UNIVERSIDAD CENTRAL
DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

DESARROLLO DE UN TEXTURIZADO FUNCIONAL A BASE DE PULPA DE PARCHITA (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*) Y GELATINA CON INCORPORACIÓN DE INGREDIENTES PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO
Presentado ante la Ilustre Universidad Central de Venezuela, por la bachiller Lesbia Neyless Rodríguez Godoy como requisito parcial para optar por el título de Licenciado en Biología

Tutor: Dra. María Soledad Tapia

CARACAS, VENEZUELA
ABRIL 2010

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con todo el cariño del mundo a Mis Padres, quienes hicieron todo lo posible por ayudarme a conseguir lo que quería y me apoyaron incondicionalmente. A las personas que siempre estuvieron a mi lado, que me ayudaron y permitieron que llegara a este gran final: Luis Manuel, Neylin y la Profesora Marisol. Especialmente a ti Luis, que desde el primer día te convertiste en una de las personas más importantes de mi vida, Te Amo mi príncipe.

"Con cariño también a aquellos
que ya no están físicamente
a mi lado pero que espiritualmente
sé que lo están, no los olvido"

AGRADECIMIENTOS

Primeramente agradezco a mis padres Nerio Samuel y Lesbia Graciela, quienes a pesar de las dificultades siempre me apoyaron y sacaron adelante y confiaron en mí.

A mi hermana Neylin (La Negra), quien me apoyo constantemente durante mi carrera y me ayudó a conseguir muchas cosas y quien ha sido mi motivación para realizar muchas cosas.

A mi príncipe bello Luis, quien siempre ha estado a mi lado y nunca dejó que me rindiera ante las dificultades. Gracias por ayudarme con mis experimentos hasta la hora que fuera y acompañarme en todo momento. Eres mi tesorito más grande, gracias por la paciencia y la comprensión, pero especialmente, por el amor.

A mi tutora Marisol muy especialmente ya que desde el primer día que llegue a su laboratorio deposito en mi toda su confianza, me orientó, corrigió y apoyó siempre hasta lograr este trabajo. Y a todos los profesores que de una manera u otra han colaborado con mi formación profesional.

A mis hermanos Nerio José y Lesvid, quienes sin saberlo han sido una motivación muy grande y me han obligado a ser un ejemplo a seguir para ellos enseñadoles que deben luchar para lograr lo que quieren.

A mis familiares maternos y paternos quienes siempre me han apoyado y celebran conmigo este y muchos triunfos.

A la Flia. García Hernández, quienes me han adoptado como una más de ellos, especialmente a Ana, que siempre ha estado para apoyarme y me recibió con los brazos abiertos.

También a aquellos que fueron mis estudiantes de preparaduría, con los que aprendí a tener mucha paciencia y muchas otras cosas.

A mis compañeros desde siempre, Daniela y Cesar, quienes me acompañaron en lo bueno y malo desde el primer día en la universidad y se convirtieron en mis grandes amigos, los quiero.

A Lenny (Len), que me enseño que la amistad va más allá de cualquier cosa y que fue mi compañera en laboratorios y en muchas cosas más, siempre teniendo una palabra para motivarme.

A todo mi grupo de amigos: Alan, Arturo, Beatriz, Cristina, Denisse, Giovanni, Luis (Keyeme), Lainet, Lori, María Gabriela, Marijo, Sabrina y Yuliana, quienes con el pasar de los años se convirtieron no solo en compañeros de estudio, sino también en compañeros de rumba, de excursiones, de momentos tristes y de grandes celebraciones.

A la gente del Lab. De Nuevas Tecnologías del ICTA con quienes aprendí muchas de las cosas que se: Francisco, Jorge, Patricia.

Un agradecimiento muy especial para Daniel y Sheila (De Cenco-Zotti S.A), quienes me ayudaron muchísimo en la realización de este trabajo, estando siempre atentos a los problemas y aportar soluciones.

A la Universidad Central de Venezuela.

I. ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	*Pág.*
I. ÍNDICE DE CONTENIDO	i
II. ÍNDICE DE TABLAS	iv
III. ÍNDICE DE FIGURAS	vi
IV. ABREVIATURAS	viii
V. RESUMEN	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Alimentos con mínimo proceso	3
2.2 Hidrocoloides	4
2.3 Gelatina	6
2.4 Texturizados	8
2.4.1 Investigaciones realizadas sobre la obtención de productos gelificados a partir de hidrocoloides	9
2.5 Parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*)	10
2.6 Probióticos	12
2.7 Técnicas de encapsulación de sustancias biológicamente activas	15
2.8 Prebióticos	16
3. OBJETIVOS	18
3.1 General	18
3.2 Específicos	18
4. MATERIALES Y MÉTODOS	20
4.1 Materia prima e ingredientes	20
4.1.1 Obtención de la pulpa de parchita	20
4.1.2 Hidrocoloide	21
4.1.3 Microorganismo	21
4.2 Caracterización física y química de la pulpa de parchita	21
4.2.1 Concentración de sólidos solubles	21
4.2.2 Determinación de pH (Acidez iónica)	21

4.2.3 Porcentaje de acidez 22
4.2.4 Color 22
4.2.5 Determinación de la actividad de agua 22
4.3 Caracterización microbiológica de la pulpa de parchita 22
4.3.1 Aerobios mesófilos y psicrófilos 23
4.3.2 Mohos y levaduras 23
4.4 Activación de los bífidos 24
4.4.1 Encapsulamiento o esferificación 24
4.5 Formulación del producto texturizado 26
4.6 Evaluación física y química del texturizado final obtenido 28
4.7 Evaluación microbiológica del texturizado final obtenido 29
4.8 Determinación de la viabilidad de las bífidobacterias 29
4.9 Medición instrumental de la textura del texturizado 30
4.10 Evaluación sensorial del texturizado funcional de parchita 30
4.10.1 Prueba de aceptación mediante escala hedónica a lo largo del almacenamiento 31
4.10.2 Prueba de aceptabilidad a nivel de consumidores de diferentes clases de edad 32
4.11 Evaluación de la estabilidad del producto funcional texturizado de parchita 32
4.12 Análisis estadístico 33
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 34
5.1 Caracterización de la pulpa de parchita 34
5.1.1 Caracterización físico-química de la pulpa de parchita 35
5.1.2 Caracterización microbiológica de la pulpa de parchita 41
5.2 Obtención de encapsulados de bífidobacterias 43
5.2.1 Adición de bífidobacterias 44
5.2.2 Estabilidad de la concentración de bífidobacterias en los encapsulados durante el almacenamiento 44
5.3 Obtención de la formulación final para la elaboración del texturizado funcional de parchita 45

5.3.1 Selección de la formulación del texturizado mediante ensayos preliminares 45
5.4 Formulación final del texturizado de parchita con ingredientes prebióticos y probióticos 52
5.4.1 Caracterización fisicoquímica 54
5.4.2 Caracterización microbiológica 56
5.5 Evolución y estabilidad de los texturizados funcionales de parchita durante su almacenamiento a 4°C 57
5.5.1 Evolución de las características fisicoquímicas 57
5.5.1.1 Evolución de los sólidos solubles, pH, acidez titulable y a_w 57
5.5.1.2 Evolución de los parámetros de color 61
5.5.2 Evolución de las poblaciones microbianas 62
5.5.3 Evolución de la textura instrumental de los texturizados funcionales de parchita 66
5.6 Evaluación sensorial del texturizado funcional de parchita 70
5.6.1 Variación de los atributos sensoriales durante el almacenamiento del texturizado funcional 70
5.6.2 Evaluación sensorial a nivel de consumidores del texturizado funcional de parchita 72
6. CONCLUSIONES 74
7. RECOMENDACIONES 76
8. BIBLIOGRAFÍA 77
9. ANEXOS 86
9.1 Anexo 1. Tabla de valores críticos de la diferencia de suma de rangos absolutas para comparación de "todos los tratamientos" con un nivel de significancia de 5%. 86

II. ÍNDICE DE TABLAS

TABLAS *Pág.*

1. Fuentes de hidrocoloides comercialmente importantes. 5

2. Ventajas y desventajas de la aplicación de gelatina en alimentos. 7

3. Condiciones de ensayo del texturómetro (Stable Mycro System Modelo TA-XT2i) para determinar la dureza del texturizado de parchita. 30

4. Caracterización físico-química de la pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*) utilizada como materia prima. 36

5. Características de la pulpa de parchita, según datos de autores en diferentes países. 39

6. Caracterización microbiológica de la pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var*. Flavicarpa*) utilizada como materia prima para la elaboración del texturizado funcional. 41

7. Formulaciones con diferentes concentraciones de pulpa y ajuste de °Brix que fueron presentadas a los panelistas para su evaluación en una prueba de diferencia de rangos. 47

8. Resultados obtenidos en la prueba sensorial preliminar del atributo “apreciación global” de las muestras por parte de los panelistas y la suma de rangos para cada una de ellas. 48

9. Valores absolutos de las diferencias de rango entre muestras, obtenidos en la prueba sensorial preliminar para el atributo “apreciación global”. 49

10. Resultados de las evaluaciones cualitativas a nivel de laboratorio de formulaciones para la obtención de los texturizados en base a la concentración de gelatina. 51

11. Caracterización físico-química del texturizado funcional de parchita luego de un día de preparación. 55

12. Caracterización microbiológica del texturizado funcional de 56

parchita luego de un día de preparación.

13. Evolución de los sólidos solubles, pH, acidez titulable y actividad de agua de los texturizados funcionales de parchita, en un periodo de 27 días almacenados a 4°C. 58

14. Evolución de los parámetros de color (L*, a* y b*) de los texturizados funcionales de parchita, en un periodo de 27 días almacenados a 4°C. 61

15. Evolución de las poblaciones de aerobios mesófilos, aerobios psicrófilos, mohos y levaduras y bífidos presentes en los texturizados funcionales de parchita durante su almacenamiento a 4°C en un periodo de 27 días. 64

16. Evolución de la textura (dureza) de los texturizados funcionales de parchita durante su almacenamiento a 4°C, en un periodo de 27 días. 67

17. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros físicos, químicos y microbiológicos estimados para el texturizado funcional de parchita. 69

18. Coeficiente de regresión lineal (stepwise) obtenido luego de la evaluación de parámetros significativos que influyen en el cambio de la dureza durante el almacenamiento del texturizado. 70

19. Evolución de los parámetros sensoriales del texturizado funcional de parchita evaluados por panelistas semi entrenados durante el tiempo de almacenamiento. 71

III. ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURAS *Pág.*

1. *Yellow passion fruit*. Fte.: Agrotropical (2005) 11

2. Protocolo realizado de diluciones seriadas para el análisis microbiológico de la pulpa de parchita. 23

3. Esquema de obtención de encapsulados, donde se puede observar el reactor de borosilicato utilizado para la elaboración de cápsulas de bífidobacterias activas. 25

4. Planilla utilizada para recoger la opinión de los panelistas durante prueba sensorial preliminar. 26

5. Esquema tecnológico seguido durante la preparación del texturizado funcional de parchita, donde se señala la agregación de los componentes prebiótico y probiótico. 27

6. Planilla de evaluación sensorial tipo “Escala Hedónica” aplicada al panel semi entrenado para realizar la evaluación sensorial de los texturizados funcionales de parchita durante su almacenamiento. 31

7. Planilla de evaluación utilizada en prueba de consumidores para determinar la aceptabilidad del texturizado funcional de parchita. 32

8. Semillas con pulpa de parchita antes del despulpado mecánico. 34

9. Despulpadora empleada en la extracción de pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa)*. 34

10. Encapsulados de pulpa de parchita conteniendo bífidobacterias. 43

11. Estabilidad de la concentración de bífidobacterias en los encapsulados de alginato de sodio durante 21 días almacenamiento. 45

12. Lote de texturizados funcionales de parchita envasados que fueron refrigerados para su uso en la prueba de aceptación de consumidores. 53

13. Vista de encapsulados presentes en el interior de los texturizados funcionales. 54

14. Variación de acidez titulable y pH en el texturizado funcional de parchita durante su almacenamiento a 4°C. 59

15. Evolución de la población de bífidobacterias durante el almacenamiento del texturizado funcional de parchita. 66

16. Resultado de la prueba de consumidores (n=106) de diferentes clases de edad, realizada con el texturizado funcional a base de gelatina y pulpa de parchita. 73

IV. ABREVIATURAS

Actividad de agua	a_w
Aerobio	Aer.
Agar Plate Count	PCA
Agar Papa Dextrosa	PDA
Colaboradores	col.
Estado	Edo.
Estimado	Est.
Grado centígrado	°C
Gramo	g
Hora	h
Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos	ICTA
Kilogramo	Kg
Logaritmo	Log
Mililitro	ml
Milímetro	mm
Minutos	min.
Segundo	seg
Unidades Formadoras de Colonia	UFC
Variedad	Var.

RESUMEN

Fue desarrollado un texturizado funcional a base de pulpa de parchita y gelatina incorporando ingredientes prebiótico (Inulina) y probiótico (encapsulados de bífidobacterias en alginato de sodio). En la primera fase del trabajo, se realizaron ensayos preliminares para determinar la concentración de los componentes principales del texturizado, obteniendo una formulación final de 30% de Pulpa de Parchita ajustada a 30°Brix, 6% de Gelatina, 1% de Inulina y aproximadamente 8 g de encapsulados de bífidobacterias. En una segunda fase, se realizó un análisis físico, químico, microbiológico y sensorial de los texturizados formulados, durante un periodo de 27 días para así tener una idea de la estabilidad de éstos y adicionalmente determinar la aceptabilidad por parte de los consumidores. El texturizado funcional de parchita, presentó características fisicoquímicas resaltantes, como un bajo pH (<4) y una actividad de agua de 0,965 las cuales permitieron que el producto fuera muy estable, tanto fisicoquímica, como microbiológicamente durante su almacenamiento bajo refrigeración. Sin embargo, la medición de textura (Dureza) instrumental y sensorial de los texturizados reportó cambios significativos de este parámetro durante el almacenamiento de los mismos.

Los resultados obtenidos en las pruebas sensoriales realizadas, indican que el producto final fue ampliamente aceptado por los consumidores y que no presenta cambios significativos en características de olor, color y sabor, lo que es de gran importancia.

1. INTRODUCCIÓN

El estilo de vida de los consumidores modernos unido al deseo de adquirir productos naturales y que otorguen beneficios a la salud, ha hecho que la producción y consumo de frutas con mínimo proceso, como es el caso de las frutas cortadas, se haya visto incrementado en los últimos años.

Los cambios en los hábitos alimentarios han ejercido siempre un efecto determinante sobre las áreas de innovación tecnológica y especialmente en aquellas encargadas de la producción de alimentos que conserven al máximo las características de un producto fresco (Schlimme, 1995). Por otra parte, la formulación y desarrollo de alimentos tiene no solo una función nutricional y/o sensorial, sino que también tienen una función fisiológica que busca otorgar beneficios a la salud de los consumidores y, sobre todo, a esa parte de los consumidores con requerimientos especiales de alimentación. Surge así el concepto de “alimento funcional”, sobre el cual existen muchas definiciones, pero se podría definir, por ejemplo, como “cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos, contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona” (Villarroel y col., 2003).

De acuerdo a De Vuyst (2000), entre los constituyentes adicionales que se pueden agregar a un alimento para hacerlo funcional, se pueden citar a los probióticos y a los prebióticos. Los primeros son microorganismos vivos, tales como lactobacilos y las bífidobacterias, los cuales se añaden al alimento y poseen propiedades que promueven beneficios a la salud. Los prebióticos

son los ingredientes no digeribles por los humanos de los alimentos, pero que estimulan el crecimiento de las bífidobacterias presentes en el intestino.

Desde siempre, el consumo de frutas y hortalizas en la dieta diaria ha estado asociado a efectos benéficos para la salud, ya que son una excelente fuente de vitaminas, minerales y fibra, además de poseer bajo contenido calórico. Sin embargo, este consumo es todavía muy bajo con respecto a las recomendaciones hechas por profesionales de la salud. La introducción en los mercados de los productos frescos cortados y análogos de frutas a partir de frutas frescas son una forma de incrementar el consumo de frutas y hortalizas dentro de la población, debido a su atractiva presentación, apariencia y sabor. Esto es importante, sobre todo en la población infantil, la cual es muy sensible a deficiencias de componentes de este tipo de alimentos, pero que ahora pueden ser subsanadas de manera segura y eficiente.

Resultan muy interesantes las iniciativas para estimular el consumo de frutas y hortalizas, tratando de vincularlas a evidencias científicas sobre los beneficios para la salud que genera su ingesta diaria, y lograr que este enfoque llegue tanto a los productores de alimentos como a los consumidores. Con este enfoque y en este sentido, en este trabajo se tratará de desarrollar un texturizado a partir de pulpa de parchita, incorporando ingredientes pre y probióticos, de manera que este pueda ser de interés para la industria de alimentos al contribuir a su diversificación y aumentar la oferta de productos a base de frutas en el país.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Alimentos con mínimo proceso

En los últimos años, la tendencia de los consumidores a nivel mundial ha cambiado en cuanto a los productos que son consumidos, de modo tal que los alimentos procesados con características muy similares a la de los alimentos frescos han aumentado su demanda. En consecuencia, han surgido los alimentos mínimamente procesados, los cuales pasan por procesos tales como pelado, cortado, troceado, empaquetamiento individual, etc., con uso de almacenamiento refrigerado, las cuales constituyen operaciones que forman parte del procesamiento mínimo, y que le otorgan un valor agregado al producto sin afectar, en gran magnitud, las características del mismo (Tapia y col., 2005a).

Para la tecnología de alimentos, la preservación de productos mínimamente procesados representa un gran reto, ya que los procesos utilizados pueden afectar los tejidos que son sometidos a procesamiento y esto debe tratar de controlarse en lo posible. Huxsoll y Bolin (1989) llegaron a la conclusión que los alimentos mínimamente procesados no necesariamente son para el consumo directo, pero podrían ser considerados como alimentos, que al ser preservados y mantener sus características de frescura, pueden consumirse luego de transformarse en productos procesados usando técnicas convencionales.

2.2 Hidrocoloides

Un hidrocoloide es una sustancia no cristalina, con moléculas de gran tamaño que pueden disolverse en agua y formar soluciones muy viscosas. Dentro del grupo de los hidrocoloides se encuentran los polisacáridos y las proteínas. Hoy día, los hidrocoloides son utilizados en una variedad de procesos industriales por cumplir numerosas funciones, entre las que se incluye espesamiento y gelificación de soluciones acuosas, estabilizante de espumas, emulsiones y dispersiones, inhibidores de la formación de hielo y cristales de azúcar, así como controladores de las pérdida de sabores, entre otras (Phillips y Williams 2000).

El alginato, el almidón, el agar y la carragenina son carbohidratos solubles en agua que pertenecen a los polisacáridos, se utilizan para espesar soluciones acuosas, formar geles de diferentes grado de firmeza, películas solubles en agua y estabilizar algunos productos, como el helado (inhibiendo la formación de cristales de hielo que alteren la textura suave característica de este tipo de productos) (McHugh, 2002).

Los geles obtenidos con el uso de hidrocoloides del tipo polisacáridos, se caracterizan por su textura fina y su transparencia, la cual es alcanzada a una baja concentración del polímero (muchas veces menores al 1%). Los geles pueden ser formados por calentamiento o enfriamiento, ajuste del pH o adición de iones específicos (Harris, 1990).

Las hidrocoloides tipo proteína pueden ser de origen vegetal (gluten) o animal (caseína, gelatina) y los geles que forman se caracterizan por usar

una alta concentración del polímero (5-10%) y son formados casi exclusivamente por desnaturalización mediante calor (Harris, 1990).

Algunas de las fuentes de hidrocoloides conocidas y que son comercialmente importantes pueden observarse en la **Tabla I.**

Tabla I. Fuentes de hidrocoloides comercialmente importantes.

Origen	Fuente	Tipo
Botánico	Árboles	Celulosa
	Árbol de goma exudado	Goma arábiga, goma karaya, goma ghatti, goma tragacanto
	Plantas	Almidón, pectinas y celulosa
	Semillas	Goma guar, goma de algarroba, goma tamarindo
Algas	Tubérculos	Konjac mannan
	Algas rojas	Agar, carragenina
	Algas pardas	Alginato
Microorganismos		Goma Xantano, curdlan, dextrano, goma gelano, celulosa
Animales		Gelatina, caseína, proteína de suero y quitosano

Tomado de: Phillips y Williams, 2000.

La demanda de productos dietéticos con un alto contenido de fibra y bajo en grasas, ha aumentado en los últimos años, dando lugar al desarrollo de productos a partir de hidrocoloides, los cuales se utilizan como reemplazantes de grasas en los alimentos, lo que también ha promovido un incremento en la demanda de hidrocoloides (Phillips y Williams, 2000).

2.3 Gelatina

De todos los hidrocoloides que se usan hoy día, la gelatina ha probado ser un ingrediente popular en la formación de geles en la industria de alimentos. La gelatina es usada en una amplia gama de productos alimenticios debido a su capacidad de formar geles termorreversibles, los cuales tienen un punto de fusión menor a la temperatura corporal humana, otorgándole propiedades sensoriales únicas (Zúñiga y Aguilera, 2009).

La gelatina es obtenida por degradación o hidrólisis parcial del colágeno y ha ganado atención por su abundancia y biodegradabilidad, además es de bajo costo y tiene propiedades funcionales, es por ésta y otras razones, que ha sido usada en ocasiones en la elaboración de películas comestibles que pueden sustituir materiales sintéticos utilizados como empaque en los alimentos y que no se degradan y ponen en peligro al medio ambiente, como lo señalan Rivero y col. (2009).

De acuerdo a Schrieber y Gareis (2007), citados por Karim y Bhat (2008), la gelatina cumple múltiples roles funcionales/estructurales en la formulación y procesamiento de alimentos; la propiedad funcional/estructural de la gelatina puede ser dividida en dos grupos:

- Las asociadas con la gelificación, por ejemplo, la fuerza del gel, el tiempo de gelificación, temperatura de fusión, viscosidad.

- La relacionada al comportamiento de la superficie de la gelatina, por ejemplo, formación de emulsión y estabilización, protección de la parte interna de la matriz, formación de espuma y estabilización (como en el

caso de los malvaviscos (“marshmallow”), formación de películas y adhesión/cohesión.

La gelatina ha sido considerada para un gran número de aplicaciones, y las ventajas y desventajas de su uso se pueden observar en la lista de la **Tabla II**, la cual fue tomada de Karim y Bhat (2008).

Tabla II. Ventajas y desventajas de la aplicación de gelatina en alimentos.

Ventajas	Desventajas
Es multifuncional (texturizante, emulsificante, estabilizante, forma películas)	Baja estabilidad al calor
Funde a la temperatura corporal humana con rapidez, provocando sensaciones únicas de textura, elasticidad	Posee una lenta gelificación, mejorando a bajas temperaturas
Es de fácil procesamiento	Generalmente es soluble a altas temperaturas
Tiene función preventiva en la osteoartritis y osteoporosis	Los productos son rechazados por los vegetarianos
Es rica en proteínas	Puede tener implicaciones en temas religiosos

Adaptado de Karim y Bhat (2008).

Por muchos años, la gelatina ha sido usada con muchos fines, especialmente en la formulación de alimentos tipo geles, sin embargo, como se ha visto, tiene muchas desventajas en su uso para la formación de geles, en comparación con otros hidrocoloides. Quizás es por esto que se ha buscado mejorar su aplicación, mezclándola con otros hidrocoloides, como lo expresan Lau, Tang y Paulson (2001); Panouillé y Larreta (2009) y Rivero,

García y Pinotti (2009), los cuales obtuvieron resultados satisfactorios al usar en sus experimentos de gelificación mezclas de gelatina con gelano, alginato y quitosano, respectivamente.

2.4 Texturizados

Los texturizados son productos o estructuras a base de pulpa de fruta, en los que se emplea una variedad de hidrocoloides y aditivos, los cuales han sido objeto de numerosas aplicaciones comerciales así como de patentes (Lodge, 1981). Estos productos están compuestos de materiales en el cual hay partículas embebidas en una matriz-gel polimérica (Nussinovitch y col., 2004).

Algunos estudios se han realizado acerca del efecto en conjunto de pulpas de fruta, azúcar y gomas para la obtención de productos, tales como texturizados de frutas (Nussinovitch y col., 2004), también la posibilidad de desarrollar productos de frutas texturizadas a base de hidrocoloides con pulpa de frutas y jugos con una alta acidez (Weiner y Nussinovitch, 1994), así como texturizados de fruta multicapa (Ben-Zion y Nussinovitch, 1996).

En 1997, Mouquet y col., reportaron la preparación de un texturizado de pulpa de parchita utilizando alginato, con el fin de estudiar la influencia del pH inicial y la cinética de gelificación en el proceso; esto, en un intento por optimizar la preparación de análogos de frutas.

La adición de pulpas de frutas, de acuerdo a Grizotto y col. (2007), disminuye la fuerza del gel, pero esto puede acentuarse disminuyendo la concentración de pulpa. Este efecto en los texturizados depende del tipo de pulpa

empleada y de su interacción con los demás componentes del sistema, como lo son el azúcar y el hidrocoloide usado.

2.4.1 Investigaciones realizadas sobre la obtención de productos gelificados a partir de hidrocoloides

Con el pasar de los años, el desarrollo de nuevos productos a base de frutas con mínimo proceso se ha visto incrementado, por lo que la obtención de texturizados de frutas a partir de hidrocoloides ha sido muy tomada en cuenta, al igual que las investigaciones enfocadas en ello.

Mouquet y col. (1992) obtuvieron un texturizado a partir de pulpa de mango endulzada y además una optimización del proceso utilizando la metodología de superficie de respuesta. Ellos utilizaron inicialmente un 90% de pulpa de mango ajustada a 50ºBrix. Esta pulpa era calentada y le agregaban una mezcla de alginato de sodio dispersado en 5 ml de agua destilada y metanol (1:1). Durante la realización de los experimentos, los autores probaron varias temperaturas: 50, 60, 70 y 80ºC. Después del tratamiento térmico le agregaban una cantidad de solución de sal de calcio y glucono-δ- lactona y se mezclaba durante unos 10 segundos antes que ocurriera la gelificación. En este caso, el producto optimizado fue un texturizado de mango con 50ºBrix, con un alto porcentaje de pulpa de fruta, utilizando una concentración de glucono-δ- lactona entre 1 y 1,5% y un tiempo de calentamiento de 8 min.

En el año 1997, Mouquet y col., también reportaron el desarrollo de un texturizado a base de pulpa de parchita utilizando alginato como gelificante.

En este caso, hicieron variaciones de pH y de ºBrix a la pulpa de parchita, para poder evaluar el efecto del pH inicial en el proceso de gelificación, encontrando que la gelificación del texturizado era muy lenta cuando el pH era más ácido, disminuyendo así la firmeza del gel.

Solar (2006) desarrolló un texturizado a base de parchita y un polisacárido hidrocoloide (carragenina), con características de un alimento funcional impartidas por la agregación al producto de ingredientes probióticos (bífidos) y prebióticos (inulina). Inicialmente, la investigación comenzó con la prueba de varios tipos de hidrocoloides, utilizados en diferentes concentraciones; sin embargo, el texturizado obtenido con la carragenina fue el de mejores características y el de mayor aceptación.

También, Grizotto y col. (2007) investigaron que diferentes concentraciones de alginato, pectina de bajo metoxilo y glicerol podían ser usadas para obtener un reestructurado de pulpa de piña, utilizando para ello la metodología de superficie respuesta. Los resultados obtenidos por estos investigadores mostraron que los cambios en las concentraciones de pectina y alginato tienen un efecto estadísticamente significativo en la firmeza del producto; por otra parte, también pudieron concluir que, utilizando una mezcla de pectina de bajo metoxilo y alginato, se hace posible obtener un estructurado de frutas firme usando pulpa ácida.

2.5 Parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*)

De acuerdo a Hoyos (1994), la parchita amarilla o parchita maracuyá (**Figura 1**), pertenece a la Familia *Passifloracea*, nativa de Brasil. El nombre genérico

de *Passiflora* deriva del latín “passio” que significa pasión y “floris” que significa flor, es decir, la flor de la pasión. El nombre especifico “edulis”, proviene de vocablo latino y significa comestible. El nombre común “Maracuyá” se deriva del portugués “Maracujá”, el cual al parecer es una palabra indígena que significa “comida preparada en totuma”. Esta fruta requiere de climas cálidos y húmedos para su buen desarrollo, por lo que Venezuela es un país donde puede desarrollarse sin problemas.

Figura 1. *Yellow passion fruit*. Fte.: Agrotropical (2005)

Los frutos son bayas esféricas u ovoides de color verde y al madurar cambian a un color amarillo. La cascara es delgada y dura, con numerosas semillas negras en su interior, rodeadas de una pulpa amarilla jugosa, comestible y aromática. Esta fruta es rica en vitamina C. En Venezuela, se recuerda que se sembró por primera vez durante la década de los 50, en la colonia agrícola de Turén (Edo. Portuguesa) con resultados bastante satisfactorios (Hoyos, 1994).

En Venezuela, esta fruta generalmente se consume en forma de jugo; su acidez y su aroma son de gran atractivo al paladar de los consumidores y es

quizás, por esto, que se tratan de diversificar los productos elaborados a partir de ella, pudiendo resultar de interés para la industria de alimentos.

Para cualquier proceso, la parchita requiere ser cortada longitudinalmente en dos partes, y sus semillas con la pulpa pueden ser extraídas manual o mecánicamente. El jugo resultante es un concentrado natural que puede ser endulzado y diluido con agua para hacer bebidas.

Morton (1987) describió varios usos para la parchita. El jugo puede hervirse hasta conseguir un sirope que se utilice en la fabricación de salsas, postres, gelatina, caramelos, helados, rellenos de repostería, cocteles, etc. El jugo congelado puede ser guardado sin que se deteriore hasta por un año en 0ºF (-17,78ºC), si la temperatura no es bien controlada, el sabor del jugo puede deteriorarse. La pulpa sin semilla puede prepararse en jaleas. En algunos países como Costa Rica, se comercializa un vino a base de parchita conocido como “Parchita Seco”.

2.6 Probióticos

Los alimentos probióticos pueden ser definidos como “alimentos que contienen microorganismos vivos, los cuales pueden otorgar beneficios a la salud mediante el mejoramiento del balance de la microflora en el intestino”. Para proveer beneficios a la salud, la concentración sugerida de bacterias probióticas debe ser de, al menos, 10^6 ufc/g de un producto (Shah, 2000).

Debido a los beneficios que los microorganismos probióticos pueden otorgar a la salud de los consumidores, los mismos se han incorporado en gran

variedad de productos, principalmente en productos lácteos, generalmente por fermentación de los mismos.

Las bífidobacterias forman parte de este grupo de microorganismos probióticos y se caracterizan por ser bacilos gram positivos, inmóviles, no esporulados, anaerobios estrictos, catalasa negativo y que pueden o no presentar una o más ramificaciones (Salminen y col., 1993).

Los efectos benéficos y terapéuticos que se pueden obtener del consumo de bacterias probióticas por humanos, de acuerdo a Lourens y Viljoen (2001), son:

Efectos benéficos:

- Mantenimiento de la microflora normal del intestino.
- Reforzamiento del sistema inmune.
- Reducción de la intolerancia a la lactosa.
- Reducción de los niveles de colesterol.
- Actividad anticarcinogénica.
- Mejoramiento del valor nutricional de los alimentos.

Efectos terapéuticos:

- Prevención de infecciones urogenitales.
- Protección contra la diarrea de los viajeros.
- Prevención de diarreas infantiles.

- Reducción de las diarreas provocadas por el consumo de antibióticos.
- Prevención contra el cáncer de colon.
- Prevención de osteoporosis.

Las bífidobacterias son parte de la microflora natural del cuerpo humano, teniendo una relación simbiótica con éste. Por poseer ciertas características peculiares para su crecimiento, su cultivo en el laboratorio se restringe a ciertos medios con diferentes componentes selectivos. Los medios de cultivo para bífidobacterias se caracterizan por contener sustancias que disminuyen el potencial redox (por ejemplo, cisteína), antibióticos, una fuente de carbono y agentes selectivos que inhiban el crecimiento de bacterias ácido lácticas. Las condiciones de incubación son generalmente en anaerobiosis a 37-41ºC, por un tiempo mayor a 48 horas (Charteries y col., 1997)

Por otra parte, en algunos casos, si las condiciones de crecimiento no son cumplidas, puede existir una disminución en el número de microorganismos reales presentes en el producto, haciendo que éste no cumpla el límite para ser un alimento probiótico. Es por esto que puede ser recomendable un método de encapsulación. En este caso, las células son retenidas dentro de una membrana, la cual reduce la pérdida de células y puede agregarse a los productos (Shah, 2000).

Los probióticos pueden afectarse de forma beneficiosa y ser estimulados por la presencia de fructooligosacáridos, los cuales son llamados prebióticos y tienen la característica de no ser digeribles por los humanos, produciendo

efectos positivos en el crecimiento de microorganismos beneficiosos para la salud y que están presentes en los intestinos (De Vuyst, 2000).

2.7 Técnicas de encapsulación de sustancias biológicamente activas

Los ingredientes alimentarios que pueden beneficiarse de encapsulación incluyen sabores, ácidos, álcalis, lípidos, enzimas, microorganismos, edulcorantes artificiales, vitaminas, minerales, conservantes, antioxidantes, agentes de entrecruzamiento, agentes leudantes, colorantes y nutrientes (Barbosa-Cánovas, 2005).

La encapsulación de bífidobacterias puede verse como una manera de atrapar al microorganismo dentro de matrices de hidrocoloides que sean, preferiblemente, insolubles en agua y que puedan incorporarse en los alimentos de manera que liberen su contenido bajo la influencia de condiciones específicas (Anal y Singh 2007; Heidebach y col, 2009).

El encapsular microorganismos, como la bífidobacterias, los protege de la acción de factores propios del alimento, como su pH, temperatura de almacenamiento, concentración de oxígeno, etc. Varios estudios han reportado microencapsulación usando gelatina u otras gomas vegetales para proteger a las bífidobacterias sensibles al medio ácido. De estos estudios, se desarrolló una técnica de microencapsulación con alginato de sodio (Rávula y Shah, 1999).

Muchos son los autores que han trabajado con técnicas de encapsulación de microorganismos como las bífidobacterias: Truelstrup y col. (2002),

Krasaekoopt y col. (2006), Annan y col. (2008), Homayouni y col. (2008), en la mayoría de estos trabajos, los autores señalan un aumento de la sobrevivencia de los microorganismo durante el almacenamiento de los encapsulados, pero señalan también que dependiendo del hidrocoloide utilizado para la obtención de los mismos, dependerá la sobrevivencia luego de exponerse a condiciones de estrés como bajo pH. Por otra parte, la micro encapsulación es quizás la técnica más usada, ya que no altera las características físicas y/o estructurales de los alimentos que los contienen y, además, incrementa considerablemente la viabilidad de los microorganismos (Kailasapathy, 2006).

2.8 Prebióticos

También son conocidos como “factores bifidogénicos” y se definen como un componente, usualmente de carbohidrato, el cual sobrevive al metabolismo del hospedador y es metabolizado luego como fuente de energía por las bífidobacterias (De Vuyst, 2000).

La oligofructosa y la inulina se utilizan, por lo general, en la preparación de alimentos funcionales como componentes prebióticos. Las características que deben reunir estos agentes prebióticos, según Bosscher (2005), para ser considerados funcionales, tanto para las bacterias, como para el ser humano, son:

a. Resistencia a la acidez gástrica y a la absorción en la zona gastrointestinal.

b. Tiene que ser fermentado selectivamente por la microflora intestinal.

c. Deben ejercer un estímulo selectivo del crecimiento y/o de la actividad de un número limitado de bacterias intestinales beneficiosas.

d. Deben alterar positivamente la composición de la microflora intestinal.

e. Deben inducir preferiblemente efectos benéficos a la salud y al bienestar general.

Durante la realización de este trabajo, se intentará conjugar los aspectos antes expuestos de modo que se pueda desarrollar un texturizado funcional a base de parchita y gelatina.

Resultan muy interesantes las iniciativas para estimular el consumo de frutas y hortalizas, tanto en estado fresco como procesado, siendo éstas bienvenidas, y particularmente, si se emplean enfoques de proceso mínimo y se contribuye a diversificar la oferta de productos de frutas para los consumidores, tratando de vincularlas a evidencias científicas sobre los beneficios para la salud que genera su ingesta diaria, y lograr que este enfoque llegue tanto a los productores de alimentos como a los consumidores (Tapia y col, 2005b). Con este enfoque y en este sentido, en este trabajo se trató de desarrollar un texturizado a partir de pulpa de parchita, incorporando ingredientes pre y probióticos, de manera que éste pueda ser de interés para la industria de alimentos a base de fruta.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo General:

Desarrollar un producto a base de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*) texturizado con gelatina, con características de un alimento funcional proporcionadas por la adición de ingredientes probióticos y prebióticos y evaluar la estabilidad del producto final.

3.2 Objetivos Específicos:

- Caracterizar microbiológica, física y químicamente la pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*) obtenida a partir de frutas frescas, la cual se utilizó como materia prima para la elaboración de un texturizado a base de gelatina.

- Definir la formulación del producto final mediante ensayos preliminares con análisis sensorial para determinar las concentraciones óptimas de los componentes principales:

    - Pulpa de parchita.

    - Agente edulcorante (Sacarosa).

    - Agente gelificante (Gelatina).

- Obtener encapsulados de *Bifidobacterium* spp., para incorporarlos al texturizado, utilizando alginato de sodio como membrana protectora.

- Determinar la concentración de bífidos incorporados en los encapsulados.
- Desarrollar una metodología de incorporación de los bífidos encapsulados a al sistema de pulpa de parchita y gelatina para asegurar la viabilidad de los microorganismos.
- Agregar un ingrediente prebiótico (Inulina) a la matriz del texturizado.
- Evaluar la estabilidad microbiológica, física, química y sensorial del texturizado de parchita a una temperatura de almacenamiento de 4ºC.
- Determinar la aceptabilidad del producto final texturizado mediante una prueba de consumidores.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materia prima e ingredientes

Los ingredientes principales fueron pulpa de parchita, gelatina, bífidobacterias encapsuladas, inulina y azúcar.

4.1.1 Obtención de la pulpa de parchita:

Se trabajó con pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*). La fruta fue adquirida en un cultivo familiar ubicado en una zona montañosa entre los poblados de Cúa y San Casimiro (10°2′25,44″ LN y 66°56′57,12″ LW) en el Estado Miranda, tratando de que fuera lo más homogénea posible en cuanto a características de madurez, tamaño y color y fue trasladada a las instalaciones del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), en Caracas. Una vez en el ICTA, las frutas fueron llevadas a la planta piloto, donde se sometieron a lavado y luego se cortaron longitudinalmente por la mitad cortadas con cuchillos de acero inoxidable higienizados y con una espátula se le extrajo las semillas con la pulpa y se pasaron por una despulpadora (Reevees, Columbus, Indiana, USA). La pulpa obtenida se envasó en bolsas “zip-lock” de un kilogramo de capacidad y se congelaron hasta su uso en la elaboración del producto texturizado.

Se procesaron aproximadamente 20 Kg de la fruta para la obtención de la pulpa fresca.

4.1.2 Hidrocoloide

Se empleó como fase dispersante un hidrocoloide de tipo proteína, el cual es una gelatina comestible Tipo B Bloom 220 30 Mesh, fabricada por GELNEX, NY, USA, distribuida por CENCO-ZOTTI ALIMENTICIA, S.A., Caracas Venezuela.

4.1.3 Microorganismo

Se utilizó *Bifidobacterium* “Bb 12”, en forma de cultivo liofilizado (Laboratorios Christian Hansen, Dinamarca).

4.2 Caracterización física y química de la pulpa de parchita

Se tomaron 200 ml de pulpa de parchita, previamente descongelada y se realizaron los siguientes análisis, por triplicado:

4.2.1 Concentración de sólidos solubles: Se determinó usando un refractómetro digital Atago DBX-55 (Atago Co. Ltd., Tokio, Japan) a temperatura ambiente (25ºC). Los resultados se expresarron en ºBrix, de acuerdo a la Norma Venezolana Covenin 924-83 (Covenin, 1983).

4.2.2 Determinación de pH (Acidez iónica): Se determinó de acuerdo a la Norma Venezolana Covenin 1151-77 (Covenin, 1977), mediante la utilización de un potenciómetro digital (HANNA instruments® USA, modelo pH 2111, USA), calibrado con soluciones “buffer” de pH=4,0 y pH=7,0.

4.2.3 Porcentaje de acidez: Se determinó de acuerdo a la Norma Venezolana Covenin 1151-77 (Covenin, 1977), por el método de acidez titulable. Los resultados se expresarán como ácido cítrico por cada 100 g de muestra (%).

4.2.4 Color: Se determinaron los valores de los parámetros de la Commission International de l`Eclaire (CIE) L*, a*, b*, utilizando un colorímetro de marca Hunter Lab (Modelo ColorFlex, USA), por el método de triestímulo utilizando un iluminante D65 y un observador de 10°.

4.2.5 Determinación de la actividad de agua: Se determinó empleando un equipo psicrométrico, Aqualab CX-2 (Decagon Devices, Pullman, WA, USA) realizando previamente las calibraciones correspondientes con agua destilada a temperatura ambiente (25ºC) y un estándar de a_w conocida.

4.3 Caracterización microbiológica de la pulpa de parchita

Se tomó una porción de 10 ml de pulpa y se transfirió asépticamente a una bolsa plástica “zip-lock”, donde se diluyó con 90 ml de agua peptonada esterilizada y se homogeneizó. Luego se hicieron diluciones seriadas consecutivas (**Figura 2**) para realizar siembras en Agar Plate Count (PCA) y Agar Papa Dextrosa (PDA) ambos de HiMedia (Mumbai, India).

Los microorganismos determinados fueron:

4.3.1 Aerobios mesófilos y psicrófilos: Se sembraron por duplicado cada dilución, utilizando como medio de cultivo el Agar Plate Count (HiMedia, Mumbai, India), empleando la metodología establecida en la Norma Venezolana Covenin 902-87. Los psicrófilos se incubaron a temperaturas de refrigeración por 5-7 días, mientras que los mesófilos se incubaron a 32-35ºC por 24-48 horas.

4.3.2 Mohos y levaduras: Se sembró por duplicado cada dilución, utilizando como medio de cultivo el Agar Papa Dextrosa (HiMedia, Mumbai, India), luego se incubaron a temperatura ambiente (25ºC) por 5-7 días.

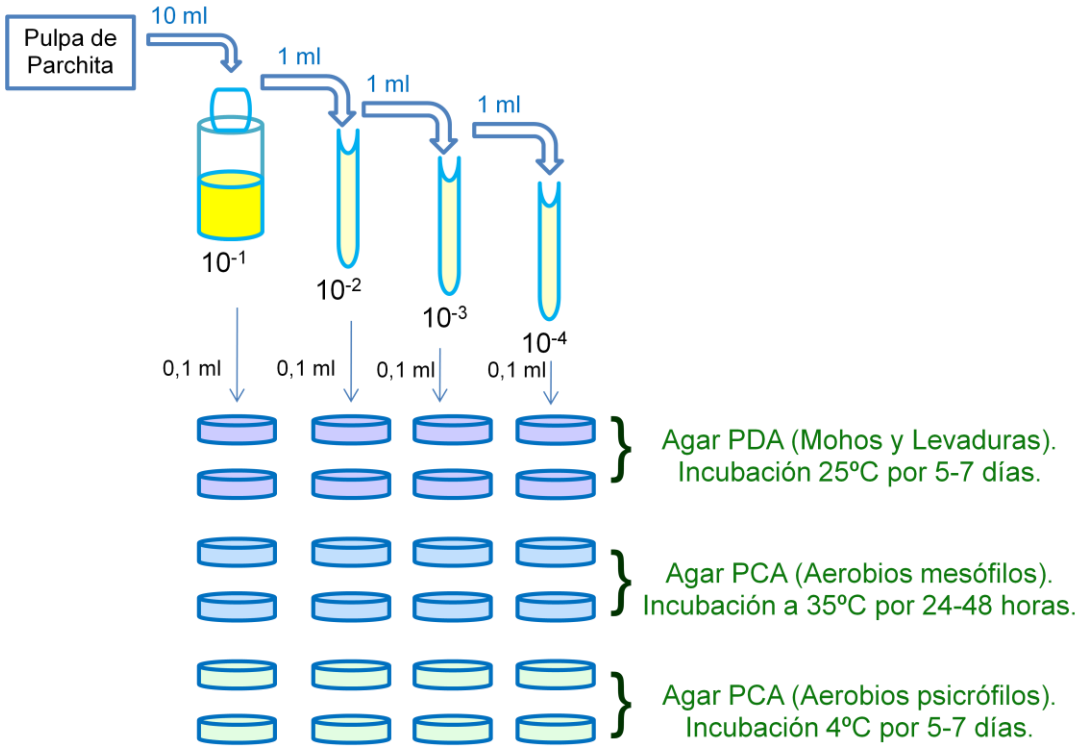


Figura 2. Protocolo realizado de diluciones seriadas para el análisis microbiológico de la pulpa de parchita.

4.4 Activación de los bífidos

Un cultivo puro de *Bifidobacterium lactis* Bb-12 se activó (48 h) y se propagó (24 h) en caldo MRS (HiMedia, Mumbai, India) con 0,05% (p/v) HCl-cisteína a 37°C bajo incubación anaeróbica en jarra Gas-Pack. Las células bacterianas fueron centrifugadas a 6.000 g por 15 min. a 5°C y el sedimento se aisló y recolectó. Un volumen de jugo de parchita fue mezclado asépticamente, con una agitación muy lenta y cuidadosa, con el sedimento de biomasa de *Bifidobacterium lactis* Bb-12, a una relación de 1% (p/v), de manera de obtener una suspensión de jugo con bífidos para proceder al encapsulamiento o esterificación con alginato de sodio.

4.4.1 Encapsulamiento o esferificación

A la suspensión de jugo con bífidos se le añadió, con agitación suave y constante, alginato de sodio a una concentración de 2% y para el encapsulamiento se siguió el procedimiento descrito por Levy (2007). Se empleó un reactor de vidrio de borosilicato, el cual consiste en dos tanques de almacenamiento, en los que se colocó la suspensión de bífidos, jugo de parchita y alginato de sodio; estos tanques se conectaron a través de válvulas de alta precisión para la regulación del flujo a dos tubos coaxiales que terminan en una boquilla en forma de pico, para permitir la formación de dos gotas concéntricas, con una diferencia de diámetros de 3 milímetros y un recipiente de recepción de la gota, el cual contiene una solución de lactato de calcio (Imaquim, Caracas, Venezuela), a una concentración 4%, tal como se muestra en la **Figura 3**. Una vez obtenidas las esferas, éstas fueron retiradas

de la solución de lactato de calcio y sumergidas en agua destilada para eliminar residuos superficiales y luego se refrigeraron.

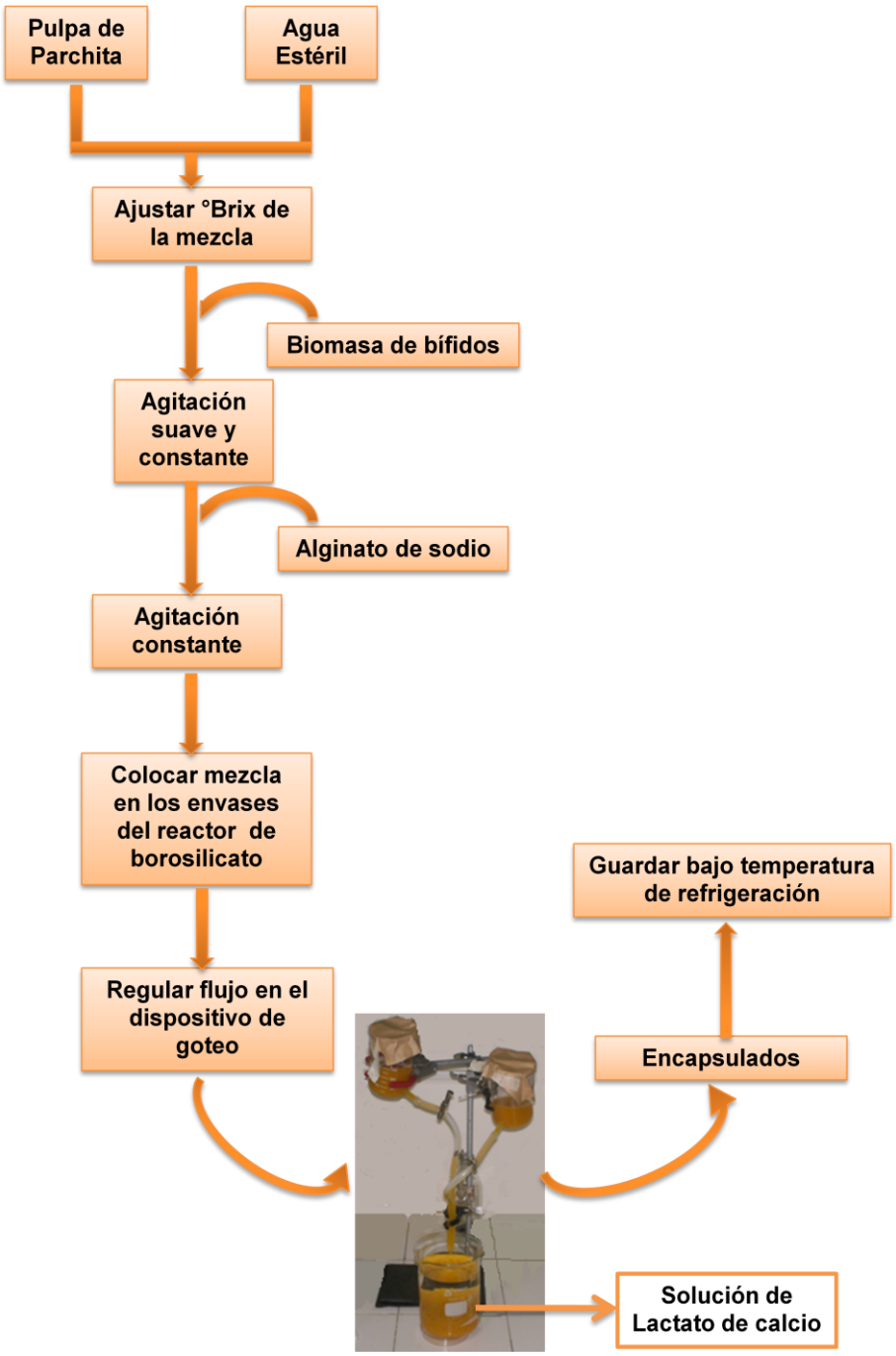


Figura 3. Esquema de obtención de encapsulados, donde se puede observar el reactor de borosilicato utilizado para la elaboración de cápsulas de bífidobacterias activas.

4.5 Formulación del producto texturizado

La obtención de la formula final para la elaboración del texturizado a base de pulpa de parchita se realizó mediante pruebas a nivel de laboratorio para seleccionar la concentración de pulpa, gelatina y azúcar. Se formularon sistemas con diferentes concentraciones de estos componentes, realizando en primer lugar una prueba sensorial de jugos basada en un análisis de comparación de rangos (Newell y MacFarlane, 1987), donde se varió la concentración de azúcar (°Brix) y la concentración de la pulpa de parchita, empleando cincuenta (50) panelistas a los cuales se le colocaron tres muestras diferentes al azar para que respondieran la planilla correspondiente (**Figura 4**).

Nombre: _____ Fecha: _____

A continuación se le presentarán diferentes muestras de jugo a base de pulpa de parchita. Por favor, para cada uno de los atributos sensoriales especificados, ordene las muestras que se le han entregado de acuerdo a su agrado y/o preferencia y **escriba el código** de tres (3) dígitos en el lugar correspondiente.
Pruebe las muestras de izquierda a derecha en el orden en que les han sido entregadas, y no olvide entre cada muestra tomar un sorbo de agua y posteriormente un trozo de galleta soda.

	Color	Sabor	Olor	Apreciación global
(+)	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____
(-)	_____	_____	_____	_____

Comentarios:

Gracias por su colaboración…

Figura 4. Planilla utilizada para recoger la opinión de los panelistas durante prueba sensorial preliminar.

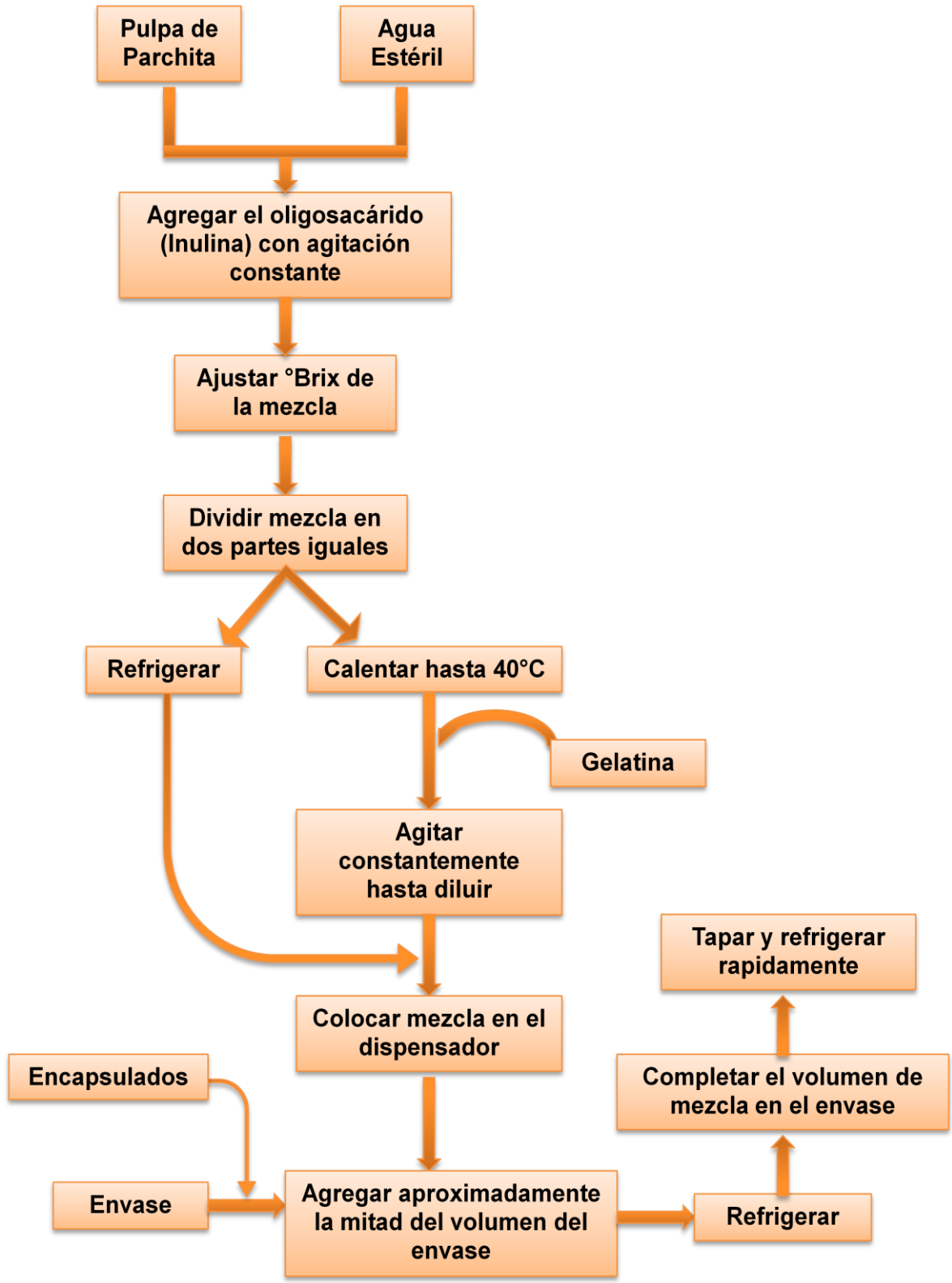


Figura 5. Esquema tecnológico seguido durante la preparación del texturizado funcional de parchita, donde se señala la agregación de los componentes prebiótico y probiótico.

En segundo lugar, se realizaron ensayos cualitativos de gelificación de diferentes gelatinas a diferentes concentraciones, donde se escogió la más idónea para la realización del texturizado final. Una vez obtenidos los resultados de las evaluaciones preliminares, la metodología a seguir para la obtención de los texturizados funcionales de parchita se presenta en la **Figura 5**. En este esquema tecnológico se resumen los procedimientos de agregación de los componentes prebióticos y probióticos al sistema.

El texturizado fue envasado higiénicamente en recipientes plásticos tipo vaso, con tapa, numero 37, cuya capacidad era de 60 ml aproximadamente, luego de cerrados los envases, los texturizados se almacenaron en refrigeración a 4°C.

4.6 Evaluación física y química del texturizado final obtenido

Se seleccionaron al azar envases individuales de los texturizados de parchita, los cuales fueron preparados para la realización de los análisis descritos en la metodología 4.2. En este caso, el análisis se realizó tanto para el texturizado final como durante el almacenamiento.

4.7 Evaluación microbiológica del texturizado final obtenido

La determinación de la población microbiana en los texturizados de parchita se realizó para el texturizado final y para su evaluación durante el almacenamiento, de acuerdo al procedimiento descrito en la metodología 4.3.

4.8 Determinación de viabilidad de bífidobacterias

Esta se realizó en dos contextos:

1. En las cápsulas de alginato
2. En el producto final del texturizado funcional a base de pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*) y gelatina

Se cuantificó experimentalmente la población de bífidos presentes, tanto en los encapsulados, como en los texturizados funcionales durante un tiempo de almacenamiento de 3, 5, 7, 10, 12, 14, 24 y 27 días y de acuerdo al siguiente procedimiento en ambos casos:

- Se pesaron 10g de la muestra y se diluyeron y homogeneizaron en 90 ml de agua peptonada al 0,1%.
- Se realizaron diluciones seriadas consecutivas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} en agua peptonada al 0,1%.

El recuento de microorganismos se llevó a cabo empleando como medio Agar MRS (HiMedia, Mumbai, India) suplementado con HCl-Cisteina (0,05%) y una solución de antibióticos tal como lo describen Arroyo y col. (1995) y Payne y col (1999).

Se sembró 1 ml de cada dilución en tubos Miller-Pricket de cara plana, agregando 10 ml del agar. Una vez solidificada la primera capa, se colocó una segunda capa y se dejó solidificar. Estos tubos se incubaron en anaerobiosis en Jarras Gas-Pack por 48 horas a 37°C, para luego realizar el contaje de microorganismos.

4.9 Medición instrumental de la textura del texturizado

Se realizó un análisis de perfil de textura (TPA) durante el almacenamiento del texturizado (durante los días 3, 5, 7, 10, 12, 14, 24 y 27), por medio de la utilización de un texturómetro marca Stable Micro System Modelo TA-XT2i (Haslemere, Surrey, U. K.). Para la caracterización de los texturizados solo se tomó en cuenta el parámetro Dureza, determinado de acuerdo a las condiciones que se muestran en la **Tabla III.** Se realizó la medición para 3 muestras por día, colocando las muestras de tal manera que la sonda utilizada penetrara en varios puntos del texturizado (en el centro geométrico y a su alrededor) con el fin de promediar la dureza del texturizado.

Tabla III. Condiciones de ensayo del texturómetro (Stable Micro System Modelo TA-XT2i) para determinar la dureza del texturizado de parchita.

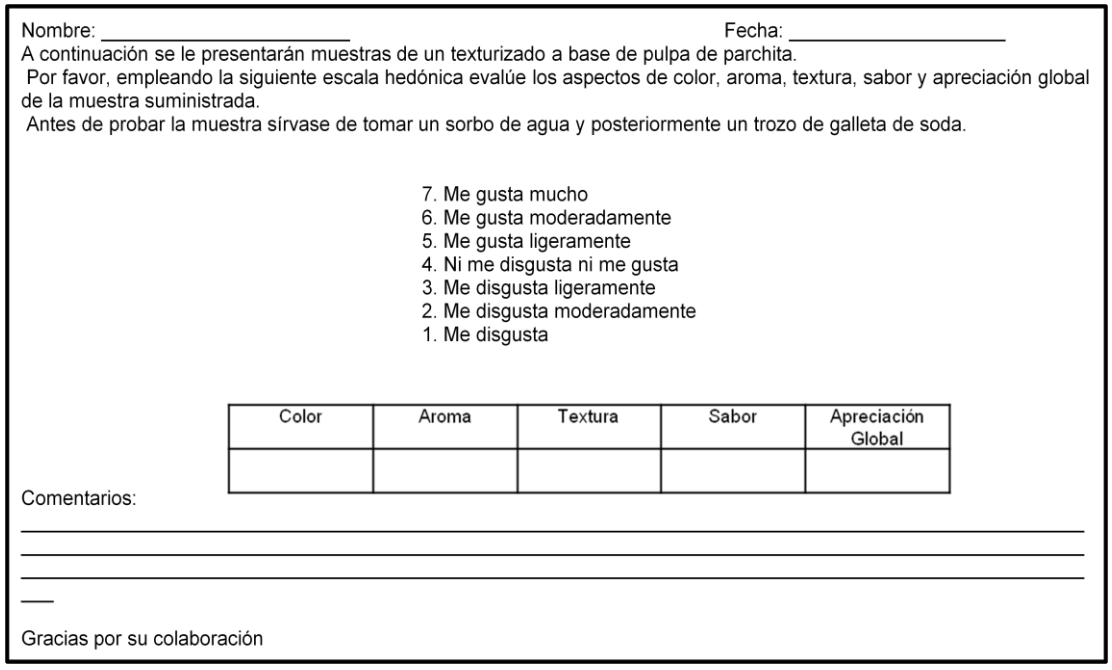
Condiciones del Ensayo	
Sonda	PO.H5 Semiesférica Plástico ½ Día
Modo Ensayo	Fuerza en Compresión (Vuelve al inicio)
Velocidad de pre-ensayo	2 mm/seg.
Velocidad de ensayo	1 mm/seg.
Velocidad de post-ensayo	10 mm/seg.
Celda	5 Kg.
Distancia ensayo ruptura	10 mm.
Distancia	10 mm.

4.10 Evaluación sensorial del texturizado funcional de parchita

La calidad sensorial de los texturizados fue evaluada en dos contextos:

4.10.1 Prueba de aceptación mediante escala hedónica a lo largo del almacenamiento

A lo largo del almacenamiento a 4°C, y como parte de un estudio de estabilidad sensorial del producto, la muestra fue evaluada por un panel semi-entrenado de 15 personas, las cuales pudieron determinar los posibles cambios en el producto porque participaron en su evaluación y tuvieron un seguimiento desde su elaboración hasta el final del análisis de estabilidad. A cada panelista se le aplicó una prueba de aceptación en base a atributos mediante el empleo de una escala hedónica de 7 puntos, como se muestra en la planilla de evaluación mostrada en la **Figura 6**. Los tiempos de almacenamiento evaluados fueron de 3, 6, 10, 13, 24 y 27 días.



Nombre: _____ Fecha: _____

A continuación se le presentarán muestras de un texturizado a base de pulpa de parchita.

Por favor, empleando la siguiente escala hedónica evalúe los aspectos de color, aroma, textura, sabor y apreciación global de la muestra suministrada.

Antes de probar la muestra sírvase de tomar un sorbo de agua y posteriormente un trozo de galleta de soda.

7. Me gusta mucho
6. Me gusta moderadamente
5. Me gusta ligeramente
4. Ni me disgusta ni me gusta
3. Me disgusta ligeramente
2. Me disgusta moderadamente
1. Me disgusta

Color	Aroma	Textura	Sabor	Apreciación Global

Comentarios:

_____

_____

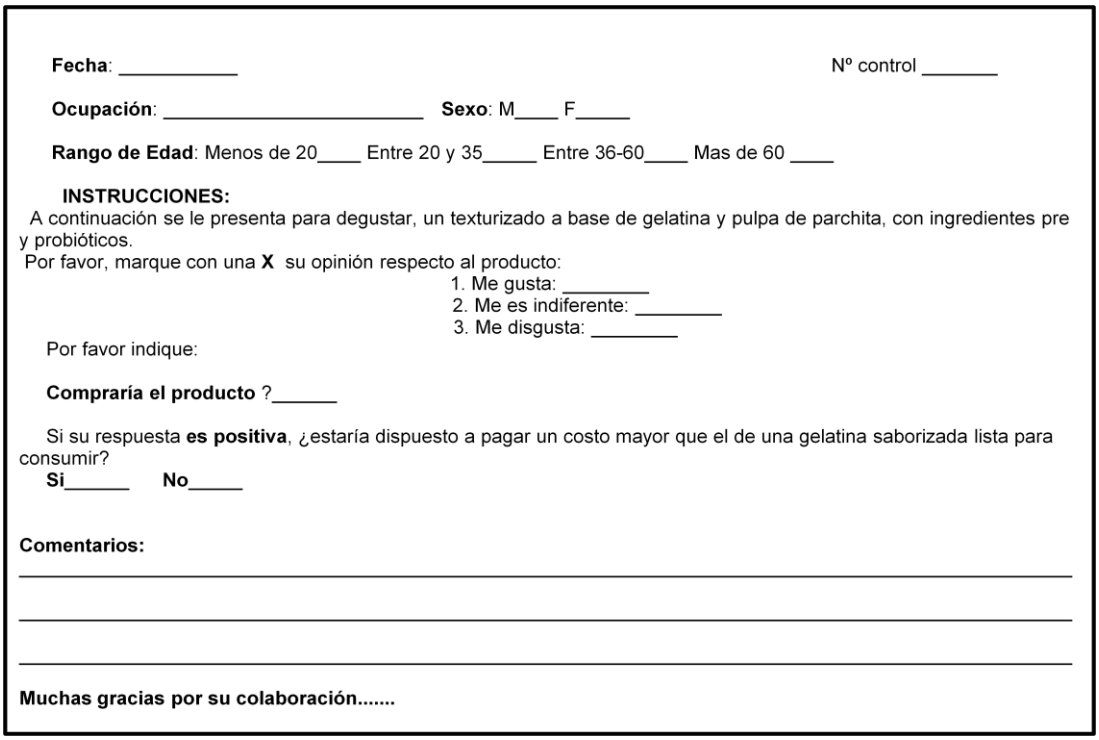
_____

Gracias por su colaboración

Figura 6. Planilla de evaluación sensorial tipo “Escala Hedónica” aplicada al panel semi-entrenado para realizar la evaluación sensorial de los texturizados funcionales de parchita durante su almacenamiento.

4.10.2 Prueba de aceptabilidad a nivel de consumidores de diferentes clases de edad

Se preparó un lote de 120 muestras del texturizado funcional de parchita, el cual fue almacenado a 4°C, para la realización de pruebas de aceptabilidad a nivel de consumidores (panel no entrenado) un día después de su preparación, utilizando la planilla que se muestra en la **Figura 7**.



Fecha: _____ Nº control _____

Ocupación: _____ **Sexo**: M____ F_____

Rango de Edad: Menos de 20____ Entre 20 y 35_____ Entre 36-60____ Mas de 60 ____

INSTRUCCIONES:

A continuación se le presenta para degustar, un texturizado a base de gelatina y pulpa de parchita, con ingredientes pre y probióticos.

Por favor, marque con una **X** su opinión respecto al producto:

1. Me gusta: _____
2. Me es indiferente: _____
3. Me disgusta: _____

Por favor indique:

Compraría el producto ?_____

Si su respuesta **es positiva**, ¿estaría dispuesto a pagar un costo mayor que el de una gelatina saborizada lista para consumir?

Si_____ **No**_____

Comentarios:

_____

_____

_____

Muchas gracias por su colaboración.....

Figura 7. Planilla de evaluación utilizada en prueba de consumidores para determinar la aceptabilidad del texturizado funcional de parchita.

4.11 Evaluación de la estabilidad del producto funcional texturizado de parchita

Se determinó la estabilidad del texturizado de acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales

realizadas durante un periodo de 27 días de almacenamiento a 4°C y cuya realización ya han sido descritas en la metodología.

4.12 Análisis estadístico

Para determinar las posibles diferencias significativas, durante el almacenamiento, los datos de los análisis físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales de los texturizados funcionales a base de pulpa de parchita y gelatina fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA). Adicionalmente, se realizó una prueba de comparación de medias “a posteriori” (Tukey HSD), con un nivel de significancia de 5% ($p<0,05$), para identificar las diferencias específicas en las medias obtenidas en los diferentes experimentos y que aportaron las variaciones.

Para analizar la posible relación entre los parámetros físicos, químicos y microbiológicos, durante el almacenamiento del texturizado, se realizó una prueba de correlación de Pearson (r).

Los análisis fueron realizados con el paquete estadístico SPSS versión 13.0.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Caracterización de la pulpa de parchita

Para la ejecución de este trabajo, se realizaron dos extracciones de pulpa de parchita, la cuales fueron utilizadas para la elaboración de un producto funcional a base de fruta. Luego de aislada la semilla con la pulpa (**Figura 8**) y haber descartado la cáscara, se obtuvo la pulpa con una despulpadora (**Figura 9**), obteniendo un rendimiento promedio de 77,52%.

Figura 8. Semillas con pulpa de parchita antes del despulpado mecánico.

.

Figura 9. Despulpadora empleada en la extracción de pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa)*.

5.1.1 Caracterización físico-química de la pulpa de parchita:

El conocimiento de las características iniciales de la materia prima a utilizar es un aspecto importante a la hora de desarrollar un producto, ya que éstas influyen en las características finales del mismo. De esta forma, se puede obtener información de si algún parámetro tiene efecto en la calidad de los atributos sensoriales al final del procesamiento del producto.

Entre las determinaciones que generalmente se realizan para la caracterización de las frutas están los sólidos solubles (°Brix), que se utilizan como índice del contenido de azúcares y están relacionados con el grado de madurez de las mismas (Chen y col., 1993); la determinación del pH, que se define como el logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno en solución y que es de importancia, ya que suministra información sobre la estabilidad microbiológica de la materia prima (Stratford y col., 2000); la acidez titulable, expresada como gramos de acido cítrico/100 ml, de la misma manera que el pH, permite predecir qué tipo de microorganismos son capaces de desarrollarse en la materia prima y en los productos obtenidos a partir de esta (Stratford y col., 2000), aunque de acuerdo con Hatcher y col. (2001), los valores obtenidos para los jugos de frutas y fruta fresca hace muy poco probables el crecimiento de microorganismos perjudiciales para la salud.

En la **Tabla IV** se pueden observar, los valores promedio de los parámetros físicos y químicos obtenidos para la pulpa de parchita que fue utilizada en la preparación del texturizado funcional. En esta tabla, se presentan los valores

de sólidos solubles totales, pH y de acidez titulable, que son parámetros relacionados con el sabor, y los parámetros de color (*L*, a* y b**) que son utilizados para describir objetivamente los cambios de color en los frutos. El color es uno de los principales atributos de calidad que el consumidor toma en cuenta al momento de decidir la compra de un producto fresco. La pérdida de color disminuye considerablemente la calidad del producto, por eso se investigan tecnologías que garanticen un buen color del producto durante el almacenamiento.

El resultado obtenido para la actividad de agua (a_w) fue de 0,984, siendo este valor ligeramente inferior a los reportados por Cardellichio (1995) y Soto (1995), quienes obtuvieron valores entre 0,987-0,992 para las pulpas que trabajaron.

Estas diferencias pueden señalar la alta variabilidad de este tipo de materia prima.

Tabla IV. Caracterización físico-química de la pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. Flavicarpa) utilizada como materia prima.

Parámetro		**Pulpa de Parchita***
a_w		0,984 (±0,001)
Sólidos Solubles (°Brix)		16,6 (±0,144)
pH		2,85 (±0,014)
Acidez Total Titulable (g de ácido cítrico/100 ml)		3,78 (±0,016)
°Brix/Acidez		4,48 (±1,082)
Color	L*	51,73 (±0,051)
	a*	17,82 (±0,256)
	b*	68,2 (±0,095)

(*****)Medias de tres determinaciones.

Como se puede ver en la **Tabla IV**, el contenido de sólidos solubles promedio que se obtuvo para la pulpa de parchita fue de 16,6°Brix. Este valor resulta ser mayor al obtenido por Solar (2006), el cual obtuvo un valor promedio de 14°Brix para la pulpa de parchita que extrajo. Mouquet y col. (1997) reportaron valores de 15,5°Brix para una pulpa de parchita obtenida en Kenia. El valor reportado para parchita cultivada en Brasil es de 11,30°Brix (Matsuura y col., 2004); mientras que para parchita cultivada en Venezuela, los autores Cardellichio (1995) y Soto (1995), reportan valores entre 15 y 16°Brix; también valores semejantes a estos encontró Namutebi (1998) en parchitas de Uganda. Toda esta información indica que el valor promedio de sólidos solubles obtenido en este trabajo es quizás un poco más alto que los reportados por el resto de los autores.

En cuanto al valor promedio de pH obtenido para la pulpa de parchita, este fue de 2,85, resultando semejante a los valores de pH reportados por otros autores como Cardellichio (1995), Soto (1995), Mouquet y col. (1997), Matsuura y col. (2004) y Solar (2006), los cuales reportaron valores de pH de 2,7; 3,0; 2,89; 2,93 y 2,91, respectivamente. De acuerdo a este valor de pH, se puede clasificar la pulpa de parchita como altamente ácida tal y como se expresa en la norma COVENIN 2278-85 (Covenin, 1985) para alimentos que tienen pH<3,7; esto constituye una barrera natural para que la pulpa de parchita esté protegida de microorganismos deteriorativos y patógenos.

En la **Tabla V**, se observan valores representativos para la pulpa de parchita y que fueron obtenidos por diversos autores en diferentes partes del mundo, esto a modo de comparación con los resultados obtenidos en este trabajo, pudiéndose observar que algunos parámetros pueden coincidir con los reportados, pero también se pueden observar variaciones que podrían deberse a una variedad de factores.

El valor promedio de acidez total titulable obtenido para la pulpa de parchita fue de 3,78; siendo este valor superior a los reportados por diferentes autores para este parámetro: 3,4; 3,0; 0,92-1,37; 3,69 y 2,09 (Cardellichio, 1995; Soto, 1995; Namutebi, 1998; Matsuura y col., 2004 y Solar, 2006). Estas diferencias podrían deberse a las características del cultivo de donde proviene la fruta, incluso a los terrenos donde éstas se desarrollan y son cosechadas; por otra parte, están las diferencias de maduración, pues estos estudios no aseguran que todas las unidades estudiadas del fruto estén en el mismo punto de la etapa de maduración.

La relación °Brix/Acidez también conocida como Índice de maduración, permite hacer comparaciones más precisas con pulpas obtenidas por otros investigadores (**Tabla V**). Esto podría explicar, como se dijo antes, la diferencia entre los valores obtenidos para las diferentes variables físicas y químicas de las pulpas de parchita, así como la presencia de microorganismos deteriorativos que son propios de la fruta y que intervienen también en los procesos de maduración. Mientras mayor sea el valor del índice, mayor será el nivel de maduración de la fruta, esto dado por el

aumento de azúcares libres que elevan el contenido de sólidos solubles, aumentando también la actividad de microorganismos y con ello el deterioro de la fruta. Al comparar la relación °Brix/Acidez obtenida para la pulpa de parchita, con la obtenida por otros autores (**Tabla V**), se puede ver que al menos para pulpa de parchita de Venezuela, el índice es muy similar, a diferencia del índice obtenido para frutas de la India.

Tabla V. Características de la pulpa de parchita, según datos de autores en diferentes países.

Característica	Venezuela		India	Brasil	Colombia
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
Sólidos solubles (°Brix)	17,2	13,1	14,5	18,5	15,2
Acidez total titulable (g de ácido cítrico/100 ml)	3,4	3,2	6,0	4,9	4,2
°Brix/Acidez	5,1	4,2	2,4	--	--
pH	3,0	3,0	3,0	2,8	2,9

Tomado y modificado de Aular y col., 1994.

(a) Aular y col. (1994), (b) Ochoa y col. (1984), (c) Pruthy (1963), (d) Araujo y col. (1974), (e) Torres y Giacometti (1966) (Tomado de Aular y col., 1994).

Una de las características físico-químicas más importante y resaltante de la pulpa de parchita es el color, el cual tiene un característico y llamativo tono amarillo-anaranjado. Por otro lado, el color es un atributo de calidad muy importante para los consumidores, sobre todo al momento de comprar o consumir frutas. Los parámetros *L**, *a** y *b** son utilizados para describir de

forma objetiva los cambios de color que puedan presentarse en un fruto o producto. El valor *L** representa la luminosidad de la muestra, donde 100 indica un color blanco o de máxima brillantez y 0 indica color negro u opaco. El valor positivo y negativo de *a** representa una coloración roja y verde, respectivamente. Por su parte, el valor positivo y negativo de *b** representa una coloración azul y amarilla, respectivamente. De acuerdo a los resultados que se reportaron para la pulpa de parchita obtenida en las dos extracciones realizadas en este trabajo, se obtuvieron los siguientes valores para los diferentes parámetros: *L** 51,73; *a** 17,82 y *b** 68,2 de modo que la pulpa utilizada tiene un color amarillo-naranja brillante. Comparando este resultado con otros publicados para pulpa de parchita, Namutebi (1998) y Delcio y col. (2004) reportaron valores para los parámetros *L** de 33,62 y 27,20, *a** -4,87 y 3,6 y *b** 16,04 y 14,7, respectivamente, es decir que la pulpa aquí analizada es más brillante, más roja y mas amarilla que la analizada por estos autores. Una vez más, es importante señalar que las diferencias encontradas pueden estar influenciadas por la forma de cultivo del fruto y su madurez, y además también puede haber diferencias en las variedades de las parchitas utilizadas. Cardellichio (1995) reportó los siguientes valores para pulpa de parchita *L** 43,8; *a** 4,7 y *b**80,2, siendo estos valores más parecidos, en cuanto a los valores de *L** y *b**, a los obtenidos en este estudio.

5.1.2 Caracterización microbiológica de la pulpa de parchita:

Desde el punto de vista de la caracterización microbiológica de la pulpa de parchita analizada, en la **Tabla VI** se presentan los valores promedios obtenidos en el recuento microbiano de aerobios mesófilos y psicrófilos, así como de mohos y levaduras; estas determinaciones fueron realizadas siguiendo las recomendaciones establecidas en la Norma Venezolana COVENIN 977-83 (Covenin, 1983), sin embargo, vale la pena destacar que en esta norma no se señalan valores ni cifras límites o permisibles para tales microorganismos.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se pueden observar un valor de 2,84 Log_{10} (UFC/ml) para aerobios mesófilos, mientras que los aerobios psicrófilos fueron menores a 2 Log_{10} (UFC/ml) y para mohos y levaduras fue de 4,03 Log_{10} (UFC/ml). El contaje más alto obtenido fue para el grupo de mohos y levaduras, lo cual es lógico debido a que este tipo de microorganismos es parte de la flora microbiana nativa de las frutas y participa en los procesos de fermentación durante la maduración de éstas (ICMSF, 1980).

Tabla VI. Caracterización microbiológica de la pulpa de parchita (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa*) utilizada como materia prima para la elaboración del texturizado funcional.

Microorganismo	Log_{10} (UFC/ml)
Aerobios mesófilos	2,84 Est.
Aerobios psicrófilos	<2 Est.
Mohos y levaduras	4,03

Por otra parte, el recuento de microorganismos aerobios fue bajo y esto pudo deberse en gran parte al tratamiento de limpieza previo al que fueron sometidas las parchitas antes de su procesamiento para la obtención de pulpa. La determinación de aerobios mesófilos puede ser utilizada como un indicador de calidad microbiológica en el alimento analizado (Jay, 1996).

De la Hoz (2008) reporta valores de contaje de microorganismos para una pulpa de guayaba de un estimado menor a 2 Log_{10} UFC/g para aerobios mesófilos, 3,81 Log_{10} UFC/g para aerobios psicrófilos y 5,72 Log_{10} UFC/g para mohos y levaduras. Al comparar con los valores obtenidos para la pulpa de parchita, se observan diferencias claras en el contaje de microorganismos, siendo un poco más elevado el contaje de aerobios psicrófilos y mohos y levaduras para la pulpa de guayaba, sin embargo, esto podría deberse a factores propios de ambos frutos, bien sea relacionados a su composición físico-química o a la forma de cultivo y cosecha.

Brackett y Splittstoesser (2001) mencionaron como ejemplos, para las fresas y las uvas frescas, un valor de aerobios mesófilos de 5-6 Log_{10} UFC/g, y para el tomate1-3 Log_{10} UFC/g, además señalan en este trabajo que los hongos y las levaduras superan en los vegetales 5 Log_{10} UFC/g.

Es importante resaltar que para desarrollar un producto, así como para implementar tecnologías enfocadas al mínimo proceso de los alimentos, el objetivo debe ser obtener un producto de buena calidad a partir de una materia prima de excelente calidad desde todo punto de vista (físico, químico y microbiológico), ya que el proceso debe estar enfocado en mantener la

calidad y prolongarla, ya que ningún proceso tenderá a mejorarla (De la Hoz, 2008).

5.2 Obtención de encapsulados de bífidobacterias

Siguiendo la metodología descrita en el punto 4.4, se obtuvieron los encapsulados de alginato de sodio conteniendo aproximadamente una concentración del 1% de bífidobacterias activas (**Figura 10**). El flujo de goteo ajustado y calculado en el reactor de borosilicato para la producción de encapsulados fue de 41 esferas por minuto y el tiempo total de goteo fue de unos 90 minutos.

Figura 10. Encapsulados de pulpa de parchita conteniendo bífidobacterias.

El diámetro promedio obtenido para los encapsulados obtenidos fue de 4 (±0,001) mm, y fue determinado usando un Vernier de precisión. Por otra parte, el peso promedio de cada encapsulado fue de 0,5 (±0,001) g.

5.2.1 Adición de bífidobacterias

Como se señaló en el procedimiento 4.4 de la metodología, la concentración de bífidos utilizada para la obtención de los encapsulados fue de aproximadamente 1%.

Al realizar el contaje de bífidos iniciales en los encapsulados, se obtuvo que éste fue mayor a 7 ciclos logarítmicos para los 10 g analizados, lo que definitivamente otorga la definición de “Probióticos” a los encapsulados, ya que como se ha reportado, para que un producto se considere probiótico, la concentración de microorganismos viables debe ser mayor a los 6 ciclos logarítmicos (Shah, 2000).

5.2.2 Estabilidad de la concentración de bífidobacterias en los encapsulados durante el almacenamiento

Una vez obtenidos los encapsulados, estos fueron almacenados a 4°C para luego ser incorporados en los texturizados. Sin embargo, una parte de ellos fue utilizada para realizar un análisis de estabilidad de la concentración de los bífidos y así determinar en qué momento del almacenamiento se pierde la característica de probióticos en los encapsulados y comparar estos resultados, más adelante, con los obtenidos para los texturizados funcionales de parchita, también durante el almacenamiento.

En la **Figura 11** se puede observar el comportamiento de la concentración de bífidos durante los días de almacenamiento de los encapsulados.

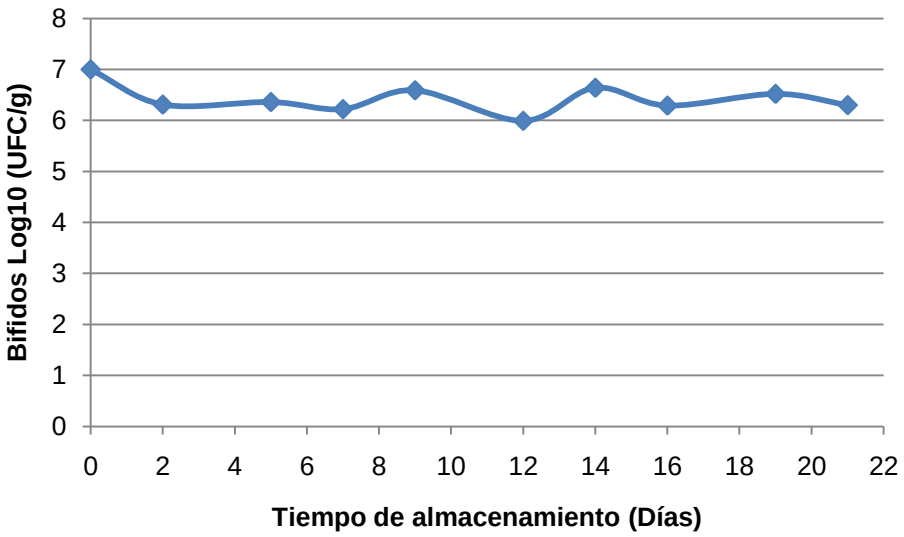


Figura 11. Estabilidad de la concentración de bífidobacterias en los encapsulados de alginato de sodio durante el almacenamiento refrigerado a 4°C.

En esta grafica, se puede ver que durante todo el tiempo de almacenamiento de los encapsulados, la concentración de bífidos estuvo por encima de los 6 ciclos logarítmicos, por lo que, al menos durante el tiempo de análisis, se mantuvo la característica de probiótico en ellos.

5.3 Obtención de la formulación final para la elaboración del texturizado funcional de parchita

5.3.1 Selección de la formulación del texturizado mediante ensayos preliminares

Un texturizado a base de pulpa de fruta se obtiene a partir de un líquido al cual se le incorporan un agente endulzante y un agente gelificante. Es por esto que se hizo necesario determinar la concentración de pulpa de parchita

que se utilizaría en la formulación del texturizado. En este caso, se hicieron pruebas cualitativas preliminares en el laboratorio utilizando concentraciones de 50% de pulpa de fruta para evaluar la gelificación de la gelatina con altas concentraciones de pulpa, obteniendo que el gel que se formaba era muy débil y no presentaba las características deseadas para el texturizado. Luego de esto, se realizó una segunda prueba de laboratorio utilizando tres concentraciones de gelatina (3,4,5 %) y dos concentraciones de pulpa de parchita (30y 40%) y con un ajuste de 40°Brix de acuerdo a lo reportado por Mouquet y col. (1997) y Solar (2006), quienes utilizaron este ajuste de sólidos solubles para obtener texturizados de frutas. En este caso, el resultado obtenido fue que con menores concentraciones de pulpa, se lograba una buena gelificación de la gelatina para la concentración de 5%.

La determinación de la concentración de pulpa de parchita, así como el ajuste de ºBrix ideales para el desarrollo del texturizado se determinó mediante una prueba sensorial, basada en un análisis de comparación de rangos de las muestras por atributo (color, aroma, sabor y apreciación global), empleando cincuenta (50) panelistas, obteniendo que entre las seis formulaciones presentadas a los mismos (**Tabla VII**) con un $p<0,05$, no hubo diferencia estadísticamente significativa en la preferencia de los distintos atributos, ya que las diferencias de rangos, de acuerdo a la tabla utilizada (Newell y MacFarlane, 1987), fueron menor a la del rango crítico obtenido para las muestras en cada atributo.

Un ejemplo de los resultados obtenidos para las diferentes muestras, se presenta en la **Tabla VIII** para el caso del atributo “Apreciación global”, donde cada una de las seis muestras ocupó el lugar 1, 2 o 3 de preferencia de los panelistas durante la evaluación de tres muestras presentadas.

Tabla VII. Formulaciones con diferentes concentraciones de pulpa y ajuste de °Brix que fueron presentadas a los panelistas para su evaluación en una prueba de diferencia de rangos.

Pulpa (%)	Sólidos solubles (°Brix)
20	30
30	30
40	30
20	40
30	40
40	40

Con los resultados presentes en la **Tabla VIII**, se calcularon las diferencias de rango absoluto entre las diferentes muestras evaluadas, obteniendo los valores que se muestran en la **Tabla IX**.

Tabla VIII. Resultados obtenidos en la prueba sensorial preliminar del atributo “Apreciación global” de las muestras por parte de los panelistas y la suma de rangos para cada una de ellas.

Panelista	Muestra (Código)						Panelista	Muestra (Código)					
	891	687	764	862	524	362		891	687	764	862	524	362
1		1			2	3	26		3	2	1		
2			1	3	2		27		1	2			3
3	2	3		1			28	3	2				1
4				3	2	1	29			2	1		3
5	3	1	2				30			2	1		3
6	1				2	3	31			2		3	1
7			3	1	2		32	2	3		1		
8	1	3			2		33		2		1	3	
9	1				2	3	34		3	1			2
10			2		1	3	35	2	1				3
11			1		3	2	36			1	2	3	
12	3	2			1		37		3		2	1	
13		3		2	1		38	2		1		3	
14	2	1		3			39	2		3			1
15	3		2		1		40	1			2		3
16		2	3	1			41	1	2			3	
17	3			2	1		42	3	2				1
18	1		3		2		43			3	2	1	
19	2	3		1			44	1			2		3
20		1			2	3	45			1	3	2	
21	2	1		3			46		3		1	2	
22	3		2			1	47	1			2	3	
23		1		3		2	48		1	2			3
24	1		2			3	49		1	2			3
25			2	3		1	50	1		2			3
							Suma de Rangos	**47**	**49**	**49**	**47**	**50**	**58**

Tabla IX. Valores absolutos de las diferencias de rango entre muestras, obtenidos en la prueba sensorial preliminar para el atributo “Apreciación global”.

Rango	Diferencia obtenida
|R891-R687|	2
|R891-R764|	2
|R891-R862|	0
|R891-R524|	3
|R891-R362|	11
|R687-R764|	0
|R687-R862|	2
|R687-R524|	1
|R687-R362|	9
|R764-R862|	2
|R764-R524|	1
|R764-R362|	9
|R862-R524|	3
|R862-R362|	11
|R524-R362|	8

Cada código de tres dígitos corresponde a una de las muestras evaluadas por los panelistas.

Newell y MacFarlane (1987) presentan en su trabajo la tabla mostrada en el **Anexo 1**, con un nivel de significancia de 5%, que toma en cuenta la diferencia de suma de rangos de las diferentes muestras. De acuerdo a esta tabla, para que exista una diferencia significativa entre dos muestras se debe cumplir lo siguiente:

$$|R_a - R_b| \geq 54$$

Donde R_a corresponde al valor de la suma de rangos de una de la muestra evaluada y R_b al de otra muestra con la que se quiere comparar la primera.

54 es el valor que se tomó para el cálculo de significancia, donde se tenían 50 panelistas y 6 muestras (Newell y MacFarlane, 1987).

Este resultado confirma que, con un nivel de significancia de 5% ($p<0,05$), no hay una diferencia significativa en la preferencia obtenida para los atributos de las diferentes muestras evaluadas. Se puede decir que el sabor de las diferentes formulaciones fue poco variable, al igual que la de los demás atributos, lo que indica que la pulpa de parchita utilizada es muy estable en cuanto a esas características sensoriales de color, aroma y sabor.

La escogencia de la concentración final de pulpa de parchita y de sólidos solubles (°Brix) se realizó de forma cualitativa por los comentarios hechos por los panelistas en la planilla de evaluación durante la prueba sensorial, de esta manera las formulaciones mejor comentadas y escogidas para las siguientes pruebas de formulación con la gelatina fueron las que contenían 30 y 40% de pulpa de parchita con 30°Brix.

Para los ensayos con la gelatina se utilizaron tres concentraciones de ésta (4, 5 y 6%). En este caso, los ensayos se realizaron con dos gelatinas, la que se propuso inicialmente para el trabajo (Gelatina comestible con aditivo, calidad RTE-GEL4) y otra proporcionada por Cenco–Zotti Alimenticia (Gelatina comestible, calidad RTE-JELLY, origen de cuero bovino). Los resultados obtenidos se pueden observar en la **Tabla X**.

Tabla X. Resultados de las evaluaciones cualitativas a nivel de laboratorio de formulaciones para la obtención de los texturizados en base a la concentración de gelatina.

Gelatina	Sólidos Solubles (°Brix)	Pulpa (%)	Concentración de gelatina (%)	Observaciones (sabor y textura)
Calidad RTE-GEL4	30	30	4	Muy dulce, formas granulares predominantes, se derrite rápidamente
	30	30	5	Dulzor y acidez agradable, compacta pero forma gránulos
	30	30	6	Sabor suave, textura gomosa agradable
	30	40	4	Muy ácido, textura muy débil
	30	40	5	Sabor y textura agradable al paladar
	30	40	6	Sabor agradable, textura gomosa y estructura difícil de deformar
Calidad RTE-JELLY	30	30	4	Textura suave, muy dulce
	30	30	5	Sabor no agradable, textura grumosa
	30	30	6	Sabor agradable, textura grumosa desagradable
	30	40	4	Sabor agradable, textura grumosa desagradable
	30	40	5	Sabor agradable, textura grumosa desagradable
	30	40	6	Sabor agradable, textura grumosa desagradable

La gelatina comestible Calidad RTE-GEL4 seria la ideal para el producto en una concentración de 5 o 6%, ya que la otra parece ser afectada por el pH de la pulpa de parchita utilizada. Sin embargo, la primera no pudo ser adquirida por motivos de restricciones de la importación. Sobre la base de los resultados obtenidos con la gelatina Calidad RTE-Jelly, se realizó un ajuste

de pH con citrato de calcio y sodio, y se llevó el pH a 4. Sin embargo, los resultados fueron los mismos, estructuras granulares presentes en el texturizado.

Como último recurso se decidió utilizar Gelatina Tipo B Bloom 220 30 Mesh (GELNEX, NY, USA) que fue proporcionada por Cenco–Zotti Alimenticia, la cual arrojó resultados satisfactorios al utilizar concentraciones de 5 y 6% de ésta en la formulación del texturizado, ya que se obtuvieron geles firmes y uniformes que son estables estructuralmente, por un tiempo no muy largo, sin ser refrigerados.

5.4 Formulación final del texturizado de parchita con ingredientes prebióticos y probióticos:

La formulación final del producto texturizado funcional de parchita, luego de los análisis preliminares, fue la siguiente:

30% de Pulpa de Parchita ajustada a 30°Brix, 6% de Gelatina, 1% de Inulina y aproximadamente 8 g de encapsulados de Bífidobacterias.

Una vez realizados y envasados los texturizados fueron refrigerados a 4°C (**Figura 12**).

La cantidad de encapsulados de Bífidos y de Inulina, se escogió de modo que la concentraciones utilizadas no fueran contraproducentes para los consumidores, pero que aun así le confirieran las características de probiótico y prebiótico al texturizado.

Figura 12. Lote de texturizados funcionales de parchita envasados que fueron refrigerados para su uso en la prueba de aceptación de consumidores.

La incorporación de encapsulados de bífidobacterias en el texturizado (**Figura 13**) se logró agregando el volumen del texturizado en el envase en dos partes para lograr la suspensión de los encapsulados en el centro de los mismos.

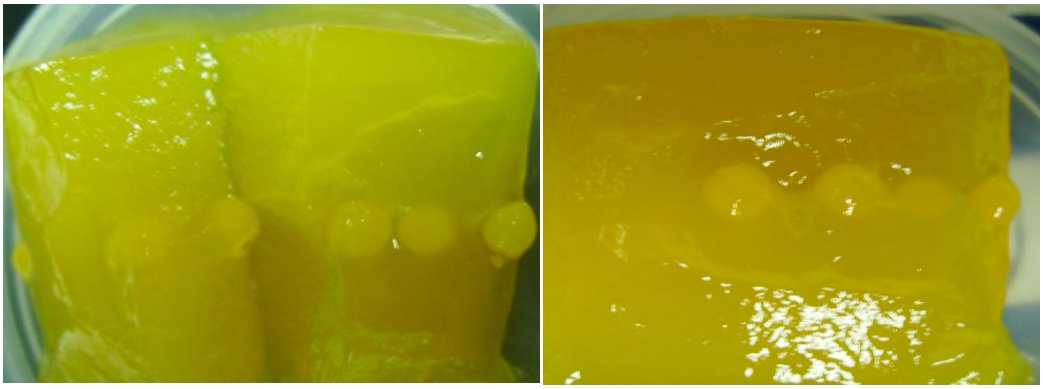


Figura 13. Vista de encapsulados presentes en el interior de los texturizados funcionales de parchita.

La incorporación del ingrediente prebiótico en el texturizado se realizó durante la preparación de la solución antes de ajustar los sólidos solubles.

5.4.1 Caracterización fisicoquímica

Una vez determinada la formulación final del texturizado funcional de parchita, y elaborados los mismos, estos fueron refrigerados y al día siguiente se realizaron los análisis fisicoquímicos correspondientes, obteniendo lo que se observa en la **Tabla XI**.

De acuerdo a estos resultados, se pueden observar los cambios, respecto a la pulpa de parchita utilizada, en los parámetros de pH, acidez titulable y color, que son los que pueden ser comparados. Como se puede ver, el pH aumenta un poco respecto a la pulpa, por lo que puede estar siendo afectado directamente por los ingredientes que son añadidos a la pulpa para realizar el texturizado. Por su parte, el valor de acidez titulable disminuye respecto a la pulpa, lo que es lógico ya que al realizar una dilución en agua de la pulpa

para la obtención del texturizado con la formulación final, la cantidad de gramos de ácido en un volumen, disminuye.

Tabla XI. Caracterización físico-química del texturizado funcional de parchita luego de un día de preparación.

Parámetro		Pulpa de Parchita*
a_w		0,965 (±0,000)
Sólidos Solubles (°Brix)		31,5 (±0,306)
pH		3,89 (±0,006)
Acidez Total Titulable (g de ácido cítrico/100 ml)		0,723 (±0,006)
Color	L*	45,28 (±0,598)
	a*	6,92 (±0,954)
	b*	42,31 (±0,975)
Dureza (g)		377,12 (±13,978)

(*****)Medias de tres determinaciones.

El color es un parámetro que también se ve afectado por la incorporación de ingredientes para la formación del texturizado, ya que como se observa en la **Tabla XI**, los valores disminuyen en comparación con la pulpa de parchita utilizada como materia prima.

El parámetro dureza, aunque no puede compararse con la pulpa por diferencias obvias, resultó ser mayor al obtenido por Solar (2006) para un texturizado funcional a base de parchita y carragenina, en este caso el valor más alto de dureza fue de 309,28 g, por lo que se necesitó una menor fuerza para romper la superficie del gel formado en ese caso. Esta diferencia podría deberse, como lo señala el mismo autor, a la agregación de Bífidobacterias

libres en el texturizado, lo que no sucede en el texturizado de parchita ya que los Bífidos están encapsulados.

5.4.2 Caracterización microbiológica

Se pudo observar, de acuerdo a lo reportado en la **Tabla XII**, que hubo un pequeño incremento en el número de aerobios mesófilos respecto a la pulpa, lo que podría estar influenciado por la manipulación de la materia prima al momento de elaborar el texturizado. Sin embargo, el contaje de mohos y levadura disminuye respecto a los valores encontrados en la pulpa de parchita y esto probablemente pudo deberse a la dilución realizada de la pulpa en agua para la obtención del texturizado, ya que por lo general este tipo de microflora es típica acompañante del fruto luego de la post cosecha.

Tabla XII. Caracterización microbiológica del texturizado funcional de parchita luego de un día de preparación.

Microorganismo	Log_{10} (UFC/ml)
Aerobios mesófilos	3,55
Aerobios psicrófilos	<2 Est.
Mohos y levaduras	2,16
Bífidobacterias	6,89

Por su parte, el contaje de Bífidobacterias estuvo por encima de los 6 ciclos logarítmicos, de modo que el texturizado puede considerarse probiótico y,

por ende funcional, aunque el contaje es menor al reportado inicialmente por los encapsulados antes de su almacenamiento (día 0).

5.5 Evolución y estabilidad de los texturizados funcionales de parchita durante su almacenamiento a 4°C

Una vez obtenidos los texturizados, se realizó un análisis de estabilidad a través de una evaluación física, química, microbiológica y sensorial de los mismos durante un periodo de almacenamiento de 27 días a una temperatura de 4°C. Para comprobar si habían diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) durante el almacenamiento de los texturizados, respecto a los parámetros evaluados, se realizó un ANOVA y luego un análisis “a posteriori” (Tukey HSD) para verificar cuáles eran los días que estaban reportando la diferencia estadística.

5.5.1 Evolución de las características fisicoquímicas

5.5.1.1 Evolución de los sólidos solubles, pH, acidez titulable y a_w

En la **Tabla XIII** se presentan los valores correspondientes a las medias de sólidos solubles, pH, acidez titulable y actividad de agua, determinados para los texturizados funcionales de parchita durante 27 días de almacenamiento.

Tabla XIII. Evolución de los sólidos solubles, pH, acidez titulable y actividad de agua de los texturizados funcionales de parchita, en un periodo de 27 días almacenados a 4°C.

DIA	Sólidos Solubles (°Brix)	pH	Acidez Titulable (g de ácido cítrico/100g muestra)	a_w
3	$32,3^{a,b}$	$3,85^{a,b}$	$0,7210^{a}$	$0,965^{a}$
5	$30,6^{a}$	$3,94^{a}$	$0,7357^{a,c}$	$0,965^{a}$
7	$32,7^{b,c}$	$3,80^{b}$	$0,7468^{a,d}$	$0,966^{a}$
10	$33,9^{b,d}$	$3,95^{a}$	$0,7983^{b,d}$	$0,965^{a}$
12	$31,4^{a,c,e}$	$3,75^{b}$	$0,7725^{a,b}$	$0,968^{a}$
14	$32,2^{a,b}$	$3,80^{b}$	$0,7578^{a,b}$	$0,964^{a}$
24	$33,1^{b,e,f}$	$3,84^{a,b}$	$0,7872^{b,c,d}$	$0,964^{a}$
27	$31,5^{a,c,f}$	$3,75^{b}$	$0,8056^{b}$	$0,968^{a}$

Cada valor representa la media de tres determinaciones. Para cada columna, superíndices con letras iguales, indican que no hay diferencia significativa ($p<0,05$) entre los valores durante el tiempo de almacenamiento.

Se pudo observar que el contenido de sólidos solubles presentó diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) entre alguno de los días del estudio y de acuerdo al análisis estadístico, notándose que respecto a los °Brix iniciales hubo incrementos en los valores durante el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, se presentaron aumentos y disminuciones en los valores durante todo el almacenamiento que podrían evidenciar la diferencia entre los texturizados evaluados al azar y que no existe homogeneidad en la solución de la formulación final utilizada en la elaboración de los mismos.

Para los parámetros acidez titulable y pH se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) respecto a los diferentes días de almacenamiento, sobre todo entre los primeros y últimos días del

almacenamiento, donde se puede observar que la acidez titulable tuvo un incremento respecto al valor inicial y el pH tuvo una disminución, esto puede observarse más fácilmente en las gráficas de la **Figura 14**, donde se observan la tendencia de aumento y disminución de ambos parámetros respectivamente.

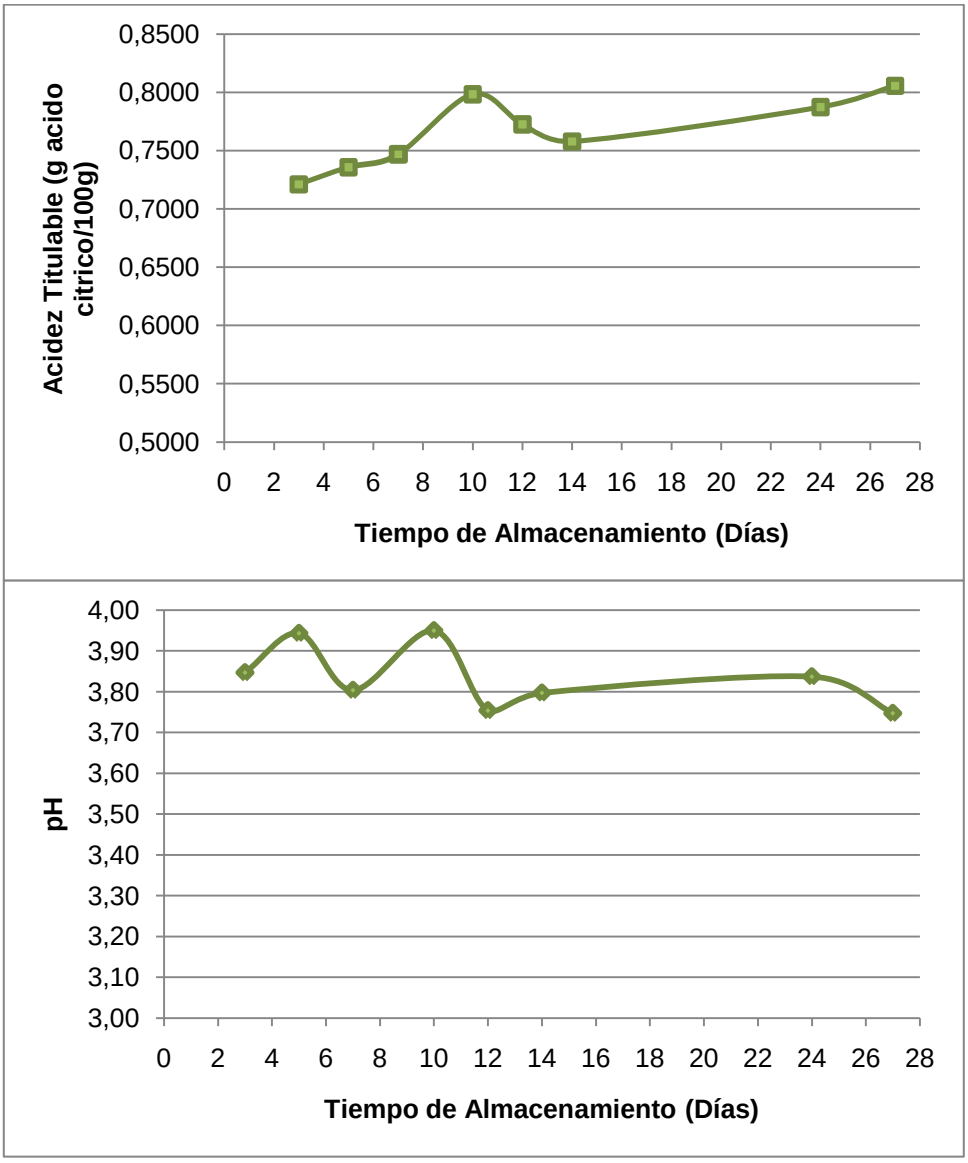


Figura 14. Variación de acidez titulable y pH en el texturizado funcional de parchita durante su almacenamiento a 4°C.

El comportamiento anteriormente descrito está íntimamente relacionado, ya que, como se puede observar en la **Tabla XVII** más adelante, ellos tienen una correlación negativa, de modo que si la acidez aumenta, el pH disminuye pues se torna más acido el texturizado. El parámetro acidez titulable, como se dijo antes, va ligado a la cantidad de ácido presente en el texturizado, principalmente acido cítrico, que es el predominante en la pulpa de parchita, sin embargo, debe considerarse la posibilidad que esté aumentando y siendo cuantificada, la cantidad de otros ácidos en el texturizado debida a la actividad de microorganismos fermentadores como las levaduras, que están presentes.

Respecto al valor de a_w se tiene que no hay diferencia significativa ($p<0,05$) entre los diferentes días de almacenamiento, lo que es muy positiva pues demuestra que este parámetro se mantiene estable y así regula la actividad de los microorganismos en el texturizado. Sin embargo, el valor de a_w no es tan bajo como para evitar el crecimiento de todos los microorganismos, aun así, si a esto se le une el bajo valor de pH y la alta acidez, el resultado es un producto muy estable y esto podrá verse en la evaluación microbiológica, ya que los parámetros juntos conforman una barrera de protección y de preservación del texturizado.

5.5.1.2 Evolución de los parámetros de color

En la **Tabla XIV** se presentan los resultados en los parámetros L*, a* y b* observados en el texturizado. El parámetro L* presenta diferencias estadísticas significativas ($p<0,05$) durante el almacenamiento del texturizado, de modo que al final del almacenamiento el producto se oscurece respecto al inicio del estudio y esto se determina por una disminución del valor del parámetro en el tiempo.

Tabla XIV. Evolución de los parámetros del color (L*, a* y b*) de los texturizados funcionales de parchita, en un período de 27 días almacenados a 4°C.

DIA	L*	a*	b*
3	45,34^{a}	6,69^{a,b}	42,03^{a}
5	44,53^{a,c}	8,16^{a}	43,27^{a}
7	45,09^{a}	6,23^{b,c}	41,59^{a}
10	47,30^{d}	6,13^{b,d}	44,52^{a}
12	42,67^{b}	7,76^{a,c,d}	41,73^{a}
14	42,86^{b,c}	5,93^{b}	40,59^{a}
24	43,26^{b,c}	5,84^{b}	41,50^{a}
27	44,26^{a,b}	7,43^{a,b}	45,46^{a}

Cada valor representa la media de tres determinaciones. Para cada columna, superíndices con letras iguales, indican que no hay diferencia significativa ($p<0,05$) entre los valores durante el tiempo de almacenamiento.

De acuerdo a Matsuura (1994), citado por Delcio y col. (2004), el aumento inicial en la luminosidad (parámetro L*), en los jugos de parchita, puede ser causado por la destrucción de las estructuras carotenoides, dando lugar a un color más pálido. A lo largo del tiempo, otros compuestos pudieran aparecer como producto de reacciones de oscurecimiento no enzimáticas, oxidación

del ácido ascórbico o precipitación de pigmentos, contribuyendo a la reducción de la luminosidad, dando una apariencia más oscura al jugo (Sistrunk y Cash (1974) y Remacha y col. (1992), citados por Delcio y col. (2004)).

El parámetro a* también presenta diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$), pero no se observa una tendencia clara hacia el aumento o disminución del mismo. Sin embargo, de acuerdo a lo reportado por Delcio y col. (2004), cuando investigaron los cambios de color en jugos de parchita sometidos a diferentes regímenes de pasteurización, encontraron que la intensidad del color rojo (a*) tenía pequeños incrementos durante el almacenamiento, de modo que con el tiempo, la formación de otros compuestos como los discutidos anteriormente, incrementan el color oscuro en el jugo, contribuyendo con la intensidad del color rojo.

Por su parte, el parámetro b* no presentó diferencias estadísticas significativas durante el almacenamiento, lo que demuestra que el color amarillo en los texturizados es muy estable. Esto difiere de los resultados obtenidos por Delcio y col. (2004), quienes encontraron que el color amarillo de los jugos pasteurizados sufre pérdidas en el tiempo.

5.5.2 Evolución de las poblaciones microbianas

En la **Tabla XV** se presentan los resultados de la evolución de las poblaciones microbiológicas de aerobios mesófilos, aerobios psicrófilos,

bífidos, mohos y levaduras presentes en el texturizado funcional de parchita durante 27 días de almacenamiento a 4°C.

A lo largo del análisis, no se encontró crecimiento de aerobios psicrófilos como tampoco ocurrió en la pulpa de parchita fresca en su análisis inicial. Por su parte, los contajes de aerobios mesófilos, mohos y levaduras presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) durante los días de almacenamiento. En estos casos existe una tendencia a aumentar el número de unidades formadoras de colonias durante los primeros días del análisis, seguida por una disminución de las mismas, que podría estar siendo afectada por los cambios de pH y acidez explicados anteriormente y que detienen el crecimiento microbiano. Sin embargo, para los últimos días del análisis se vuelve a presentar un aumento de estas poblaciones.

Por otra parte, los resultados mostrados en la **Tabla XV** para el contaje de aerobios mesófilos, mohos y levaduras, resulto mayor a los obtenidos por Solar (2006) para texturizados funcionales a base de carragenina y pulpa de parchita y a los obtenidos por De la Hoz (2008), para texturizados a base de carragenina y pulpa de guayaba; estos autores reportan valores menores a los 3 ciclos logarítmicos para estos microorganismos, lo que difiere de los reportados en este trabajo, que llegaron a superar los 4 ciclos logarítmicos.

Tabla XV. Evolución de las poblaciones de aerobios mesófilos, aerobios psicrófilos, mohos y levaduras y bífidos presentes en los texturizados funcionales de parchita, durante su almacenamiento a 4°C en un período de 27 días.

DIA	Microorganismos Log10 (UFC/g)			
	Aer. Mesófilos	Aer. Psicrófilos	Mohos y Levaduras	Bífidos
3	3,61 ^{a}	<2Est ^{a}	2,13Est ^{a}	6,62^{a}
5	3,65 ^{b}	<2Est ^{a}	3,15Est ^{b}	6,23^{b}
7	2,22Est ^{c}	<2Est ^{a}	3,4Est ^{c}	6,06^{c}
10	2,19Est ^{d}	<2Est ^{a}	1Est ^{d}	6,59^{d}
12	2,33Est ^{e}	<2Est ^{a}	1,4Est ^{e}	>7^{e}
14	2,19Est ^{d}	<2Est ^{a}	4,48Est ^{f}	6,59^{d}
24	1,7Est ^{f}	<2Est ^{a}	2,19Est ^{g}	6,24^{b}
27	4,73 ^{g}	<2Est ^{a}	4,58 ^{h}	5,73^{f}

Cada valor representa la media de tres determinaciones. Para cada columna, superíndices con letras iguales, indican que no hay diferencia significativa ($p<0,05$) entre los valores durante el tiempo de almacenamiento.

Las poblaciones de microorganismos aerobios en productos vegetales pueden ser altas, alrededor de 6 ciclos logarítmicos, aunque el valor típico puede variar entre 4 y 6 ciclos, mientras que los mohos y las levaduras en los vegetales, superan los 5 ciclos logarítmicos (Brackett y Splittstoesse, 2001). De esta manera, a pesar que los texturizados se formularon a partir de pulpa de fruta fresca, éstos presentaron un recuento de microorganismos dentro de los limites reportados para frutas y vegetales. Cabe destacar que, de acuerdo a Brackett y Splittstoesse (2001), durante el almacenamiento existe una tendencia al aumento de las poblaciones microbianas presentes en los productos, pero el grado y la tasa de crecimiento dependerá de las condiciones de almacenamiento y del propio producto.

El recuento de bífidobacterias, presentó diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$) a lo largo del tiempo de almacenamiento. De acuerdo a estos resultados, se puede ver que al menos durante los primeros 24 días del análisis realizado, el producto texturizado mantuvo su característica de alimento funcional, ya que el contaje de bífidobacterias estuvo por encima de los 6 ciclos logarítmicos, lo que cambio en el último día de análisis donde el recuento disminuyó por debajo de este valor. Quizás hizo falta un día más de análisis para corroborar que realmente hubo una disminución del valor o solo fue un error en la determinación.

En la **Figura 15** se puede observar la tendencia de la población de bífidobacterias durante el almacenamiento, donde se observa una disminución de la población durante los primeros 7 días del análisis seguida de un aumento brusco del número de microorganismos. Esto podría significar que los microorganismos necesitaron de un período de adaptación en la matriz del texturizado para poder activar su crecimiento y multiplicación, la cual pudo verse favorecida por la presencia de inulina que es un promotor de crecimiento de estos microorganismos. Sin embargo, luego de que la inulina presente en los alrededores de los encapsulados se agotó y ya los microorganismos no dispusieron de ella, pudo comenzar nuevamente la disminución de su población en los texturizados.

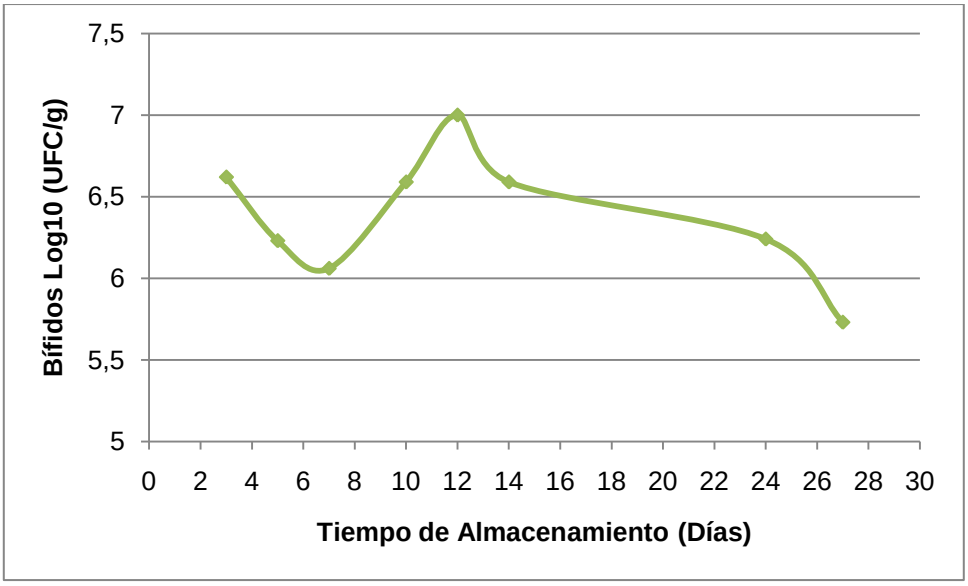


Figura 15. Evolución de la población de bífidobacterias durante el almacenamiento del texturizado funcional de parchita.

Si se comparan los resultados obtenidos para las bífidobacterias en los texturizados, con los reportados para los encapsulados sin incorporase en los texturizados, puede verse que el contaje de estos últimos fue mayor durante su análisis de estabilidad, sin embargo, debió realizarse un estudio de estabilidad más largo para los encapsulados y determinar el tiempo que tardan en perder su característica de alimento funcional.

5.5.3 Evolución de la textura instrumental de los texturizados funcionales de parchita

De acuerdo a Bourne (1982), citado por Borwankar (1992), la textura junto a la apariencia y el "flavor", son los factores de calidad más importantes involucrados con la aceptabilidad de los alimentos, siendo la textura una manifestación sensorial de la estructura de éstos y la manera en que reacciona al aplicarle una fuerza

En las gelatinas, de acuerdo a Rosenthal (2001), la unión intermolecular es muy fuerte y se forma un gel que no puede romperse fácilmente y que puede ser lo suficientemente firme para que, bajo fuerza, el gel se divida, sin embargo, estos geles se pueden desestabilizar y separarse con simples cambios de temperatura.

El parámetro de textura evaluado para el análisis de estabilidad en este caso fue el de dureza. Szczesniak (1975) definió a la dureza como el máximo pico de fuerza durante el primer ciclo de compresión y es a menudo sustituido por el término firmeza.

En la **Tabla XVI** se muestran los resultados obtenidos para el parámetro dureza durante el almacenamiento del texturizado funcional de parchita. Los resultados indican que hay una diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) muy marcada entre los días de evaluación.

Tabla XVI. Evolución de la textura (Dureza) de los texturizados funcionales de parchita durante el almacenamiento a 4°C, en un período de 27 días.

Día	Dureza (g)
3	377,041[a]
5	377,193[a]
7	326,621[b]
10	286,253[c]
12	241,846[d]
14	159,861[e]
24	179,740[e]
27	150,968[e]

Cada valor representa la media de tres determinaciones. Para cada columna, superíndices con letras iguales, indican que no hay diferencia significativa ($p<0,05$) entre los valores durante el tiempo de almacenamiento.

Durante el tiempo de almacenamiento, se observa que, en líneas generales, el valor de la dureza disminuyó, de modo que la resistencia que el texturizado ofrece a una deformación física, disminuye.

Esta disminución de la dureza podría deberse a la disolución parcial de la gelatina, dada por un aumento de sinéresis en el producto, esto es reportado también por Luh y col. (1977) cuando caracterizaron geles de alginato mezclados con gelatina, donde sugieren que la pérdida de dureza podría deberse a una disolución parcial de la gelatina.

Al comparar los resultados obtenidos con los reportados por Solar (2006) para geles con un 1% de carragenina y pulpa de parchita, éste también registra una disminución en la dureza de los texturizados, sin embargo, la dureza para estos geles inicialmente estuvo por debajo de los 320 g, es decir que el valor de este parámetro es mayor para los texturizados obtenidos a base de gelatina.

Luego de analizar los resultados del análisis de varianza y para determinar qué parámetro físico, químico o microbiológico podría estar relacionado con los cambios en la textura de los texturizados, se realizó una correlación de Pearson (**Tabla XVII**) de los parámetros evaluados durante los 27 días de almacenamiento.

Tabla XVII. Coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros físicos, químicos y microbiológicos estimados para el texturizado funcional de parchita.

	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
1	1	0,318	0,344	0,056	0,348	-0,404	0,081	-0,132	-0,370	-0,268	-0,018
2		1	-0,034	-0,062	**0,494***	-0,084	-0,074	**0,485***	**0,431***	-0,136	-0,141
3			1	0,265	-0,035	-0,118	0,124	**-0,629****	**-0,735****	**-0,405***	0,005
4				1	-0,057	0,102	-0,052	-0,117	-0,120	-0,180	0,131
5					1	-0,184	0,001	0,392	0,181	-0,305	-0,147
6						1	**0,623****	0,117	0,269	-0,104	0,086
7							1	-0,120	-0,032	-0,174	-0,075
8								1	**0,827****	-0,087	-0,057
9									1	0,101	0,123
10										1	-0,397
11											1

Parámetros: 1, °Brix; **2,** pH; **3,** Acidez titulable; **4,** a_w; **5,** L*; **6,** a*; **7**, b*; **8**, Dureza; **9**, Aerobios mesófilos; **10**, Mohos y levaduras; **11**, Bífidos

***** Correlación significativa a nivel $p<0,05$.

****** Correlación significativa a nivel $p<0,01$.

Luego de analizar los resultados de la correlación, se pudo observar que los cambios en el parámetro Dureza podría estar siendo influido por la acidez y el pH, que se correlacionan negativamente entre ellos y por el número de aerobios mesófilos presentes en el texturizado, el cual también se correlaciona con la acidez y el pH. Para determinar cuál de estos tres parámetros es el que influye en los cambios de dureza, se realizó una regresión lineal (stepwise), cuyos resultados se muestran en la **Tabla VIII,** donde se pudo concluir que es el contaje de aerobios mesófilos el que tiene una influencia estadísticamente significativa en dichos cambios, siendo quizás también estos microorganismos los que influyen en los cambios de pH y acidez, lo que puede verificarse al analizar el análisis de correlación de estos parámetros.

Tabla XVIII. Coeficiente de regresión lineal (stepwise) obtenido luego de la evaluación de parámetros significativos que influyen en el cambio de la dureza durante el almacenamiento del texturizado.

Variable dependiente	Variable independiente	Coeficiente de correlación	Coeficiente de regresión (R^2)
Dureza	Aer. Mesófilos	0,827	0,683
	pH	0,485 **N.S**	
	Acidez	-0,629 **N.S**	

(**N.S**) Correlación estadísticamente no significativa

5.6 Evaluación sensorial del texturizado funcional de parchita

Como se mencionó en la metodología, se realizaron dos tipos de evaluaciones sensoriales del texturizado, una con la finalidad de evaluar la estabilidad sensorial del mismo durante su almacenamiento y otra para evaluar su aceptación por parte de consumidores de diferentes edades.

5.6.1 Variación de los atributos sensoriales durante el almacenamiento del texturizado funcional

En la **Tabla XIX** puede verse la evolución de los parámetros sensoriales evaluados durante el almacenamiento refrigerado de los texturizados funcionales de parchita.

A lo largo del almacenamiento, se puede observar que los parámetros de color, aroma, sabor y apreciación global se mantuvieron relativamente estables, ya que no hay diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) en el tiempo de análisis. Estos parámetros en promedio tuvieron una puntuación otorgada entre 6 y 7, la cual corresponde en la escala hedónica utilizada a “Me gusta moderadamente” y “Me gusta mucho”.

En líneas generales, los texturizados siempre fueron del agrado de los panelistas durante el almacenamiento refrigerado, lo que era de esperarse ya que la parchita se mantiene muy estable en el tiempo en cuanto a parámetros sensoriales de aroma, color y sabor, siendo este último el que podría presentar variaciones que pudieran detectar los panelistas y que generalmente aparecen en este tipo de productos por la acción fermentativa de microorganismos.

Tabla XIX. Evolución de los parámetros sensoriales del texturizado funcional de parchita evaluados por panelistas semi entrenados durante el tiempo de almacenamiento.

Día	Color	Aroma	Textura	Sabor	Global
3	6,40^{a}	6,73^{a}	5,67^{a}	6,33^{a}	6,33^{a}
6	6,73^{a}	6,67^{a}	5,73^{a}	6,67^{a}	6,60^{a}
10	6,80^{a}	6,67^{a}	6,40^{a,b}	6,60^{a}	6,60^{a}
13	6,87^{a}	6,73^{a}	6,73^{b,c}	6,67^{a}	6,73^{a}
24	6,60^{a}	6,53^{a}	6,67^{b,d}	6,60^{a}	6,67^{a}
27	6,67^{a}	6,60^{a}	6,13^{a,c,d}	6,93^{a}	6,73^{a}

Cada valor representa la media de quince evaluaciones. Para cada columna, superíndices con letras iguales, indican que no hay diferencia significativa ($p<0,05$) entre los valores durante el tiempo de almacenamiento.

El parámetro sensorial de textura por su parte, presentó diferencias estadísticamente significativa ($p<0,05$) durante su evaluación durante el almacenamiento refrigerado, siendo muy curioso el hecho que en los comentarios, los panelistas opinaban que la textura más suave era más de su agrado y por eso la diferencia de puntuación en la evaluación entre los primeros días y los últimos.

Estos resultados del parámetro textura, son reforzados por los obtenidos en la medición instrumental de la textura (dureza), donde se observó una marcada disminución de dicho parámetro.

5.6.2 Evaluación sensorial a nivel de consumidores del texturizado funcional de parchita

Como última evaluación de los texturizados funcionales de parchita, se decidió realizar una evaluación sensorial a nivel de consumidores, para evaluar la aceptabilidad sensorial del producto. Los resultados obtenidos se presentan en la gráfica de la **Figura16**, donde se muestra el porcentaje de aceptación por parte de los consumidores discriminado por edades. Del total de panelistas no entrenados (n=106), que no habían probado el producto anteriormente, un promedio de 94% de ellos coincidió en que el producto le gustaba.

Algo muy positivo para el producto durante su evaluación, por parte de los consumidores, fue que la gran mayoría de éstos no notó la presencia de los encapsulados de bífidobacterias presentes en el interior del texturizado, aun cuando su textura era diferente a la de la gelatina.

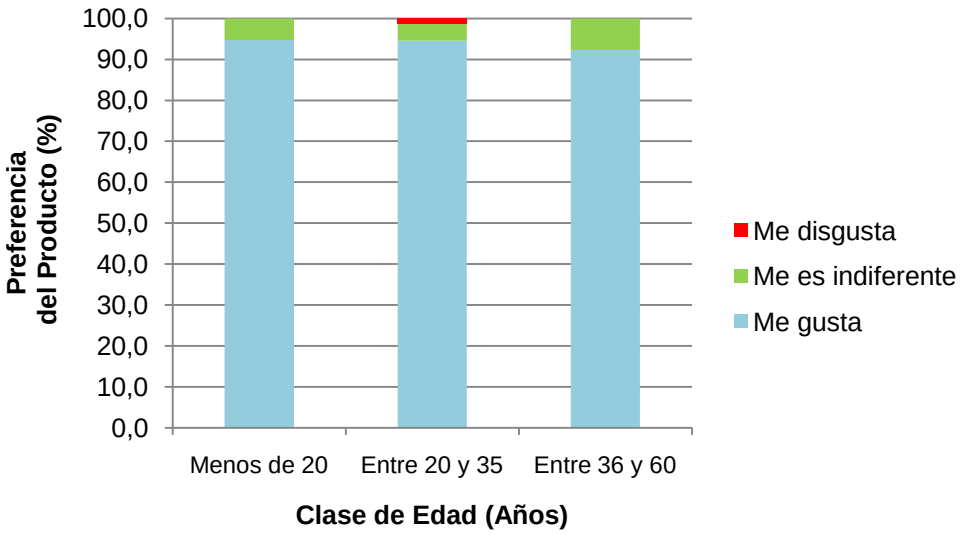


Figura 16. Resultado de la prueba de consumidores (n=106) de diferentes clases de edad, realizada con el texturizado funcional a base de gelatina y pulpa de parchita.

Del total de consumidores encuestado, aproximadamente un 91% señaló que compraría el producto si este saliera al mercado, ya que es un producto que otorga beneficios, es natural y muy bueno en cuanto al sabor (esto de acuerdo a los comentarios escritos en las planillas de evaluación). Sin embargo, solo un 71% de estos consumidores estaría dispuesto a pagar un precio mayor al de una gelatina comercial lista para consumir, ya que según sus comentarios, los productos de este tipo, que son saludables, deberían ser de fácil acceso a toda la población consumidora.

6. CONCLUSIONES

- Se logró desarrollar un texturizado a base de pulpa de parchita, utilizando como hidrocoloide una gelatina tipo B y con características funcionales conferidas por la adición de Inulina como prebiótico y de encapsulados de bífidobacterias como probióticos.

- La formulación final del producto texturizado funcional de parchita fue de 30% de Pulpa de Parchita ajustada a 30°Brix, 6% de Gelatina, 1% de Inulina y aproximadamente 8 g de encapsulados de bífidobacterias.

- La obtención de encapsulados de *Bifidobacterium* spp. utilizando alginato de sodio como membrana protectora fue satisfactoria, obteniendo una concentración mayor a los 7 ciclos logarítmicos por lo que efectivamente pudieron ser utilizados como componente probiótico del texturizado.

- El texturizado funcional de parchita a base de gelatina, presentó como características fisicoquímicas resaltantes un bajo pH (<4), actividad de agua de 0,965 y una acidez de 0,72 (como % de acido cítrico). Características que hacen al producto muy estable tanto fisicoquímicamente como microbiológicamente durante su almacenamiento bajo refrigeración.

- Las evaluaciones sensoriales realizadas, tanto con un panel semi entrenado como con un panel no entrenado de consumidores indican que el producto texturizado funcional de parchita tuvo una muy buena aceptación.

- La presencia de los encapsulados de bífidobacterias en los texturizados funcionales de parchita no fue notada por la gran mayoría de los consumidores al degustar el producto.

7. RECOMENDACIONES

- Para mejorar el análisis de estabilidad de la concentración de bífidobacterias en los encapsulados, se recomienda utilizar una concentración mayor al 1% de bífidos y además realizar el análisis en un período mayor a los 21 días.

- Realizar el análisis de estabilidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de los texturizados durante un período de almacenamiento mayor y así determinar el tiempo estimado de vida útil de los mismos.

- Estudiar la posibilidad de incorporar algún estabilizante en la formulación del producto para así evitar cambios significativos en las características de textura del mismo.

- Realizar pruebas sustituyendo el azúcar común por edulcorantes bajos en calorías de modo que el producto pueda ser de interés para los consumidores con dietas o regímenes especiales de alimentación baja en calorías.

8. BIBLIOGRAFIA

Agro Tropical. 2005. Agro Tropical. Pereira, Colombia. (http://www.agrotropical.andes.com).

Anal, A. K., Singh, H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci Technol*. **18**: 240-251.

Annan, N. T., Borza, A. D., Truelstrup, L. 2008. Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Food Res Int*. **41**: 184-193.

Arroyo, L., Cotton, L., Martin, J. 1995. AMC Agar. A composite medium for selective enumeration of *Bifidobacterium longum. Cultured Dairy Products J.*, **30**: 12 15.

Aular, J., Bautista, D. y Maciel, N. 1994. Características de la fruta de parchita en tres localidades del sur del Lago de Maracaibo. *Agro. Trop*. **46**: 119-127.

Barbosa-Cánovas, G. 2005. Food Powders: Physical properties, processing and Functionality. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, E.U.A.

Ben-Zion, O., Nussinovitch, A. 1996. Predicting the deformability modulus of multi-layered texturized fruit and gels. *Lebensm.-Wiss technologie*. **29**: 129–134.

Borwankar, R. 1992. Food Texture and Rheology: A Tutorial Review. *J. Food Eng*. **16**: 1-16.

Bosscher, D. 2005. Inuline and oligofructose as functional food ingredients. *Nutritional Research manager ORAFTI.* 2-16.

Brackett, R., Splittstoesser, D. (2001). Fruits and Vegetables. En: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Fourth Edition. APHA. New York. Chapter 49. 515–518p.

Cardelicchio, G. 1995. Estabilización de la pulpa de parchita (*Pasiflora edulis* S.) por métodos combinados. *Tesis de Licenciatura.* Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela.

Charteries, O., Kelly, P., Morellu, L., Collins, K. 1997. Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium species in mixed bacterial populations. *Int. J. Food Microbiol*. **35**: 1-27.

Chen, C. S., Shaw, P. E., Parish, M. 1993. Orange and tangerine juices. Págs. 110-155. En: Fruit juice processing technology. Nagy, S., Chen, C. S. y Shaw, P. E. (Eds). Agscience, Florida, USA.

COVENIN. 1977. Norma Venezolana Nº 1151-77. Frutas y productos derivados. Determinación de acidez. Caracas, Venezuela.

COVENIN. 1983. Norma Venezolana Nº 924-83. Frutas y productos derivados. Determinación de sólidos solubles por refractometría (1^{era} Revisión). Caracas, Venezuela.

COVENIN. 1983. Norma Venezolana N° 977-83. Pulpa de frutas. Consideraciones generales. Ministerio del Poder Popular para la Industria Ligera y Comercio. Caracas, Venezuela.

COVENIN. 1985. Norma Venezolana N° 2278-85. Alimentos comercialmente estériles. Evaluación de la esterilidad. Caracas, Venezuela.

De la Hoz, G. 2008. Desarrollo de un Texturizado de Pulpa de Guayaba (*Psidium guajava* L*)* tratado con Luz Ultravioleta (UV-C). *Tesis de Licenciatura*. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela.

Delcio, S., Paes, J. B., Gomes A., Ferreira, J., Parreiras, M., Coelho, M. y Lessa, P. 2004. Hunter Color Dimensions, Sugar Content and Volatile Compounds in Pasteurized Yellow Passion Fruit Juice (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) during Storage. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. **47**:233-245.

De Vuyst, L. 2000. Technology Aspects Related to the Application of Functional Starter Cultures. *Food technol. biotechnol*. **38**: 105-112.

Farr, D. 1997. Functional Foods. *Cancer Letters*. **114**:59-63.

Grizotto, R., Bruns, E., De Aguirre, J., De Menezes, H. 2007. Technological aspects for restructuring concentrated pineapple pulp. *LWT- Food Sci Technol*. **40**: 759-765.

Harris, P. 1990. Food Gels. *Elsevier applied science.* London, Inglaterra.

Hatcher, W. S., Parish, J., Wehe, J. L., Splittstoeser, L. y Woodward, B. 2001. Fruits beverages. Págs. 565-568. En: Compendium of methods for the microbiological examination of food. 4º Ed. Keith, D. (Ed). American public health association.

Heidebach, T., Forst, P., Kulozik, U. 2009. Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocolloid*. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.01.006.

Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S., Razavi, S. H. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of symbiotic ice cream. *Food chem.* **111**: 50-55.

Hoyos, J. 1994. Frutales en Venezuela. Sociedad de ciencias naturales de la Salle, Segunda edición, Caracas, Venezuela.

Huxsoll y Bolin. 1989, Processing and distribution alternatives for minimally fruit and vegetables. *Fodd Tech.* **43**: 123.

ICMSF. 1980. Ecología microbiana de los alimentos 1. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Jay, I. M. 1996. Modern food microbiology. 5ta Ed. Chapman y Hall, New Cork, USA.

Kahan, G., Cooper, D., Papavasiliou. y Kramer, A. 1973. Expanded tables for determining significance of differences for ranked data. *Food Technol.* **27**: 63-69.

Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Lebensm.-Wiss technologie*. **39**: 1221-1227.

Kamaldeep, D. 2004. Passiflora: a Review update. *J. Ethnopharmacology.* 1-23.

Karim, A., Bhat, R. 2008. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects. *Trends Food Technol*. **19**: 644-656.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. 2006. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yogurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. *Lebensm.-Wiss technologie*. **39**: 177-183.

Lau, M., Tang, J., Paulson, A. 2001. Effect of polymer ratio and calcium concentration on gelation properties of gellan/gelatin mixed gels. *Food Res Int*. **34**: 879-886.

Levy, D. 2008. Desarrollo de un producto esferificado a base de concentrado comercial de parchita (*Passiflora* sp.) tratado con luz ultravioleta. Tesis de Maestría. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Lodge, N. 1981. Kiwi fruit: two novel processed products. *Food Technol New Zealand*. **16**: 35-41.

Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B. 2001. Yogurt as probiótico carrier food. *Int. Dairy J*. **11**: 1-17

Luh, N., Flink, J. y Karen, M. 1977. Fabrication, characterization, and modification of the texture of calcium alginate gels*. J. Food Sci.* **42**:4.

Matsuura, F. C., Folegatti, M. I., Cardoso, R. L. y Costa Ferreira, E. 2004. Sensory acceptance of mixed nectar of papaya, passion fruit and acerola. *Sci. Agric*, **61:** 604-608

McHugh, D. 2002. Perspectivas para la producción de algas marinas en los países en desarrollo. FAO Circular de Pesca. No. 968. Roma, FAO. 30.

Morton, J. 1987. Passion fruit. p. *Intl: Fruits of warm climates*. 320–328.

Mouquet, C. Dumas J. Guilbert, S. 1992. Texturization of Sweetened Mango pulp: Optimization using Response Surface Methodolo*gy. J. Food Sci.* **57**:6.

Mouquet, C., Aymard, C., Guilbert, S., Cuvelier, G., Launay, B. 1997. Influence of initial pH on gelation kinetics of texturized passion fruit pulp. *Lebensm.-Wiss technologie*. **30**: 129-134.

Namutebi A. 1998. Effects of preservation method and storage conditions on the flavour and colour of passion fruit juice. *African Crop Science Journal,* **6**:397-405

Newell, G. J. y MacFarlane, J. D. 1987. Expanded tables for multiple comparison procedures in the analysis of ranked data. *J. Food Sci. **52:** 1721-1725.*

Nishinari, K., Zhang, H., Ikeda, S. 2000. Hydrocolloid gel of polysaccharides and proteins. *Current Opinion in colloid and Interface Science*. **5**: 195-201.

Nussinovitch, A., Gillilov, M., Jaffe, N. 2004. Fractal pore-size distribution on freeze-dried agar-texturized fruit surfaces. *Food Hydrocolloid*. **18**: 825–835.

Panouillé, M., Larraeta, V. 2009. Gelation behavior of gelatin and alginate mixture. *Food Hydrocolloid.* **23**: 1074-1080.

Payne, J., Morris, A., Beers, P. 1999. Evaluation of selective media for the enumeration of *Bifidobacterium* sp. in milk. *J. of Applied Microbiol.* **86**: 353-353.

Phillips, G., Williams, P. 2000. Handbook of Hydrocolloids. Woodhead *Publishing in Food Science and Technology*. England. 1-4, 15p.

Rávula, R., Shah, N. 1999. Survival of microencapsulated of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in fermented frozen dairy desserts. *J. Dairy Sci*. **82**: 4

Rivero, S., García, M., Pinotti, A. 2009. Composite and bi-layer films based on gelatin and chitosan. *J. Food Eng*. **90**: 531-539.

Rojas-Graü, M., Tapia, M., Martin-Belloso, O. 2007. Empleo de recubrimientos comestibles en frutas frescas cortadas: Nuevo enfoque de conservación y desarrollo de productos. *Revista de Tecnología e Higiene de los Alimentos* Nº382: 105-118.

Rosenthal, A. 2001. Textura de los alimentos (medida y percepción). Ed. Acribia. Lérida, España.

Salminen, S., Isolauri, E., Salminen, E. 1993. Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier successful strains and future challenges. *Antoine Van Leewenhoek.* **70**: 347-358.

Schlimme, D. V. 1995. Marketing lightly processed fruits and vegetables. *Hortscience.* ***30***: 15-17.

Shah, N. 2000. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *J. Dairy Sci*. **83**: 894-907

Solar, R. 2006. Desarrollo de un texturizado “funcional” con ingredientes Probióticos y prebióticos a partir de *Passiflora edulis* S. y carragenina tipo kappa. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

Soto, J. 1995. Estabilización de pulpa de parchita (*Passiflora edulis* S.) por tecnología de métodos combinados, con uso de inhibidores del oscurecimiento. *Tesis de Licenciatura*. Escuela de Biología. Universidad Central de Venezuela.

Stratford, M., Hoffman, P. D. y Cole, M. 2000. Fruit juices, fruit drinks and soft drinks. Págs. 839-869 en: The microbiological Safety and Quality of Food. Lund, B., Paird-Parker, A., Tony, C. y Gould, G. (Eds). Aspen Publishers INC> Vol 1. Maryland. USA.

Szczesniak, A. S. 1975. General Food Texture Profile Revisited-Ten Years Perspective*. J. Texture Studies.* **6**: 1-5.

Tapia, M. S., Alzamora, S. y Malo, A. 2000. Minimally Processed Fruits and Vegetables: Fundamental aspects and applications. Ed. Aspen publication Maryland-U.S.A.

Tapia, M. S., Martín-Belloso, O., Raybaudi-Massilia, R. y Rodríguez, F.J. 2005a. Tendencias y Demandas de Frutas y Hortalizas para su Comercialización*.* En*:* Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. (Gustavo González-Aguilar. Editor). *Logiprint Digital SA de CV*. pp. 49-61.

Tapia, M.S., Rodríguez, F.J., Ramírez, J., Carmona, A.J., Rojas-Graü, M.A y Martín-Belloso, O. 2005b. Incorporation and viability of *Bifidobacterium lactis Bb12* in an edible coating for fresh-cut papaya. Enviado *a Intl. J. of food microbiology.*

Truelstrup, L., Alan, P. M., Jin, L., Paulson, A. T. 2002. Survival of Ca-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. *. Food Microbiol*.**19**: 35-45.

Villarroel, M., Castro, R., Junod, J. 2003. Desarrollo de una formulación optimizada de mermelada de damasco de bajo contenido calórico utilizando la metodología taguchi. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* **53**.

Weiner, G., Nussinovitch, A. 1994. Succulent, hydrocolloid-based texturized grapefruit products. *Lebensm.-Wiss technologie*. **27**: 394-399p.

Zúñiga, R., Aguilera, J. 2009. Structure-fracture relationships in gas-filled gelatin gels. *Food Hydrocolloid*. **23**: 1351-1357.

9. ANEXOS

9.1 Anexo 1. Tabla de valores críticos de la diferencia de suma de rangos absolutas para comparación de “todos los tratamientos” con un nivel de significancia de 5%.

PANELISTAS	NUMERO DE MUESTRAS									
	3	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
3	6	8	11	13	15	18	20	23	25	28
4	7	10	13	15	18	21	24	27	30	33
5	8	11	14	17	21	24	27	30	34	37
6	9	12	15	19	22	26	30	34	37	42
7	10	13	17	20	24	28	32	36	40	44
8	10	14	18	22	26	30	34	39	43	47
9	10	15	19	23	27	32	36	41	46	50
10	11	15	20	24	29	34	38	43	48	53
11	11	16	21	26	30	35	40	45	51	56
12	12	17	22	27	32	37	42	48	53	58
13	12	18	23	28	33	39	44	50	55	61
14	13	18	24	29	34	40	46	52	57	63
15	13	19	24	30	36	42	47	53	59	66
16	14	19	25	31	37	42	49	55	61	67
17	14	20	26	32	38	44	50	56	63	69
18	15	20	26	32	39	45	51	58	65	71
19	15	21	27	33	40	46	53	60	66	73
20	15	21	28	34	41	47	54	61	68	75
21	16	22	28	35	42	49	56	63	70	77
22	16	22	29	36	43	50	57	64	71	79
23	16	23	30	37	44	51	58	65	73	80
24	17	23	30	37	45	52	59	67	74	82
25	17	24	31	38	46	53	61	68	76	84
26	17	24	32	39	46	54	62	70	77	85
27	18	25	32	40	47	55	63	71	79	87
28	18	25	33	40	48	56	64	72	80	89
29	18	26	33	41	49	57	65	73	82	90
30	19	26	34	42	50	58	66	75	83	92
31	19	27	34	42	51	59	67	76	85	93
32	19	27	35	43	51	60	68	77	86	95
33	20	27	36	44	52	61	70	78	87	96
34	20	28	36	44	53	62	71	79	89	98
35	20	28	37	45	54	63	72	81	90	99
36	20	29	37	46	55	63	73	82	91	100
37	21	29	38	46	55	64	74	83	92	102
38	21	29	38	47	56	65	75	84	94	103
39	21	30	39	48	57	66	76	85	95	105
40	21	30	39	48	57	67	76	86	96	106
41	22	31	40	49	58	68	77	87	97	107
42	22	31	40	49	59	69	78	88	98	109
43	22	31	41	50	60	69	79	89	99	110
44	22	32	41	51	60	70	80	90	101	111
45	23	32	41	51	61	71	81	91	102	112
46	23	32	42	52	62	72	82	92	103	114

47	23	33	42	52	62	72	83	93	104	115
48	23	33	43	53	63	73	84	94	105	116
49	24	33	43	53	64	74	85	95	106	117
50	24	34	44	54	64	75	85	96	107	118
55	25	35	46	56	67	78	90	101	112	124
60	26	37	48	59	70	82	94	105	117	130
65	27	38	50	61	73	85	97	110	122	135
70	28	40	52	64	76	88	101	114	127	140
75	29	41	53	66	79	91	105	118	131	145
80	30	42	55	68	81	94	108	122	136	150
85	31	44	57	70	84	97	111	125	140	154
90	32	45	58	72	86	100	114	129	144	159
95	33	46	60	74	88	103	118	133	148	163
100	34	47	61	76	91	105	121	136	151	167

Tomada y modificada de Newell y MacFarlane (1987)

El número resaltado en color rojo es el valor que se tomó para el cálculo de significancia en nuestro caso, donde se tenían 50 panelistas y 6 muestras.