A.S. number 50-81-7

Chemical formula $C_6H_8O_6$

Structural formula



Formula weight 176.13

Assay Not less than 99% on the dried basis

DESCRIPTION White to slightly yellow, odourless crystalline powder; melting point about 190° with decomposition

FUNCTIONAL USES Antioxidant

CHARACTERISTICS

IDENTIFICATION

Solubility (Vol. 4) Freely soluble in water; sparingly soluble in ethanol; insoluble in ether

Colour reaction To 2 ml of a 2.0% solution in water, add 2 ml of water, 0.1 g of sodium hydrogen carbonate and about 0.02 g of ferrous sulfate. Shake and allow to stand. A deep violet colour is produced which disappears on addition of 5 ml of dilute sulfuric acid TS.

Reducing reaction A solution of the sample in water immediately reduces potassium permanganate TS without heating, producing a brown precipitate

A solution of the sample in ethanol will decolourize a solution of 2,6-dichlorophenol-indophenol TS.

PURITY

Loss on drying (Vol. 4) Not more than 0.4% (over sulfuric acid in a vacuum, 24 h)

Specific rotation (Vol. 4) $[\alpha]_{25, D}$: Between +20.5 and +21.5°

pH (Vol. 4) 2.4 - 2.8 (1 in 50 soln)

Sulfated ash (Vol. 4) Not more than 0.1%

Lead (Vol. 4) Not more than 2mg/kg
Determine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described in Volume 4, "Instrumental Methods."

METHOD OF ASSAY

Dissolve about 0.400 g of the sample, previously dried in a vacuum desiccator over sulfuric acid for 24 hours, in a mixture of 100 ml of carbon dioxide-free water and 25 ml of dilute sulfuric acid TS. Titrate the solution at once with 0.1 N iodine, adding a few drops of starch TS as indicator as the end point is approached. Each ml of 0.1 N iodine is equivalent to 0.008806 g of $C_6H_8O_6$

SODIUM METABISULFITE

Prepared at the 53rd JECFA (1999) and published in FNP 52 Add 7 (1999), superseding tentative specifications prepared at the 51st JECFA (1998), published in FNP 52 Add 6 (1998). Group ADI 0-0.7 mg/kg bw as SO₂ for sulfite established at the 51st JECFA in 1998.

SYNONYMS

INS No. 223

DEFINITION

Chemical names Sodium disulfite, disodium pentaoxodisulfate, disodium pyrosulfite

C.A.S. number 7681-57-4

Chemical formula Na₂S₂O₅

Formula weight 190.11

Assay Not less than 90.0%

DESCRIPTION

White crystals or crystalline powder having an odour of sulfur dioxide

FUNCTIONAL USES Antibrowning agent, antioxidant, flour treatment agent, preservative

CHARACTERISTICS

IDENTIFICATION

Solubility (Vol. 4) Freely soluble in water; slightly soluble in ethanol

Test for sodium (Vol. 4) Passes test

Test for sulfite (Vol. 4) Passes test

PURITY

Water insolubles Dissolve 20 g of the sample in 200 ml of water. The solution should be clear with only a trace of suspended matter

pH (Vol. 4) 4.0 - 4.5 (1 in 10 soln)

Thiosulfate Not more than 0.1%
A 10% solution of the sample should remain clear on acidification with sulfuric or hydrochloric acid.

Iron (Vol. 4) Not more than 10 mg/kg
Proceed as directed in the Limit Test using 0.5 ml of Iron Standard Solution (5 µg Fe) in the control

Lead (Vol. 4) Not more than 2 mg/kg

Determine using an atomic absorption technique appropriate to the specified level. The selection of sample size and method of sample preparation may be based on the principles of the method described in Volume 4, "Instrumental Methods."

Selenium

Not more than 5 mg/kg
See description under TESTS

TESTS

PURITY TESTS

Selenium

Reagents:

Hydrochloric acid, hydrazinium sulfate, standard selenium solution (100 µg Se/ml)

Procedure

Weigh 2.0 ± 0.1 g of sample and transfer to a 50-ml beaker. Add 10 ml water, 5 ml hydrochloric acid and boil to remove SO_2 . Into a second beaker, weigh 1.0 ± 0.1 g of sample, add 0.05 ml standard selenium solution and proceed as above.

To each beaker add 2 g hydrazinium sulfate and warm to dissolve. Let stand for 5 min. Dilute the contents of each beaker to 50 ml in a Nessler tube and compare the colour of the two solutions. The sample should be less pink than the sample with the added standard.

METHOD OF ASSAY

Weigh 0.2 g of the sample to the nearest mg, add to 50.0 ml of 0.1 N iodine in a glass-stoppered flask, and stopper the flask. Allow to stand for 5 min, add 1 ml of hydrochloric acid, and titrate the excess iodine with 0.1 N sodium thiosulfate, adding starch TS as the indicator. Each ml of 0.1 N iodine is equivalent to 4.753 mg of $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$.



INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN

Quito - Ecuador

NORMA TÉCNICA ECUATORIANA

NTE INEN 1 755:2009
Primera revisión

FRUTAS FRESCAS. AGUACATE. REQUISITOS.

Primera Edición

FRESH FRUIT. AVOCADO. SPECIFICATIONS.

First Edition

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, frutas, frutas frescas, aguacate, requisitos.

AL 02.03-435
CDU: 634.65/.66
CIU: 1110
ICS: 67.080.10

**Norma Técnica
Ecuatoriana
Obligatoria**

**FRUTAS FRESCAS.
AGUACATE.
REQUISITOS.**

**NTE INEN
1 755:2009
Primera revisión
2009-08**

1 OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el aguacate, destinado para consumo en estado fresco, después de su madurez fisiológica.

2 ALCANCE

2.1 Esta norma se aplica a las variedades de aguacate Hass; pertenecen a la familia de las Lauráceas y su nombre científico es *Persea americana* Mill.

3 DEFINICIONES

3.1 Para los efectos de esta norma se adoptan las definiciones contempladas en la NTE INEN 1 751 y las que a continuación se detallan:

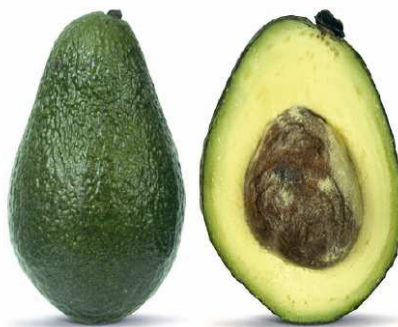
3.1.1 *Aguacate de la variedad Hass*. El fruto es de forma ovoide, de piel arrugada y textura corchosa, su color característico va del verde mate al negro, la masa varía de 140 g – 400 g, la semilla es pequeña de forma esférica. La pulpa es de color verde amarillento, suave y sin fibra (tipo mantequilla) el contenido de aceite oscila entre 20% - 23%.



3.1.2 *Aguacate de la variedad "Fuerte"*. Fruto de piel lisa en toda su superficie, de forma aperada o periforme y de color verde claro a verde oscuro, la masa varía de 170 g - 500 g, semilla de tamaño mediano, la corteza es de 1 mm de espesor, su pulpa es verde claro y no tiene fibra, el contenido de aceite oscila de 18% a 22%. Se lo conoce también con el nombre común de "guatemalteco" .

(Continúa)

DESCRIPTORES: Tecnología de los alimentos, frutas, frutas frescas, aguacate, requisitos.



3.1.3 Aguacate caído: Es el fruto que ha completado su madurez fisiológica y se desprende del árbol de una manera natural, no conserva el pedúnculo, se lesiona al caer, se contamina en el suelo por lo que se le considera desecho.

3.1.4 Fruto fuera de norma. Es aquel que no cumple con los requisitos establecidos en esta norma.

3.1.5 Fruto fresco. Producto que, luego de la recolección, no ha sufrido cambio alguno que afecte su maduración natural y mantiene sus cualidades organolépticas.

3.2 Madurez fisiológica. Madurez fisiológica es la etapa en la cual un fruto al ser cosechado puede continuar con su ontogenia y desarrollar las características gustativas óptimas.

3.3 Madurez de consumo. En esta etapa un tejido fisiológicamente maduro desarrolla cualidades organolépticas que lo vuelven apto para el consumo.

4. CLASIFICACIÓN

4.1 Independiente del calibre y del color, el aguacate se clasifica en tres categorías de calidad que se definen a continuación:

4.1.1 Categoría "extra". Los aguacates de esta categoría deben ser de calidad superior. Su forma y color deben ser característicos de la variedad. No deben tener defectos, salvo defectos superficiales muy leves de la cáscara, siempre y cuando no afecten al aspecto general del producto, su calidad, estado de conservación y presentación en el envase. Todos los frutos deben poseer pedúnculo

4.1.2 Categoría I. Los aguacates de esta categoría deben ser de buena calidad y poseer el color y la forma característicos de la variedad. Podrán permitirse, sin embargo, los siguientes defectos leves, siempre y cuando no afecten al aspecto general del producto, su calidad, estado de conservación y presentación en el envase:

- a) Defectos leves de forma y coloración;
- b) Defectos leves de la cáscara (suberosidad, lenticelas ya sanadas) y quemaduras producidas por el sol; la superficie total afectada no debe ser superior a 4 cm².

4.1.2.1 En ningún caso los defectos deben afectar a la pulpa del fruto. Cuando haya pedúnculo, podrá presentar daños leves en el receptáculo.

4.1.3 Categoría II. Esta categoría comprende los frutos que no pueden clasificarse en las categorías anteriores, pero satisfacen los requisitos mínimos especificados en 5.1. Se admiten los siguientes defectos, siempre y cuando los frutos conserven sus características esenciales en lo que respecta a su calidad, estado de conservación y presentación:

- a) Defectos de forma y coloración;

(Continúa)

b) Defectos de la cáscara (suberosidad, lenticelas ya sanadas) y quemaduras producidas por el sol; la superficie total afectada no debe superar 6 cm².

4.1.3.1 En ningún caso los defectos deben afectar a la pulpa del fruto. Cuando no haya pedúnculo, podrá presentar daños en el receptáculo.

4.1.4 *No clasificado*. Todo aguacate que no clasifica mínimo como calidad II.

4.2 Calibre. Se determina por la masa del fruto (ver 8.1); y se clasifica de acuerdo a:

TABLA 1. Clasificación para variedad “Fuerte”

Calibre	Masa unitaria, g
A (grande)	> 350
B (mediano)	225 – 350
C (pequeño)	< 225

TABLA 2. Clasificación para variedad “Hass”

Calibre	Masa unitaria, g
A (grande)	> 250
B (mediano)	180 - 250
C (pequeño)	< 180

4.3 Tolerancias. Se admiten tolerancias de calidad y tipo en cada unidad de empaque para los productos que no cumplan los requisitos de la categoría indicada.

4.3.1 Tolerancias de calidad

4.3.1.1 Categoría extra. Se admite hasta el 5% en número o en masa de frutos que no satisfagan los requisitos de esta categoría, pero cumplan los requisitos de la Categoría I.

4.3.1.2 Categoría I. Se admite hasta el 10% en número o en masa de frutos que no satisfagan los requisitos de esta categoría, pero cumplan los requisitos de la Categoría II.

4.3.1.3 Categoría II. Se admite hasta el 10% en número o en masa de frutos que no satisfagan los requisitos de ésta categoría, en esta categoría se admite máximo hasta el 20% en número o en masa de frutos sin pedúnculo.

4.3.2 Tolerancias de calibre. Para todas las categorías se acepta hasta el 10% en número o en masa de frutos, que corresponda al calibre inmediatamente inferior o superior, al señalado en el empaque.

5. DISPOSICIONES GENERALES

5.1 Homogeneidad. El contenido de cada envase debe ser homogéneo tanto en variedad, textura, color de la piel y de la pulpa, calibre y estar constituido únicamente por aguacates del mismo origen, La parte visible del contenido del envase debe ser representativa de todo el contenido.

5.2 El proveedor debe garantizar que la muestra inspeccionada cumpla con el tipo y categoría declarada en el rótulo o etiqueta del envase o embalaje.

(Continúa)

6. REQUISITOS

6.1 Requisitos generales

6.1.1 En todas las categorías, de conformidad con los requisitos especiales y las tolerancias permitidas, los aguacates deben:

- a) Estar enteros y exentos de daños mecánicos;
- b) Estar sanos, deben excluirse los productos afectados por podredumbre o deterioro que haga que no sean aptos para el consumo;
- c) Estar limpios y exentos de cualquier materia extraña visible;
- d) Estar exentos de plagas que afecten al aspecto general del producto;
- e) Estar exentos de daños causados por plagas;
- f) Estar exentos de daños causados por altas y bajas temperaturas;
- g) Tener un pedúnculo de longitud no superior a 10 mm, cortado limpiamente.;
- h) Estar exentos de humedad externa anormal, salvo la condensación consiguiente a su remoción de una cámara frigorífica;
- i) Estar exentos de cualquier olor y/o sabor extraños.

6.1.2 Los residuos de plaguicidas no deben exceder los límites máximos establecidos en el Codex Alimentarius o los exigidos por el país de destino.

6.1.3 El fruto maduro no debe tener sabor amargo.

6.2 Requisitos específicos. Los aguacates deben cumplir con los requisitos establecidos en la siguiente tabla:

TABLA 3. Requisitos físico químicos de los aguacates

	Madurez fisiológica	Madurez de consumo	Método de ensayo
Contenido de aceite, % m/m			Ver 8.2
Variedad Hass	11,0 – 12,0	> 17,0	
Variedad fuerte	7,0 – 8,0	> 15,0	
Acidez titulable (ácido tartárico), % m/m			NTE INEN 381
Variedad Hass	8 – 9	> 16	
Variedad fuerte	9 – 10	> 18	
Sólidos solubles, %			NTE INEN 380
Variedad Hass	6 – 7	> 8	
Variedad fuerte	5 – 6	> 8	
Penetrabilidad, kg/cm²			Ver 8.3
Variedad Hass	50 – 54	6 – 7	
Variedad fuerte	43 – 46	2 – 3	
Ph			NTE INEN 389
Variedad Hass	6,93 – 6,95	6,45 – 6,47	
Variedad Fuerte	6,69 – 6,73	6,55 – 6,57	

(Continúa)

6.4 Requisitos complementarios

6.4.1 El desarrollo y condición de los aguacates deben ser tales que les permitan:

- a) Soportar el transporte y la manipulación, y
- b) Llegar en estado satisfactorio al lugar de destino.

6.4.2 El producto debe ser cosechado con cuidado y su desarrollo debe haber alcanzado un estado fisiológico que asegure la continuidad en el proceso de maduración.

7. INSPECCIÓN

7.1 Muestreo. El muestreo del aguacate se realizará de acuerdo con la NTE INEN 1 750.

7.2 Aceptación y rechazo. Si la muestra inspeccionada no cumple con uno o más de los requisitos establecidos en esta norma, se rechaza. En caso de discrepancia, se repetirán los ensayos sobre la muestra reservada para tal fin. Cualquier resultado no satisfactorio, en este segundo caso, será motivo para considerar el lote como fuera de norma, y se debe rechazar el lote quedando su comercialización sujeta al acuerdo de las partes interesadas.

8. MÉTODO DE ENSAYO

8.1 Determinación del calibre. Se pesa el fruto en una balanza y el resultado se expresa en gramos (g).

8.2 Determinación del contenido de aceite (grasa). Se realiza utilizando el método de extracción Soxhlet, y el resultado se expresa en porcentaje de masa tal como se ofrece

8.3 Determinación de la penetrabilidad. Se determina sobre la cáscara del aguacate, utilizando un penetrómetro (embolo 5 mm) y el resultado se expresa en kg/cm^2 .

9. EMBALAJE

9.1 Los aguacates deben empacarse de tal manera que el producto quede debidamente protegido. El aguacate debe acondicionarse y comercializarse en cajas de madera, cartón corrugado, plástico, mallas limpias o de otro material adecuado que reúna las condiciones de calidad, higiene, limpieza, ventilación y resistencia necesarias para asegurar una manipulación, transporte y conservación apropiados a los aguacates. Los empaques deben estar exentos de cualquier materia y olor extraños.

9.2 El contenido de cada unidad de empaque debe ser homogéneo y estar compuesto únicamente por frutos de la misma zona, variedad, categoría, calibre y con un nivel de maduración uniforme. La parte visible del contenido del empaque debe ser representativa del conjunto.

9.3 Los empaques deben estar limpios y compuestos por materiales que no causan alteraciones al producto. Se acepta el uso de materiales, en particular papel o sellos con indicaciones comerciales, siempre y cuando estén impresos o etiquetados con tinta o pegamento no tóxicos y que permiten ser reciclados. El embalaje debe ser rotulado de acuerdo con el numeral 10.

9.4 Las características del embalaje de madera se encuentran establecidas en la NTE INEN 1 735, y para los productos de exportación deberán satisfacer las disposiciones que exigieren los países de destino.

9.5 La comercialización de este producto debe sujetarse con lo dispuesto en la Ley de Pesas y Medidas y las Regulaciones correspondientes.

(Continúa)

10. ROTULADO SE APRUEBA

10.1 Los envases deben llevar etiquetas o impresiones con caracteres legibles e indelebles redactados en español (sin perjuicio de que además se expresen en otro idioma) y colocadas en tal forma que no desaparezcan bajo condiciones normales de almacenamiento y transporte, debiendo contener la información mínima siguiente:

- a) Identificación del productor, exportador, empacador y/o distribuidor (marca comercial, nombre, dirección o código).
- b) Nombre y variedad del producto: AGUACATE (variedad...).
- c) Características comerciales: categoría, calibre, contenido neto expresado en unidades del Sistema Internacional.
- d) País de origen y región productora.
- e) Fecha de empaque.
- f) Impresión con la simbología que indique el manejo adecuado del producto.

10.2 Si se usan impresiones litográficas, éstas no deben estar en contacto con el producto.

(Continúa)

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 380	<i>Conservas vegetales. Determinación de sólidos solubles. Método refractométrico</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 381	<i>Conservas vegetales. Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico de referencia</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 389	<i>Conservas vegetales. Determinación de la concentración del ión hidrógeno (pH)</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 735	<i>Embalajes de madera para frutas y hortalizas. Requisitos.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 750	<i>Hortalizas y frutas frescas. Muestreo.</i>
Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 751	<i>Frutas frescas. Definiciones y clasificación.</i>
Codex Alimentarius	<i>Límites máximos del Codex para residuos de plaguicidas. Suplementos 1 y 2 CAC/Vol. XII Ed. 2 ó CAC/PR2 y CAC/PR3.</i>
Ley de pesas y medidas, su reglamento y sus regulaciones	

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Técnica Colombiana NTC 5209. *Frutas frescas. Aguacate variedades mejoradas. Especificaciones.* Instituto Colombiano de Normas Técnicas Colombianas (ICONTEC). Santa fe de Bogotá, 2003.

Norma Mexicana NMX-FF-016-SCFI-2002. *Productos alimenticios no industrializados para uso humano - Fruta fresca - Aguacate (Persea americana Mill) – Especificaciones (cancela a la NMX-FF-016-1995-SCFI).* México, 2002.

Norma Internacional CODEX STAN 197-1995, EMD. 1-2005 Norma del Codex para el aguacate.

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1755:1990 *Frutas frescas. Aguacate. Requisitos.* Instituto Ecuatoriano de Normalización, 1990.

Manual del cultivo del aguacate (Persea americana) para los valles interandinos del Ecuador. Ing. Agr. Juan León F. Proyecto fruticultura Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación COSUDE-INIAP. Tumbaco, 1999.

Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Escuela de Ingeniería Agroindustrial. *Tesis de Grado Determinación de las Características Físicas y Químicas del Aguacate Persea gratissima Gaerth.* Gladis Eulalia Espinosa Ortega, Ibarra 2005.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: TITULO: FRUTAS FRESCAS. AGUACATE. REQUISITOS . **Código:**
NTE INEN 1 755 **AL 02.03-435**
Primera revisión

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio:	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1990-09-13 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo No. 014 de 1991-01-09 publicado en el Registro Oficial No. 629 de 1991-02-25 Fecha de iniciación del estudio:
--	---

Fechas de consulta pública: de _____ a _____

Subcomité Técnico: **Frutas y hortalizas frescas**
Fecha de iniciación: 2005-03-31 Fecha de aprobación: 2006-10-18
Integrantes del Subcomité Técnico:

NOMBRES:

Ing. Franklin Hernández (Presidente)
Ing. César Mayorga

Ing. Andrés Sisalima
Ing. Diego Vela

Ing. Magdala Lema

Sra. Julia Caño

Ing. Juan León
Ing. Guillermo Cevallos
Ing. Clara Iza
Ing. Sonia Mejía
Ing. Wilfrido Salazar
Ing. María E. Dávalos (Secretaria Técnica)

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
SUBSECRETARÍA DE FOMENTO
AGROPRODUCTIVO MAG
FACULTAD DE INGENIERIA UTE
SUPERMERCADO "LA FAVORITA"
SUPERMAXI
MERCADO DE PRODUCTORES "SAN PEDRO
DE RIOBAMBA"
MERCADO DE PRODUCTORES "SAN PEDRO
DE RIOBAMBA"
INIAP
INIAP
SESA
ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL
MINISTERIO DE AGRICULTURA
INEN - REGIONAL CHIMBORAZO

Otros trámites:

El Directorio del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 2009-05-29

Oficializada como: Obligatoria Por Resolución No. 062-2009 de 2009-06-30
Registro Oficial No. 647 de 2009-08-03

**Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Baquerizo Moreno E8-29 y Av. 6 de Diciembre
Casilla 17-01-3999 - Telfs: (593 2)2 501885 al 2 501891 - Fax: (593 2) 2 567815**

Dirección General: E-Mail: direccion@inen.gov.ec

Área Técnica de Normalización: E-Mail: normalizacion@inen.gov.ec

Área Técnica de Certificación: E-Mail: certificacion@inen.gov.ec

Área Técnica de Verificación: E-Mail: verificacion@inen.gov.ec

Área Técnica de Servicios Tecnológicos: E-Mail: inencati@inen.gov.ec

Regional Guayas: E-Mail: inenguayas@inen.gov.ec

Regional Azuay: E-Mail: inencuenca@inen.gov.ec

Regional Chimborazo: E-Mail: inenriobamba@inen.gov.ec

URL: www.inen.gov.ec

Dry 2–5 g test portion, 920.175(a) (see 44.1.01), in flat dish (Ni, Pt, or Al with tight-fit cover), 2 h at <70°C (preferably 60°C), under pressure ≤50 mm Hg (6.7 kPa). Bleed oven with current of air (dried by passing through anhydrous CaSO₄, P₂O₅, or other efficient desiccant) during drying to remove H₂O vapor. Remove dish from oven, cover, cool in desiccator, and weigh. Redry 1 h and repeat process until change in weight between successive dryings at 1 h intervals is ≤2 mg.

B. Drying at Atmospheric Pressure
—Procedure 1960

(Applicable to cane and beet, raw and refined sugars.)

Dry ca 5 g test portion, 920.175(a) (see 44.1.01), in flat dish (Ni, Pt, or Al with tight-fit cover), 3 h at 100°C. Remove dish, cover, cool in desiccator, and weigh. Redry 1 h and repeat process until change in weight between successive dryings at 1 h intervals is ≤2 mg. For large-grain sugars, increase temperature to 105–110°C in final heating periods to expel last traces of occluded H₂O. Report loss in weight as H₂O.

C. Drying on Pumice Stone*
—Final Action
—Surplus 1989

(Applicable to massecuites, molasses, and other liquid and semi-liquid products.)

See 31.007, 14th Ed.

D. Drying on Quartz Sand
—Final Action

(Applicable to massecuites, molasses, and other liquid and semi-liquid products.)

Digest pure quartz sand that passes No. 40 but not No. 60 sieve with HCl, wash acid-free, dry, and ignite. Preserve in stoppered bottle. Place 25–30 g prepared sand and short stirring rod in dish ca 55 mm diameter and 40 mm deep, fitted with cover. Dry thoroughly, cover dish, cool in desiccator, and weigh immediately. Add enough diluted product of known weight to yield ca 1 g dry matter and mix thoroughly with sand. Heat on steam bath 15–20 min, stirring at 2–3 min intervals, or until mass becomes too stiff to manipulate readily. Dry at <70°C (preferably 60°C) under pressure ≤50 mm Hg (6.7 kPa), bleeding with dry air as in A. Make trial weighings at 2 h intervals toward end of drying period (ca 18 h) until change in weight is ≤2 mg.

For materials containing no fructose or other readily decomposable substance, dry 8–10 h at atmospheric pressure in oven at 100°C, cool in desiccator, and weigh, repeating heating and weighing until loss in 1 h heating is ≤2 mg. Report loss in weight as H₂O.

As dry sand, as well as dried sample, absorbs appreciable moisture on standing over most desiccating agents, make all weighings as quickly as possible after cooling in desiccator.

Reference: JAOAC 8, 255(1925).

44.1.04

AOAC Official Method 922.14
Solids in Syrups
First Action 1932
Final Action

A. By Means of Spindle

(Accurate only when applied to pure sucrose solutions, but extensively used for approximate results with liquid sugar products containing invert sugar and other nonsucrose solids.)

(a) *Direct*.—Density of juices, syrups, etc., is conveniently determined with Brix or Baumé hydrometer, preferably former as scale graduations agree closely with percent total solids. Table for comparison of degrees Brix (percent by weight of pure sucrose in pure solutions), degrees Baumé (modulus 145), specific gravity at 20/4°C, and specific gravity at 20/20°C is given in 942.33 (see Appendix C).

Use Brix spindle graduated in tenths and of appropriate range, and cylinder of sufficient diameter (≥12 mm larger than spindle bulb) to permit spindle to come to rest without touching sides. Solution should be at room temperature. If this varies >1°C from temperature at which spindle was graduated (20°C), apply correction according to 900.03 (see Appendix C). Before taking reading, let solution stand in cylinder until all air bubbles escape and all fatty or waxy materials come to top and are skimmed off. (Air bubbles may be conveniently removed by applying vacuum to cylinder by means of tube passing through stopper inserted in top of cylinder.) Lower spindle slowly into syrup; do not let syrup on spindle reach above syrup level.

(b) *Double dilution*.—If syrup is too dense to determine density directly, dilute weighed portion with weighed amount of H₂O, or dissolve weighed portion and dilute to known volume with H₂O. In first instance, percent total solids is calculated by following formula:

$$\text{Solids in undiluted material, \%} = \frac{WS}{w}$$

where *S* = percent solids in diluted material; *W* = weight diluted material; and *w* = weight syrup taken for dilution.

When dilution is made to definite volume, use following formula:

$$\text{Solids in undiluted material, \%} = \frac{VDS}{w}$$

where *V* = volume diluted solution at given temperature; *D* = specific gravity of diluted solution at same temperature; *S* = percent solids in diluted solution at same temperature; and *w* = weight syrup taken for dilution.

Calculation is simplified by mixing equal weights sugar product and H₂O, and multiplying Brix of solution by 2.

B. By Means of Pycnometer

(a) *Specific gravity (in vacuo or in air)*.—Determine specific gravity of solution at 20/4°C, 20/20°C in vacuo, or 20/20°C in air as in 945.06C (see 26.1.06), using either pycnometers described in 945.06A(b) (see 26.1.06) or other suitable type. Apply air buoyancy correction to specific gravity in air and determine percent by weight of solids as sucrose from appropriate table, 942.33 (see Appendix C) or 962.37 (see Appendix C). When density of substance is too high for direct determination, dilute and then calculate sucrose content of original material as in A(b).

(b) *Specific gravity of molasses*.—Use special calibrated 100 mL volumetric flask with neck ca 8 mm id. Weigh empty flask and then fill with molasses, using long-stem funnel reaching below graduation mark, until level of molasses is up to lower end of neck of flask. (Flow of molasses may be stopped by inserting glass rod of suitable size into funnel so as to close stem opening.) Carefully remove funnel to prevent molasses from coming in contact with neck, and weigh flask and molasses. Add H₂O almost to graduation mark, running it down side of neck to prevent mixing with molasses. Let stand several h or overnight for bubbles to escape. Place flask in constant temperature H₂O bath, preferably at 20°C, and leave until it reaches bath temperature.

Dilute to volume at that temperature with H₂O. Weigh. Reduce weight molasses to in vacuo and calculate density. Obtain corresponding Brix or Baumé reading from 942.33 (see Appendix C).

Example:

X, weight H₂O content of flask at 20°C in vacuo = 99.823 g

Y, weight molasses at 20°C in vacuo = 132.834 g

Z, weight molasses and H₂O at 20°C in vacuo = 137.968 g

X - (Z - Y) = weight H₂O occupying space of molasses in vacuo = 94.689 g

$$\frac{132.834}{94.689} = 1.403 \text{ specific gravity } \left(\frac{20^\circ}{20^\circ} \right) \text{ molasses}$$

References: *JAOAC* 15, 195(1932); 18, 83(1935).

C. By Means of Refractometer

(Applicable only to liquids containing no undissolved solids.)

Soluble solids by refractometric method is that concentration by weight of sucrose in solution that has same refractive index (*n*) as solution analyzed. Use instrument with scale graduated at least in 0.001 units or 0.5% sucrose, permitting estimation to 0.0007*n* or 0.25%, respectively. Adjust instrument to read *n* of 1.3330 or 0% sucrose with H₂O at 20°C.

Determine refractometer reading of solution at 20°C and obtain corresponding percent dry substance from either direct reading, if sugar refractometer is used, or from 990.35 (see Appendix C), if instrument gives readings in terms of refractive index. Circulate H₂O at constant temperature, preferably 20°C, through jackets of refractometer or through trough of immersion instrument, long enough to let temperature of prisms and of syrup reach equilibrium, continuing circulation during observations and taking care that temperature is held constant.

If determination is made at temperature other than 20°C, or if humidity causes condensation of moisture on exposed faces of prisms, make measurements at room temperature and correct readings to standard temperature of 20°C from 990.36 (see Appendix C). If solution is too dark to be read in instrument, dilute with concentrated sugar solution; never use H₂O for this purpose. Mix weighed amounts of solution under examination and solution of pure sugar of about same strength, and calculate percent dry substance in former = [(W + B)C - BD]/W, where W = weight (g) syrup mixed with B; B = weight (g) sugar solution used in dilution; C = percent dry substance in mixture W + B obtained from refractive index; and D = percent dry substance in pure sugar solution obtained from its refractive index.

For liquid products containing invert sugar, correct percent solids obtained from 990.35 (see Appendix C) by adding 0.022 for each percent invert sugar in product.

References: *JAOAC* 15, 79(1932); 16, 81(1933); 17, 74(1934); 41, 621(1958); 73, 124(1990).

Revised: June 2000

44.1.05

AOAC Official Method 900.02
Ash of Sugars and Syrups
First Action 1900
Final Action

A. Method 1*
—Surplus 1989

See 31.012, 14th Ed.

B. Method 11*
—Surplus 1989

See 31.013, 14th Ed.

C. Sulfated Ash

Weigh 5 g test portion into 50–100 mL Petri dish, add 5 mL 10% (by weight) H₂SO₄, heat on hot plate until product is well carbonized, and then ash in furnace at ca 550°C. Cool, add 2–3 mL 10% H₂SO₄, evaporate on steam bath, dry on hot plate, and again ignite at 550°C to constant weight. Express result as percent sulfated ash.

D. Soluble and Insoluble Ash*
—Surplus 1989

See 31.015, 14th Ed.

E. Alkalinity of Soluble Ash*
—Surplus 1989

See 31.016, 14th Ed.

F. Alkalinity of Insoluble Ash*
—Surplus 1989

See 31.017, 14th Ed.

G. Mineral Adulterants in Ash*
—First Action
—Surplus 1989

See 31.018, 14th Ed.

44.1.06

AOAC Official Method 920.176
Nitrogen in Sugars and Syrups
Kjeldahl Method
First Action 1920
Final Action

Place 5 g test portion in digestion flask. Add 0.7 g HgO or 0.65 g metallic Hg, 15 g powdered K₂SO₄ or anhydrous Na₂SO₄, and 25 mL H₂SO₄. Use larger volume of H₂SO₄ if necessary for complete digestion. Place flask in inclined position and heat gently until frothing ceases (if necessary, add small amount of paraffin to reduce frothing); boil briskly until solution clears and then ≥30 min longer (2 h for test portions containing organic material).

Cool, add ca 200 mL H₂O, cool <25°C, add 25 mL of the sulfide or thiosulfate solution, and mix to precipitate Hg. Add few Zn granules to prevent bumping, tilt flask, and add layer of NaOH without agitation. (For each 10 mL H₂SO₄ used, or its equivalent in diluted H₂SO₄, add 15 g solid NaOH or enough solution to make contents strongly alkaline.) (Thiosulfate or sulfide solution may be mixed with the NaOH solution before addition to flask.) Immediately connect flask to distilling bulb on condenser, and, with tip of condenser immersed in standard acid and 5–7 drops indicator in receiver, rotate flask to mix contents thoroughly; then heat until all NH₃ has distilled (≥150 mL distillate). Remove receiver, wash tip of condenser, and titrate excess standard acid in distillate with standard NaOH solution. Correct for blank determination on reagents.

$$N, \% = \frac{[(\text{mL standard acid} \times \text{normality acid}) - (\text{mL standard NaOH} \times \text{normality NaOH})]}{\times 1.4007/\text{g test portion}}$$

37.1.37

AOAC Official Method 942.15
Acidity (Titratable) of Fruit Products
First Action 1942

A. Indicator Method
—Final Action 1965

Titratable acidity can be expressed conventionally in g acid per 100 g or per 100 mL product, as appropriate, by using the factor appropriate to the acid; for malic acid use 0.067 as factor; oxalic acid, 0.045; citric acid monohydrate, 0.070; tartaric acid, 0.075; sulfuric acid, 0.049; acetic acid, 0.060; lactic acid, 0.090.

(a) *Colorless or slightly colored solutions.*—Dilute to ca 250 mL, with neutralized or recently boiled H₂O, 10 g prepared juice, 920.149(a) (see 37.1.07), or 25 mL prepared solution, 920.149(b) or (c) (see 37.1.07). Titrate with 0.1M alkali, using 0.3 mL phenolphthalein for each 100 mL solution being titrated, to pink persisting 30 s. Report as mL 0.1M alkali/100 g or 100 mL original material.

(b) *Highly colored solutions.*—Dilute test sample of known weight with neutralized H₂O and titrate to just before end point with 0.1M alkali, using 0.3 mL phenolphthalein for each 100 mL solution being titrated. Transfer measured volume (2 or 3 mL) of solution into ca 20 mL neutral H₂O in small beaker. (In this extra dilution, color of fruit juice becomes so pale that phenolphthalein color is easily seen.) If test shows that end point is not reached, pour extra diluted portion back into original solution, add more alkali, and continue titration to end point. By comparing dilutions in small beakers, differences produced by few drops 0.1M alkali can be easily observed.

B. Glass Electrode Method
—Final Action 1980

Before use, check apparatus with standard buffer solutions, 964.24 (see A.1.04) and Table 964.24 (see A.1.04). Rinse glass electrode in H₂O several times until reading is ca pH 6. Immerse electrodes in test sample contained in beaker. (Test sample should titrate 10–50 mL 0.1M NaOH and be contained in initial volume of 100–200 mL.) Stir moderately. Add alkali quite rapidly until near pH 6. Then add alkali slowly to pH 7. After pH 7 is reached, finish titration by adding 0.1M alkali 4 drops at time, and record total volume and pH reading after each addition. (Add whole drops, so that fraction of drop does not remain on buret tip.) Continue titration ≥4 drops beyond pH 8.1, and interpolate data for titration corresponding to pH 8.1. pH values used for interpolation should lie in range 8.10 ± 0.2.

[Notes: (1) Always keep glass electrode covered with H₂O when not in use. (2) If strongly acid cleaning solutions are used, electrode requires several h to come to equilibrium on standing in H₂O. (3) If electrode and stirrer are wiped lightly with piece of filter paper before insertion into standard buffer, same solution may be used for several checks on instrument.]

References: JAOAC 25, 412(1942); 28, 507(1945); 71, 86(1988).

37.1.38

AOAC Official Method 925.34
Acidity (Volatile) of Fruit Products
Steam Distillation Method
First Action 1925
Final Action

Dissolve 10 g test sample, dilute to 25 mL, and steam distil as in 964.08C (see 28.1.30). 1 mL 0.1M alkali = 0.0060 g CH₃COOH.

37.1.39

AOAC Official Method 910.03 *
Tartaric Acid (Total)
In Fruits and Fruit Products

Bitartrate Method
First Action 1910
Final Action
Surplus 1975

See 22.063–22.065, 12th Ed.

Sections 22.063–22.065 were modified as follows: Replace “asbestos pad” with “glass fiber filter.”

Revised: March 1996

37.1.40

AOAC Official Method 943.03 *
Citric Acid In Fruits
and Fruit Products

Pentabromacetone Method
First Action 1943
Final Action
Surplus 1975

See 22.066–22.069, 12th Ed.

Sections 22.066–22.069 were modified as follows: Replace “asbestos pad” with “glass fiber filter.”

Revised: March 1996

37.1.41

AOAC Official Method 954.07 *
Malic Acid (Levo- and Inactive)
in Fruits and Fruit Products

Titrimetric Method
First Action 1954
Surplus 1975

See 22.070–22.073, 12th Ed.

37.1.42

AOAC Official Method 957.12 *
Citric and Isocitric Acids
in Fruits and Fruit Products

Chromatographic Method
First Action 1957
Surplus 1975

See 22.074–22.077, 12th Ed.

37.1.43

AOAC Official Method 932.13 *
Levo-Malic Acid
in Fruits and Fruit Products

A. Method I
—First Action
Surplus 1975

See 22.078–22.080, 12th Ed.



LABORATORIOS LAZO

SU SOCIO EN EL CONTROL DE CALIDAD

Cdla. IETEL, Av. Fco. de Orellana 1007, Edif. Bauhaus, oficina 10. Telef.: 2 - 640118. 2 - 279947

INFORME DE ENSAYO

ORDEN DE ENSAYO : 371
MUESTRA : 2012 - 2796
CLIENTE : Ing. MARIA JOSE ALVARADO
DIRECCIÓN : Cdla. Kennedy Av Francisco Boloña N° 204
MUESTRA : AGUACATE
FECHA DE RECEPCIÓN : 25 de Junio del 2012
FECHA DE INICIO DE ENSAYO : 25 de Junio del 2012
FECHA DE TÉRMINO DE ENSAYO : 09 de Julio del 2012

ANÁLISIS - MICROBIOLÓGICO

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADOS	METODO DE ENSAYO
Recuento de mohos y levaduras	UFC / g	68.6 x 10 ¹	PEE 03 Método de referencia BAM 2001 - Cap 18
Identificación de Genero de Hongos		Colletotrichum sp	Observación Microscópica
		Cercospora sp	
		Fusarium sp	
		Phytosphthora sp	

ANÁLISIS - FISICO QUIMICO

PARÁMETRO	RESULTADO	METODO DE ENSAYO
Acidez	1.2 % expresado como Acido Cítrico	AOAC 18 - 942.15

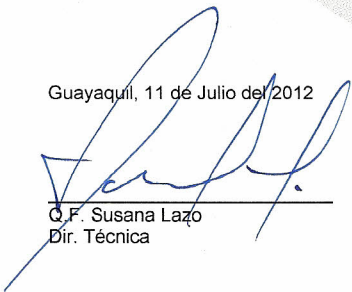
Comentario: El ensayo de Acidez fue realizado en la pulpa del aguacate.


Observaciones:

Los resultados corresponden a la muestra analizada.

Este informe no se puede reproducir, excepto totalmente, sin una autorización escrita de Laboratorios Lazo

Guayaquil, 11 de Julio del 2012


Q.F. Susana Lazo
Dir. Técnica


Q.F. Susana Tumbaco
Jefe de Calidad

cc

April 2001

Bacteriological Analytical Manual

Chapter 18

Yeasts, Molds and Mycotoxins

Authors: Valerie Tournas, Michael E. Stack, Philip B. Mislivec, Herbert A. Koch and Ruth Bandler

The large and diverse group of microscopic foodborne yeasts and molds (fungi) includes several hundred species. The ability of these organisms to attack many foods is due in large part to their relatively versatile environmental requirements. Although the majority of yeasts and molds are obligate aerobes (require free oxygen for growth), their acid/alkaline requirement for growth is quite broad, ranging from pH 2 to above pH 9. Their temperature range (10-35°C) is also broad, with a few species capable of growth below or above this range. Moisture requirements of foodborne molds are relatively low; most species can grow at a water activity (a_w) of 0.85 or less, although yeasts generally require a higher water activity.

Both yeasts and molds cause various degrees of deterioration and decomposition of foods. They can invade and grow on virtually any type of food at any time; they invade crops such as grains, nuts, beans, and fruits in fields before harvesting and during storage. They also grow on processed foods and food mixtures. Their detectability in or on foods depends on food type, organisms involved, and degree of invasion; the contaminated food may be slightly blemished, severely blemished, or completely decomposed, with the actual growth manifested by rot spots of various sizes and colors, unsightly scabs, slime, white cottony mycelium, or highly colored sporulating mold. Abnormal flavors and odors may also be produced. Occasionally, a food appears mold-free but is found upon mycological examination to be contaminated. Contamination of foods by yeasts and molds can result in substantial economic losses to producer, processor, and consumer.

Several foodborne molds, and possibly yeasts, may also be hazardous to human or animal health because of their ability to produce toxic metabolites known as mycotoxins. Most mycotoxins are stable compounds that are not destroyed during food processing or home cooking. Even though the generating organisms may not survive food preparation, the preformed toxin may still be present. Certain foodborne molds and yeasts may also elicit allergic reactions or may cause infections. Although most foodborne fungi

are not infectious, some species can cause infection, especially in immunocompromised populations, such as the aged and debilitated, HIV-infected individuals, and persons receiving chemotherapy or antibiotic treatment.

The dilution plating and the direct plating methods may be used to detect fungi in foods. The direct plating method is more efficient than the dilution plating method for detecting individual mold species, including most of the toxin producers, but it is less effective in detecting yeasts. It is also used to determine whether the presence of mold is due to external contamination or internal invasion. Methodology for testing the ability of isolates of toxigenic mold species to produce mycotoxins on sterile rice water substrate is included here.

Enumeration of Yeasts and Molds in Food--Dilution Plating Technique

A. Equipment and materials

1. Basic equipment (and appropriate techniques) for preparation of sample homogenate, see [Chapter 1](#)
2. Equipment for plating samples, see [Chapter 3](#)
3. Incubator, 25°C
4. Arnold steam chest
5. pH meter
6. Water bath, 45 ± 1° C

B. [Media](#) and [reagents](#)

Media

1. Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar ([M183](#))
2. Dichloran 18% glycerol (DG18) agar ([M184](#))
3. Plate count agar (PCA), standard methods ([M124](#)); add 100 mg chloramphenicol/liter when this medium is used for yeast and mold enumeration. This medium is not efficient when "spreader" molds are present.
4. Malt agar (MA)([M185](#))
5. Malt extract agar (Yeasts and Molds) (MEAYM)([M182](#))
6. Potato dextrose agar (PDA), dehydrated; commercially available ([M127](#))

Antibiotic solutions

Antibiotics are added to mycological media to inhibit bacterial growth. Chloramphenicol is the antibiotic of choice, because it is stable under autoclave conditions. Therefore, media preparation is easier and faster due to the elimination of the filtration step. The recommended concentration of this antibiotic is 100 mg/liter medium. If bacterial overgrowth is apparent,

prepare media by adding 50 mg/liter chloramphenicol before autoclaving and 50 mg/liter filter-sterilized chlortetracycline when the media have been tempered, right before pouring plates.

Prepare stock solution by dissolving 0.1 g chloramphenicol in 40 ml distilled water; add this solution to 960 ml medium mixture before autoclaving. When both chloramphenicol and chlortetracycline are used, add 20 ml of the above chloramphenicol stock solution to 970 ml medium before autoclaving. Then, prepare chlortetracycline stock solution by dissolving 0.5 g antibiotic in 100 ml distilled water and filter sterilize. Use 10 ml of this solution for each 990 ml of autoclaved and tempered medium. Refrigerate in the dark and re-use remaining stock solutions for up to a month. Stock solutions should be brought to room temperature before adding to tempered medium.

C. Procedures

Sample preparation

Analyze 25-50 g from each subsample; generally, larger sample sizes increase reproducibility and lower variance compared with small samples. Test individual subsamples or composite according to respective Compliance Program for the food under analysis. Add appropriate amount of 0.1% peptone water to the weighed sample to achieve 10^{-1} dilution, then homogenize in a stomacher for 2 min. Alternatively, blending for 30-60 sec can be used but is less effective. Make appropriate 1:10 (1+9) dilutions in 0.1% peptone water. Dilutions of 10^{-6} should suffice.

Plating and incubation of sample

Spread-plate method. Aseptically pipet 0.1 ml of each dilution on pre-poured, solidified DRBC agar plates and spread inoculum with a sterile, bent glass rod. DG18 is preferred when the water activity of the analyzed sample is less than 0.95. Plate each dilution in triplicate.

Pour-plate method. Use sterile cotton-plugged pipet to place 1.0 ml portions of sample dilution into pre-labeled 15 x 100 mm Petri plates (plastic or glass), and immediately add 20-25 ml tempered DG18 agar. Mix contents by gently swirling plates clockwise, then counterclockwise, taking care to avoid spillage on dish lid. After adding sample dilution, add agar within 1-2 min; otherwise, dilution may begin to adhere to dish bottom (especially if sample is high in starch content and dishes are plastic) and may not mix uniformly. Plate each dilution in triplicate.

From preparation of first sample dilution to pouring or surface-plating of final plate, no more than 20 min (preferably 10 min) should elapse. **Note:** Spread plating of diluted sample is considered better than the pour plate method. When the pour plate technique is used, fungal colonies on the surface grow

faster and often obscure those underneath the surface, resulting in less accurate enumeration. Surface plating gives a more uniform growth and makes colony isolation easier. DRBC agar should be used for spread plates only.

Incubate plates in the dark at 25°C. Do not stack plates higher than 3 and do not invert. **Note:** Let plates remain undisturbed until counting.

Counting of plates

Count plates after 5 days of incubation. If there is no growth at 5 days, re-incubate for another 48 h. Do not count colonies before the end of the incubation period because handling of plates could result in secondary growth from dislodged spores, making final counts invalid. Count plates containing 10-150 colonies. If mainly yeasts are present, plates with 150 colonies are usually countable. However, if substantial amounts of mold are present, depending on the type of mold, the upper countable limit may have to be lowered at the discretion of the analyst. Report results in colony forming units (CFU)/g or CFU/ml based on average count of triplicate set. Round off counts to two significant figures. If third digit is 6 or above, round off to digit above (e.g., 456 = 460); if 4 or below, round off to digit below (e.g., 454 = 450). If third digit is 5, round off to digit below if first 2 digits are an even number (e.g., 445 = 440); round off to digit above if first 2 digits are an odd number (e.g., 455 = 460). When plates from all dilutions have no colonies, report mold and yeast counts (MYC) as less than 1 times the lowest dilution used.

Isolate individual colonies on PDA or MA, if further analysis and species identification is necessary.

Enumeration of Molds in Foods--Direct Plating Technique for Foods That Can Be Handled with Forceps (Dried Beans, Nuts, Whole Spices, Coffee and Cocoa Beans, etc.)

A. Equipment and materials

1. Freezer, -20° C
2. Beakers, sterile, 300 ml
3. Forceps, sterile
4. Arnold steam chest
5. Water bath, 45 ± 1° C
6. Incubator, 25° C

B. Media and reagents

1. Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar ([M183](#))
2. Dichloran 18% glycerol (DG18) agar ([M184](#))

3. Antibiotic solutions (see previous section)
4. NaOCl (commercial bleach) solution, 10%
5. Sterile distilled water

C. **Analysis of non-surface-disinfected (NSD) foods**

Sample and media preparation

Before plating, hold sample at -20° C for 72 h to kill mites and insects that might interfere with analysis.

Prepare DRBC agar as described in the appendix. If DRBC is not available, or the water activity of the analyzed sample is less than 0.95, use DG18 agar. Media should be prepared no more than 24 h prior to use.

Plating and incubation of sample

From each sample, transfer about 50 g into a sterile 300 ml beaker. Using 95% ethanol-flamed forceps place intact food items on surface of solidified agar, 5-10 items per plate (depending on size of food item) 50 items total per sample.

Flame forceps between plating of each item. Use several forceps alternately to avoid overheating. Do not plate visibly moldy or otherwise blemished items.

Align 3-5 plates in stacks and identify with sample number plus date of plating. Incubate stacks, undisturbed in the dark at 25°C for 5 days. If there is no growth at 5 days of incubation, re-incubate for another 48 h to allow heat- or chemically-stressed cells and spores enough time to grow.

Reading of plates

Determine occurrence of mold in percentages. If mold emerged from all 50 food items, moldiness is 100%; if from 32 items, moldiness is 64%.

Determine percent occurrence of individual mold genera and species in like manner. Experienced analysts may identify *Aspergillus*, *Penicillium* and most other foodborne mold genera directly on medium with low power (10-30X) magnification.

D. **Analysis of surface-disinfected (SD) foods**

Perform disinfection in clean laboratory sink, not stainless steel, free from any acid residues, with tap water running (precautions against chlorine gas generation). Wear rubber gloves and transfer about 50 g of sample into a sterile 300 ml beaker. Cover with 10% chlorine (commercial bleach) solution for 2 min, while swirling beaker contents gently but constantly in clockwise-counter-clockwise motion. Decant 10% chlorine solution and give beaker

contents two 1-min rinses with sterile distilled water. Prepare plates; plate sample, incubate, and read plates as in non-surface disinfected direct plating method, above. Compare NSD and SD results from the same sample to determine if moldiness was due mainly to surface contamination or to internal invasion and growth. Isolate individual colonies on PDA or MA.

Fluorescence Microscopy Procedure for Quantitation of Viable and Nonviable Yeasts in Beverages

Methods for counting viable yeasts by plating are described above. A direct microscopic procedure for counting nonviable and viable yeasts in beverages and other liquid samples is presented here. Quantitating yeast cells by microscopy eliminates the need for extended incubation, thus reducing the analytical time required. All yeasts can be counted, and living and dead yeast cells can be differentiated.

A. Equipment and materials

1. Millipore disk filter holders for standard syringes
2. Millipore filters: AABG, 0.8 μm , black, gridded; 25 mm diameter
3. Syringes, disposable
4. Pipets
5. Forceps
6. Bibulous paper
7. Microscope slides and 24 x 24 mm coverslips
8. Fluorescence microscope: blue excitation; 10X eyepieces with Howard mold count or other eyepiece grid; 20X or 40X objective

B. Reagents

1. Aniline blue; 1% in M/15 K_2HPO_4 (M/15 is equivalent to 11.6 g/L), adjusted to pH 8.9 with K_3PO_4 . A stock solution can be made; age improves fluorescence.
2. NaOH; 25 g in 100 ml water

C. Sample preparation for filterable liquids (e.g. water and grape juice)

Filter aliquot (usually 10 ml) of sample through Millipore filter (AABG, 0.8 μm , black, gridded). (Portion size can be increased or decreased, depending on level of contamination). Use Millipore disk filter holder which attaches to standard syringe. Make sure that syringe is accurate. If not, remove plunger, attach syringe to filter holder, and pipette 10 ml into syringe. Press all of sample through filter. Do this with air cushion of about 3 ml between plunger and sample. Keep filter holder vertical to ensure even distribution of sample over filter. Remove filter from filter holder and place on microscope slide; grid should be parallel to edges of slide to facilitate counting.

D. Sample preparation for non-filterable liquids that clog the filter (e.g. orange juice)

To suppress background interference in fluorescence microscope, mix 4 ml sample with 1 ml sodium hydroxide (25 g in 100 ml water). Shake well and wait 10 min. Place Millipore filter (AABG, 0.8 μm , black, gridded) on a piece of bibulous paper and spread 0.1 or 0.01 ml (depending on level of contamination) of sample over filter. When filter surface is dry, place filter on microscope slide, keeping grid parallel to edges of slide to facilitate counting.

E. Microscopic counting procedure

Cover filter with a drop of aniline blue, 1% in M/15 (11.6 g/L) K_2HPO_4 , adjusted to pH 8.9 with K_3PO_4 . Spread aniline blue stain over whole filter with glass rod or coverslip without touching filter itself. Wait about 5 min; then cover filter with 24 x 24 mm coverslip.

Count yeasts, using fluorescence microscope with blue excitation. Use 10X eyepiece with Howard mold count or other eyepiece grid, and 20X (or 40X) objective. Count 3 squares of eyepiece grid in each field of filter not covered by gasket. Count budding yeasts as 1 cell if daughter cell is obviously smaller than mother cell. If they are approximately equal in size, count them as 2 cells. Count all yeasts located completely within an eyepiece square and all yeasts touching left and lower border of eyepiece square. Do not count yeasts touching right and upper borders.

This method also differentiates dead (heat- or formaldehyde-killed) and living yeast cells. Dead cells show fairly uniform fluorescence, and plasma may be granular. In living cells, the cell wall stains brighter and is more defined than the plasma, which is less prominent and uniformly stained.

F. Calculations to determine number of yeasts per ml

Determine area of filter covered by 1 square of eyepiece grid, using objective (stage) micrometer. For filtered samples, the working area of the Millipore filter (portion not covered by the gasket) is 380 mm^2 . For nonfiltered samples, it is the entire filter, or 491 mm^2 , since no gasket is used.

No. of yeasts per ml =

$$\frac{\text{No. of yeasts counted}}{\text{No. of eyepiece squares examined}} \times \frac{\text{working area of filter}}{\text{area of one eyepiece square}} \times \frac{1}{\text{volume of liquid}}$$

- G. **NOTE:** For non-filterable liquids, volume includes only net amount used and not volume of NaOH added (i.e., 80% of total volume applied to filter).
- H. For background information on the method, including photographs of dead and living yeast cells, **see** Koch et al., ref. 8, below.

Methods for Determining Toxin Production by Molds

A. Equipment and materials

1. Erlenmeyer flasks, 300 ml, wide-mouth
2. Cotton, nonabsorbent
3. Funnels, short-stem glass, 90-100 mm diameter
4. Filter paper, 18 cm diameter, folded (Schleicher & Schuell No. 588)
5. Boiling chips, silicon carbide
6. Fume hood equipped with steam bath; air-flow rate, 100 cubic ft/min
7. Blender, high speed, explosion-proof
8. Thin layer chromatographic apparatus or high-performance liquid chromatograph
9. Incubator, 22-25°C

B. Media and reagents

1. Long or short grain polished rice
2. Chloroform for extraction of aflatoxins, ochratoxins, sterigmatocystin, xanthomegnin, luteoskyrin, patulin, penicillic acid, citrinin, T-2 toxin, zearalenone
3. Methanol for extraction of deoxynivalenol
4. Appropriate mycotoxin standards
5. NaOCl solution, 5%

C. Toxin production

Into 300 ml wide-mouth Erlenmeyer flask, add 50 g rice and 50 ml distilled water. Plug flasks with cotton and autoclave 20 min at 121°C and 15 psi. Aseptically multispore-inoculate separate cooled flasks with individual mold isolates. Incubate inoculated flasks at 22-25°C until entire surface is covered with growth, and mycelium has penetrated to bottom of flask (15-20 days). To each flask, add 150 ml chloroform (150 ml methanol if toxin in question is deoxynivalenol), using short-stem glass funnel inserted alongside unremoved cotton plug (to minimize mold spore dissemination). Heat flask contents in fume hood on steam bath until solvent begins to boil. (Conduct all subsequent steps in fume hood.) With spatula, break up moldy rice cake and transfer flask contents into explosion-proof blender and blend at high speed for 1 min. Filter blender contents through filter paper inserted into short-stem glass funnel. Collect filtrate in 300 ml Erlenmeyer flask. Return rice cakes to blender, add 100 ml unheated solvent and blend 1 min at high speed. Filter as above and combine filtrates. Add boiling chips to flask

containing filtrates and evaporate with steam to 20-25 ml. If analysis is not to follow immediately, evaporate to dryness and store flask in the dark. Rinse all glassware, etc., used for extraction in 5% NaOCl solution before soap and water cleansing. Submerge rice cake in 5% NaOCl solution for 72 h before autoclaving and disposal.

D. Toxin analysis

Appropriate mycotoxin standards are required for both qualitative and quantitative analysis of toxin. Use either thin layer chromatography as described in references 16 or 17 or high performance liquid chromatography, as described in reference 15a, to determine mycotoxins extracted from mold cultures. Naturally occurring mycotoxins in foods or feeds can best be determined by methods described in *Official Methods of Analysis* (16).

References

1. Association of Official Analytical Chemists, 1990. *Official Method of Analysis*, 15th ed., AOAC Arlington, VA.
2. Barnett, H.L. 1960. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 2nd ed. Burgess, Minneapolis.
3. Beneke, E.S., and A.L. Rogers. 1971. *Medical Mycology Manual*, 3rd ed. Burgess, Minneapolis.
4. Cole, R.J. (ed.) 1986. *Modern Methods in the Analysis and Structural Elucidation of Mycotoxins*. Academic Press, Orlando, FL.
5. Durackova, Z., V. Betina, and P. Nemeč. 1976. Systematic analysis of mycotoxins by thin-layer chromatography. *J. Chromatogr.*, **116**: 141-154.
6. Gilman, J.C. 1957. *A Manual of Soil Fungi*, 2nd ed. Iowa State University Press, Ames, IA.
7. King, A.D. Jr, J.I. Pitt, L.R. Beuchat, and J.E.L. Corry (eds.) 1986. *Methods for the Mycological Examination of Food*. Plenum Press, New York.
8. Koch, H.A., R. Bandler, and R.R. Gibson, 1986. Fluorescence microscopy procedure for quantitation of yeasts in beverages. *Appl. Environ. Microbiol.*, **52**: 599-601.
9. Lodder, J. 1970. *The Yeasts, a Taxonomic Study*, 2nd ed. North-Holland Publishing Co., Amsterdam, The Netherlands.
10. Milivec, P.B. 1977. The genus *Penicillium*, pp. 41-57. *In: Mycotoxic Fungi, Mycotoxins, and Mycotoxicoses*, Vol. 1. T.D. Wyllie and L.G. Morehouse (eds.). Marcel Dekker, New York.
11. Pitt, J.I., A.D. Hocking, R.A. Samson and A.D. King, 1992. Recommended methods for mycological examination of foods, pp. 365-368. *In: Modern Methods in Food Mycology*, R.A. Samson, A.D. Hocking, J.I. Pitt, and A.D. King (eds.). Elsevier, Amsterdam.

12. Raper, K.B., and D.I. Fennell. 1965. The genus *Aspergillus*. William & Wilkins, Baltimore.
 13. Raper, K.B., and C. Thom. 1968. A Manual of the Penicillia. Hafner, New York.
 14. Rodricks, J.V., C.W. Hesseltine, and M.A. Mehlman,(eds.) 1977. Mycotoxins in Human and Animal Health. Pathotox, Park Forest South, IL.
 15. Samson, R.A., A.D. Hocking, J.I. Pitt and A.D. King, 1992. Modern Methods in Food Mycology. Elsevier, Amsterdam.
 16. Scott, P.M. 1995. Chapter 49, Natural Toxins. pp 49-1 to 49-49. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
 17. Stack, M.E. 1996. Toxins, pp. 1033-1045. *In*: Handbook of Thin-Layer Chromatography, 2nd ed., J. Sherma and B. Fried (eds.). Marcel Dekker, New York.
-

Media

Dichloran 18% glycerol (DG18) agar (M184)

Reagent	Quantity
Glucose	10.0 g
Peptone	5.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5 g
Dichloran (2,6-dichloro-4-nitroaniline) solution (0.2% (w/v) in ethanol)	1.0 ml
Chloramphenicol	0.1 g
Agar	15.0 g
Distilled water	800 ml

Mix above items and steam to dissolve agar, then bring volume to 1000 ml with distilled water. Add 220 g glycerol (analytical reagent grade), and sterilize by autoclaving at 121°C for 15 min. Temper medium to 45° C and pour plates under aseptic conditions. The final a_w of this medium is 0.955. DG18 agar is used as a general purpose mold enumeration medium and is preferred when the a_w of the analyzed food is less than 0.95. The low water

activity of this medium reduces interference by bacteria and fast-growing fungi. When both yeasts and molds must be enumerated, DRBC agar should be used.

Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar (M183)

Reagent	Quantity
Glucose	10.0 g
Bacteriological peptone	5.0 g
KH ₂ PO ₄	1.0 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
Rose bengal (5% aqueous soln., w/v)	0.5 ml
Dichloran (0.2% in ethanol, w/v)	1.0 ml
Chloramphenicol	0.1 g
Agar	15.0 g
Distilled water	1.0 liter

Final pH should be 5.6

Mix ingredients, heat to dissolve agar and sterilize by autoclaving at 121°C for 15 min. Temper to 45 ± 1° C in a water bath and pour plates.

Notes: DRBC agar is especially useful for analyzing samples containing "spreader" molds (e.g. *Mucor*, *Rhizopus*, etc.), since the added dichloran and rose bengal effectively slow down the growth of fast-growing fungi, thus readily allowing detection of other yeast and mold propagules, which have lower growth rates.

Media containing rose bengal are **light-sensitive**; relatively short exposure to light will result in the formation of inhibitory compounds. Keep these media in a dark, cool place until used. DRBC agar should be used for spread plates only.

Malt Agar (MA) (M185)

Reagent	Quantity
Malt extract, powdered	20.0 g
Agar	20.0 g
Distilled water	1.0 liter

Mix ingredients, steam to dissolve agar and sterilize for 15 min at 121° C. Temper medium to 45° C and pour plates under aseptic conditions. To prepare slants dispense 5-6 ml of steamed medium (before autoclaving) into each of several 16 x 125 mm screw-cap tubes, loosely cap tubes and sterilize as above. After autoclaving lay tubes in a slanting position and let them cool. This medium is recommended as a general maintenance medium.

Malt Extract Agar (Yeasts and Molds)(MEA) (M182)

Reagent	Quantity
Malt extract, powdered	20.0 g
Glucose	20.0 g
Peptone	1.0 g
Agar	20.0 g
Distilled water	1.0 liter

Mix ingredients, heat to dissolve agar and sterilize at 121° C for 15 min. Temper media to 45° C and pour plates under aseptic conditions. Dehydrated MEA is commercially available, but since more than one MEA formula exists, check for the appropriate composition. This medium is recommended for the identification of *Aspergillus* and *Penicillium*.

Hypertext Source: Bacteriological Analytical Manual, 8th Edition, Revision A, 1998. Chapter 18.