



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA



**“ESTUDIO DEL EFECTO DEL CAMPO ELÉCTRICO
SOBRE LAS VITAMINAS C, E y A DEL AGUACATE”**

TESIS

que presenta:

MARÍA GUADALUPE MÉNDEZ RAMOS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA**

Director de Tesis:

Dr. RAÚL RENÉ ROBLES DE LA TORRE

Junio, 2010.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Tepetitla, Tlaxcala siendo las 11:00 horas del día 13 del mes de Mayo del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIBA-IPN Tlaxcala para examinar la tesis de titulada:

Estudio del efecto del campo eléctrico sobre las vitaminas C, E y A del Aguacate.

Presentada por el alumno:

Méndez

Apellido paterno

Ramos

Apellido materno

María Guadalupe

Nombre(s)

Con registro:

A	0	8	0	3	9	1
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **SU APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Director de tesis

Dr. Raúl René Robles de la Torre

Dra. Martha D Bibbins Martínez

Dra. María del Carmen Cruz López

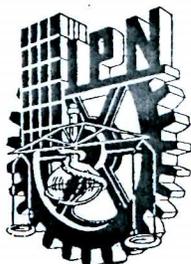
Dr. Marlon Rojas López

M en C Minerva Rosas Morales



EL PRESIDENTE DEL COLEGIO

Dra. ALMA LETICIA MARTÍNEZ AYALA



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de __Tepetitla de Lardizábal__ el día __26__ del mes __mayo__ del año __2010__, el (la) que suscribe __María Guadalupe Méndez Ramos__ alumno (a) del Programa de __Maestria en Biotecnología Aplicada__ con número de registro __A080391__, adscrito a __Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada__, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de __Dr. Raúl René Robles de la Torre__ y cede los derechos del trabajo intitulado __Estudio del efecto del campo eléctrico sobre las vitaminas C, E y A del aguacate__, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección __rrenerdlt@yahoo.com__. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

María Guadalupe Méndez Ramos

Nombre y firma

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi grupo de trabajo el apoyo que me brindaron durante todo este tiempo, fue reconfortante y enriquecedor para mi, gracias por su paciencia y sus atenciones.

Asimismo agradezco los apoyos que me otorgaron la Dra. Alma Leticia Martínez Ayala y el Dr. Marlon Rojas López, los cuales fueron muy importantes. También agradezco al Dr. Valentín López Gayou su apoyo en la parte experimental concerniente al análisis por espectroscopia infrarroja y al maestro Víctor Oswaldo Rodríguez Arreola por su ayuda para realizar el estudio de mercado de aguacate, sobre todo gracias por su paciencia.

Agradezco a mi familia su preocupación por mi superación y el apoyo incondicional que me brindan siempre, aunque nunca tendré como recompensarlos.

Por último, agradezco la motivación que recibí de mis amigos, sus palabras muchas veces me hicieron sentir alivio.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES	4
2.1 Aguacate	4
2.1.1 Origen y características	4
2.1.2 Valor nutricional	5
2.2 Las vitaminas.....	8
2.2.1 Vitamina A	11
2.2.2 Vitamina E	17
2.2.3. Vitamina C	21
2.2.4 Sinergia entre vitaminas	25
2.3 Métodos de conservación de los alimentos.....	26
2.3.1 Conservación de la pulpa de aguacate	28
2.3.1.1 Oscurecimiento enzimático.....	28
2.3.1.2 Técnicas de conservación aplicadas a la pulpa de aguacate.....	30
2.3.2 Campos Electromagnéticos Pulsados	34
2.3.2.1 Efecto sobre las vitaminas	38
2.3.3 Equipo generador de campos eléctricos utilizado para éste estudio	39
III. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	41
3.1 Justificación	41
3.2 Objetivos.....	41
3.2.1 Objetivo General.....	41
3.2.2 Objetivos específicos.....	42
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
4.1 Reactivos.....	43
4.2 Equipos.....	43
4.3 Métodos.....	44
4.3.1 Tratamientos a estándar de β -caroteno.....	44
4.3.1.1 Tratamientos a 90° C	44
4.3.1.2 Tratamientos con CE y análisis en espectroscopia UV/visible	45
4.3.1.3 Tratamientos con CE y análisis en RP-HPLC	46
4.3.2 Tratamientos en pasta de aguacate con estándar interno de β -caroteno	48
4.3.3 Tratamientos a estándar de Ácido L-ascórbico	50
4.3.3.1 Tratamientos con CE y análisis en HPLC.....	50
4.3.4. Tratamientos en pasta de aguacate con estándar interno de ácido L-ascórbico	50
4.3.5 Tratamientos a estándar de α -Tocoferol	52
4.3.5.3 Tratamientos con CE y análisis por espectroscopia de IR	52
4.3.5.4. Tratamientos con CE y análisis por HPLC	53
4.3.6 Tratamientos en pasta de aguacate con estándar interno de α -tocoferol	54
2.3.7 Análisis estadístico	55

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	56
5.1 β -caroteno	56
5.1.1 <i>Tratamientos con calor a 90° C</i>	56
5.1.2 <i>Tratamientos con CE</i>	57
5.1.3 <i>Tratamientos de CE a estándar de β-caroteno</i>	58
5.1.4 <i>Tratamientos de CE a pulpa de aguacate</i>	63
5.2. Ácido ascórbico	66
5.2.2 <i>Tratamientos de CE a estándar de ácido l-ascórbico</i>	66
5.2.3 <i>Tratamientos a pulpa de aguacate</i>	70
5.3 α -Tocoferol	74
5.4.2 <i>Tratamientos con CE y análisis en IR</i>	74
5.3.3 <i>Tratamientos de CE a estándar de α-tocoferol</i>	76
5.3.4 <i>Tratamientos a pulpa de aguacate</i>	78
VI. CONCLUSIONES	82
VII. BIBLIOGRAFIA	83
ANEXO I. ESTUDIO DE MERCADO DE AGUACATE	89
I. Introducción	89
II. Descripción del producto	91
2.1 <i>Características</i>	91
2.2 <i>Normas de calidad</i>	92
2.3 <i>Densidad económica</i>	93
III. Análisis de la demanda	93
3.1 <i>Perfil del consumidor</i>	93
3.2 <i>Demanda potencial</i>	93
3.2.1 <i>Demanda potencial por regiones</i>	94
3.2.2 <i>Análisis de la demanda por estratos de ingresos</i>	95
3.2.3 <i>Proyección de la demanda</i>	96
IV. Análisis de la oferta	98
4.1 <i>Nacional</i>	98
4.1.1 <i>Características de los principales oferentes</i>	100
4.1.2 <i>Volumen de producción</i>	101
4.2 <i>Internacional</i>	106
4.2.1 <i>Volúmen y valor de las exportaciones</i>	107
4.2.3 <i>Proyecciones de la oferta</i>	109
4.2.4 <i>Mercado para el proyecto</i>	110
V. Análisis de precios y comercialización	111
5.1 <i>Precios</i>	111
5.2 <i>Comercialización</i>	113
VI. CONCLUSIONES	113
VII. BIBLIOGRAFÍA	114

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Pág.
1	Composición química y valor calórico/100 g de pulpa de aguacate.	5
2	Composición media de ácidos grasos del aguacate	6
3	Perfil cromatográfico del aceite de aguacate	6
4	Aminoácidos en mg/100 g de pulpa de aguacate	6
5	Valor vitamínico y aporte nutricional del aguacate	7
6	Minerales en la pulpa de aguacate	7
7	Resumen de la estabilidad de las vitaminas	10
8	Diseño experimental para tratamientos de α -tocoferol con CE.	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Estructura del isopreno	12
2	Biosíntesis de la vitamina A	13
3	Espectro de absorción visible de licopeno, γ -caroteno, β -caroteno y α -caroteno en éter de petróleo	14
4	Esquema de la degradación del β -caroteno	16
5	Estructura de los tocoferoles	18
6	Estructura del ácido ascórbico	22
7	Estructura del ácido L-deshidroascórbico	23
8	Representación esquemática de las reacciones catalizadas por la PFO y subsecuentes procesos de condensación no enzimáticos	29
9	Diagrama de la formación de poros por la acción de un campo eléctrico externo	36
10	Diagrama del equipo generador de CE utilizado	39
11	Diagrama de la estrategia experimental	44
12	Espectros UV/visible de β -caroteno tratado con calor (90° C) a diferentes tiempos de exposición	56
13	Espectros UV/visible de isómeros geométricos de β -caroteno en hexano	56
14	Dependencia de la absorbancia de β -caroteno después del tratamiento con CE a dos longitudes de onda.	57
15	Curva de calibración del estándar de β -caroteno.	58
16	Cromatogramas de estándar de β -caroteno tratado con CE, ensayo 2 (450 nm)	59
17	Porcentaje de β -caroteno residual de muestras tratadas con CE (ensayo 2).	61
18	Comportamiento de las muestras de β -caroteno tratadas	62
19	Cromatogramas de muestras de aguacate con adición de estándar interno de β -caroteno, tratadas con CE.	63
20	Dependencia de la absorbancia de β -caroteno residual en pasta de aguacate tratada con CE (450 nm).	64
21	Curva de calibración del estándar de ácido L-ascórbico.	66
22	Cromatogramas de estándar de ácido L-ascórbico sin tratar y tratado con CE (245 nm)	68

23	Porcentaje de ácido ascórbico residual de muestras tratadas con CE (245 nm)	69
24	Ajuste del porcentaje de ácido ascórbico residual de muestras tratadas	70
25	Dependencia de la absorbancia de ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 1) (245 nm)	70
26	Dependencia de la absorbancia del ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 4 mezclado manual).	71
27	Dependencia de la absorbancia de ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 2) (245 nm).	72
28	Dependencia de la absorbancia del ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 3).	72
29	Dependencia de la absorbancia del ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (245 nm)	73
30	Espectro de absorción de infrarrojo de estándar de α -tocoferol	75
31	Espectros de infrarrojo medio de α -tocoferol sin tratar y tratado con CE	76
32	Curva de calibración del estándar de α -tocoferol	77
33	Porcentaje de α -tocoferol residual de muestras tratadas con CE con DAD (298 nm) y FLD (Ex= 290, Em= 330 nm).	77
34	Porcentajes de α -tocoferol residual de las muestras tratadas con CE	78
35	Cromatogramas de muestras de aguacate sin tratar y tratado con CE (FLD, Ex=290, Em=330 nm).	80
36	Dependencia de la fluorescencia del α -tocoferol residual en pasta de aguacate tratada con CE (FLD, Ex=290, Em=330 nm).	80

RESUMEN

Desde hace algunas décadas se han buscado métodos para inhibir a la enzima *polifenoloxidas* del aguacate y conservar mejor sus características sensoriales y nutritivas. Los tratamientos térmicos no son recomendables debido a que disminuyen las excelentes características sensoriales e incrementan las pérdidas nutricionales del fruto. Debido a lo anterior se ha propuesto el uso de tecnologías emergentes, las cuales se caracterizan por no utilizar energía térmica o por usarla de manera más eficiente, estas tecnologías usualmente son de corto tiempo de aplicación y se ha observado que conservan mejor las características del producto fresco. Dentro de éstas, la tecnología de Campos Electromagnéticos Pulsados, CEP, se ha presentado como una alternativa a los métodos térmicos tradicionales como la esterilización y la pasteurización. En el presente trabajo se utilizó un equipo generador de campos eléctricos diseñado y construido por el grupo de trabajo del **CIBA-IPN**, Unidad Tlaxcala. Este equipo presenta diferencias notables con algunos de los equipos reportados en la literatura, la principal diferencia es el tipo de contacto entre muestra (o alimento) y los electrodos. El objetivo de este trabajo consistió en estudiar el posible efecto que pudiera tener el campo eléctrico (CE) sobre estándares de β -caroteno, α -tocoferol y ácido ascórbico, y a su vez sobre estos mismos compuestos dentro de pasta de aguacate, adicionados como estándar interno. Para esto se dieron tratamientos de 9 kV/cm y 720 Hz, a diferentes tiempos de aplicación, todas las muestras se analizaron por HPLC, β -caroteno también por espectroscopia UV/vis y α -tocoferol por IR. Se observó que con tiempos de tratamiento de 3, 5, 10 y 15 minutos se obtuvo un 57%, 52%, 46% y 33% de β -caroteno residual, respectivamente ($p < 0.05$); sin embargo cuando el β -caroteno se encuentra en la matriz de aguacate, no se observaron diferencias con el testigo, ($p > 0.05$). En ácido L-ascórbico, el CE provocó degradación de la vitamina a una velocidad de 0.188 min^{-1} , hasta llegar al 1.5% de ácido ascórbico residual con 20 minutos de tratamiento; mientras que en pasta de aguacate no se observó efecto. Por último, el CE no ejerció efecto significativo sobre estándar de α -tocoferol ni cuando se encuentra en pasta de aguacate ($p > 0.05$).

ABSTRACT

For some decades, methods to preserve avocado pulp have been sought, any method must inhibit the activity of the polyphenoloxidase enzyme and at the same time retain the sensory and nutritional characteristics of the fresh product. Thermal treatments are not recommended because they reduce the excellent sensory characteristics and increase the nutritional losses of the fruit. Due to the above, the use of emerging technologies have been proposed, these technologies do not use thermal energy or use it more efficiently, they are usually applied for short times, and they, it has been observed, can preserve the fresh product characteristics. Within the emerging technologies are the Pulsed Electromagnetic Fields, or PEF technology, which has been presented as an alternative to traditional thermal methods like pasteurization and sterilization. In this study a generator of electric fields device was used, it was designed and built by the working group of **CIBA**, a unit of the **IPN** located in Tlaxcala, México. This equipment has notable differences with other devices reported in the literature, the main difference is the type of contact between sample (or food) and electrodes. The objective of this work was to study the possible effect of the electric field (EF) on standards of β -carotene, α -tocopherol and ascorbic acid, and on these same compounds added to avocado pasta as internal standards. For this, treatments of 9 kV/cm and 720 Hz at different times were applied, all samples were analyzed by HPLC, β -carotene also with UV/vis spectroscopy and α -tocopherol with IR. It was found, that with 3, 5, 10 and 15 minutes of treatment there were 57%, 52%, 46% and 33% of residual β -carotene, respectively ($p < 0.05$); however when β -carotene was in the avocado paste there were no differences with the control, ($p > 0.05$). With L-Ascorbic acid, the EC caused degradation of the vitamin at 0.188 min^{-1} and left 1.5% of residual vitamin after 20 minutes of treatment; while within avocado pulp no observed effect on the ascorbic acid. Finally, the EF had no significant effect on standard of α -tocopherol alone and within avocado paste ($p > 0.05$).

I. INTRODUCCIÓN

El aguacate es un fruto originario de México y Centroamérica, forma parte de la dieta de los pobladores desde tiempos precolombinos, por lo que se le considera un alimento tradicional. Nuestro país es el principal productor, exportador y consumidor de aguacate a nivel mundial. Las características sensoriales del aguacate son apreciadas en varios países del mundo, debido a lo cual la demanda ha incrementado en los últimos años (**Crane y col., 2005, Ornela J. y Yahia E., 2002, Sánchez y col., 1998**).

Dentro de la composición química del aguacate, destaca su alto contenido de aceite, el cual resulta similar al aceite de oliva, se compone en su mayoría, de ácidos grasos monoinsaturados, este tipo de sustancias se han relacionado con la disminución de enfermedades cardiovasculares. También resalta su alto contenido de vitaminas antioxidantes A, C y E, las cuales se asocian con la reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y varios tipos de cáncer (**Ortega, 2003, Lu y col., 2005, Bergh, 1992, Singh y col., 2007**).

Además de consumirse en su estado fresco, el aguacate se procesa para obtener otros productos como aceite de aguacate, el cual tiene demanda tanto para la industria de cosméticos como para el sector alimentario. Otros productos que se comercializan son pulpas, guacamole, mitades y trozos adicionados de conservadores y mantenidos en congelación. En la actualidad la población tiende a demandar alimentos que contengan cantidades mínimas de conservadores o bien ninguna presencia de éstos. Debido a lo anterior se han buscado métodos que logren inhibir la actividad de la enzima polifenoloxidasa, ya que este es el principal factor causante del deterioro de la pulpa, y que al mismo tiempo conserven las características sensoriales y nutritivas del producto fresco. Se han propuesto varios métodos para lograr este fin, dentro de estos cabe mencionar que los tratamientos térmicos no son recomendables, debido a que inducen reacciones indeseables que provocan el decremento de las características sensoriales y/o pérdidas nutricionales del fruto (**Olaeta, 2003**).

Otros métodos que han tenido mejores resultados son los métodos combinados, por ejemplo el empleo de empaques con atmósferas modificadas o bien con vacío para productos congelados. También se ha propuesto el uso de tecnologías emergentes, las cuales se caracterizan por emplear incrementos de temperatura mínimos o bien ninguno, con tiempos de tratamiento cortos lo que representa un mejor aprovechamiento de la energía con respecto a las tecnologías tradicionales y que además pueden conservar las características de los productos en su estado fresco (**Zarazúa-Escobar y col., 2005, Soliva-Fortuny y col., 2000 y 2002**).

Dentro de las Tecnologías Emergentes se encuentran las altas presiones hidrostáticas, el ultrasonido, la liofilización, las microondas, los pulsos de luz y los campos electromagnéticos pulsados (CEP). Algunos de estos métodos se han probado para aguacate, por ejemplo la liofilización; otra tecnología de que ya se maneja a escala industrial para elaborar pulpas y guacamole que se comercializan fuera de nuestro país, son las altas presiones hidrostáticas; en años más recientes también se estudia el empleo de microondas (**Hogan y col., 2005**).

Una tecnología emergente que se ha estudiado intensivamente en los últimos años y que se ha presentado como una alternativa a los métodos tradicionales, como el tratamiento térmico y la congelación, es la tecnología de los Campos Electromagnéticos Pulsados, CEP, ya que se aplica por tiempos muy cortos y no generan calor. Se ha demostrado que este método garantiza la inactivación de microorganismos y de enzimas en alimentos líquidos y además no daña nutrientes y propiedades sensoriales de los alimentos. El mecanismo de acción propuesto, es la generación de poros en la membrana celular como consecuencia de la aplicación de un campo eléctrico externo, este fenómeno es conocido como *electroporación*, los poros formados pueden ser reversibles, o bien se pueden inducir de tal manera que provoquen el rompimiento de la membrana provocando la muerte celular. Para el mecanismo de acción en las enzimas se ha propuesto que los CEP afectan los enlaces más débiles, que le dan estabilidad a las moléculas proteicas, como los enlaces de Van der Waals, puentes de hidrógeno y atracciones electrostáticas.

Otra aplicación de los CEP es sobre células vegetales, que de manera similar a los microorganismos se forman poros y propician el incremento de los coeficientes de transferencia de masa, lo que torna a esta tecnología como una alternativa a los pre-tratamientos utilizados en operaciones de secado y extracción de estos materiales (**Toepfl y col., 2005**).

En el mercado internacional existen pocos equipos generadores de campos, los primeros equipos fueron desarrollados en Alemania y en los Estados Unidos, sin embargo el costo de estos es demasiado elevado. Para realizar el presente trabajo se utilizó un equipo generador de campos eléctricos (**CE**), diseñado y construido por el grupo de trabajo del **CIBA-IPN**, Unidad Tlaxcala. Es importante mencionar que este equipo presenta diferencias notables con algunos de los equipos reportados en la literatura, y la principal es el tipo de contacto entre muestra (o alimento) y los electrodos.

En los equipos tradicionales de CEP se habla de campos electromagnéticos, generados por los pulsos de corriente que circula por los electrodos y el alimento, en el equipo que se diseñó en el **CIBA-IPN** no hay contacto con el electrodo y no hay circulación de corriente, en consecuencia no se genera calor, lo cual lo hace más atractivo para operaciones no térmicas de alimentos. En resumen, el efecto se logra por la generación de un campo eléctrico y no un campo electromagnético.

En este equipo se ha demostrado el efecto inhibitorio del campo eléctrico sobre la enzima polifenoloxidasasa del aguacate, (**Castorena, 2007**), y se ha demostrado el efecto letal sobre bacterias, (**Robles, 2008**). Sin embargo se desconoce si el campo eléctrico tiene efecto sobre las vitaminas del aguacate, debido a esto el objetivo del presente trabajo fue determinar si el CE afecta de manera negativa a algunas de las vitaminas presentes en el aguacate, para ello se realizaron pruebas en este equipo para determinar, si al tratar estándares de β -caroteno, α -tocoferol y ácido ascórbico solos o inmersos en la matriz del aguacate. Los análisis se realizaron por cromatografía de líquidos (HPLC), espectrofotometría de UV/visible y por espectroscopia de infrarrojo (FTIR).

II. ANTECEDENTES

2.1 Aguacate

2.1.1 Origen y características

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es originario de América tropical. Con la llegada de los españoles el cultivo del aguacate se introdujo a España, a las Antillas y posteriormente a otras partes del mundo donde se encontraban las condiciones ecológicas apropiadas para su cultivo. El nombre de aguacate proviene del náhuatl ahuacatl, actualmente este fruto recibe otros nombres como palta en Sudamérica, pagua, y avocado en la lengua inglesa, entre otros. Las variedades de aguacate se clasifican en tres grupos como las “razas” mexicana, guatemalteca y antillana. Los aguacates antillanos se originaron en los terrenos tropicales bajos del sur de México y América central, mientras que los guatemaltecos y mexicanos se originaron en tierras altas de Guatemala y México, **(Crane y col., 2005, Ornela J. y Yahia E., 2002, Sánchez y col., 1998)**. Actualmente, México es el principal productor, exportador y consumidor de aguacate a nivel mundial, **(SIAP, 2008)**.

El aguacate pertenece a la familia de las lauráceas, el árbol es de tamaño mediano (9.1 m) a grande (19.8 m) y es clasificado como perennifolio, aunque algunas variedades pierden las hojas durante un corto período antes y durante la floración. Las hojas tienen una longitud de 7.6 a 15.2 cm y una forma variable (elíptica, oval, lanceolada), son de color rojizo cuando son jóvenes y de color verde oscuro cuando maduran. Las flores son de color amarillo verdoso, y de un diámetro de 1 a 1.3 cm. El fruto es una baya que consiste de una semilla grande rodeada por una pulpa oleosa, suave, amarillenta, perfumada, con delicado sabor y textura. La cáscara es variable en grosor y textura. El color del fruto maduro puede ser verde, negro, púrpura o rojizo dependiendo de la variedad, cuya forma varía de esférica a piriforme y puede pesar hasta 2.3 Kg, **(Crane y col., 2005, Ornela J. y Yahia E., 2002)**.

2.1.2 Valor nutricional

Además de ser un fruto con características sensoriales exquisitas, el aguacate contiene nutrientes esenciales para los humanos, es decir, que no pueden ser sintetizados por el organismo, y deben ser suministrados en la dieta de manera regular, (**Ortega, 2003**).

Entre las sustancias que componen la pulpa del aguacate, además de agua, se encuentran nutrientes tales como lípidos, proteínas, carbohidratos, fibras, vitaminas y minerales, entre otros. En la **Tabla 1** se presenta la composición química del aguacate de la variedad Hass obtenida de varias fuentes.

Tabla 1. Composición química y valor calórico/100 g de pulpa de aguacate.

FUENTE	CALORÍAS	H. de C.*	PROTEINAS	ACEITE	AGUA	FIBRA
I.N.N. 81	72 cal	2.9 g	1.2 g	6.1 g	86 g	0.7 g
I.N.C.A.P.	154 cal	4.4 g	1.7 g	15.8 g	77 g	1.8 g
Handbook 8	167 cal	6.3 g	2.1 g	16.4 g	74 g	1.6 g
FRANCO 5	162 cal	6.4 g	1.8 g	16.0 g	ND	1.4 g
P.N. (6)	177 cal	6.9 g	2.0 g	17.3 g	73 g	2.1 g
SOUCI (7)	226 cal	7.4 g	1.6 g	21.2 g	65 g	2.0 g
Valor prom.	160 cal	5.9 g	1.7 g	15.4 g	75 g	1.6 g

* Hidratos de Carbono

Fuente: *Ortega Tovar Miguel Angel, 2003. V World Avocado Congress.*

Una característica peculiar de este fruto es su alto contenido de aceite, el cual varía dependiendo de la variedad de aguacate, generalmente va de 10 a 21 g/ 100 g de pulpa, además, la composición de este aceite es similar al de oliva, (**Ortega, 2003**). Está compuesto principalmente por ácidos grasos mono insaturados, los cuales han sido estudiados por sus potenciales beneficios cardiovasculares, incluyendo efectos benéficos para disminuir los lípidos del suero sanguíneo, (**Lu y col., 2005**). Por ejemplo, se ha demostrado que el ácido oleico, componente mayoritario del aceite de aguacate, reduce los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la sangre. Además de mantener niveles benéficos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) y reducir el colesterol. Tales beneficios se

pueden obtener al incorporar el consumo de aguacate a la dieta humana, (Bergh, 1992). En las **Tablas 2 y 3** se presenta el contenido de lípidos del fruto del aguacate y los ácidos grasos que lo componen. En la **Tabla 4** se muestra el perfil de los principales aminoácidos en el fruto de aguacate.

Tabla 2. Composición media de ácidos grasos del aguacate

TIPO DE ÁCIDO	COMPOSICIÓN %
Ácidos grasos saturados	16-22 %
Ácidos grasos monoinsaturados	66-72 %
Ácidos grasos poliinsaturados	8-11 %

Referencia: Ortega Tovar Miguel Ángel, 2003. V World Avocado Congress.

Tabla 3. Perfil cromatográfico del aceite de aguacate

ÁCIDO	FÓRMULA	%
Palmitico	C 16	13.76%
Palmitoleico	C 16:1	5.98%
Estearico	C 18	1.48%
Oleico	C 18:1	64.87%
Linoleico	C 18:2	11.13%
Linolenico	C 18:3	2.52%
Araquidonico	C 20	0.09%
	N.I.	0.17%

Referencia: Ortega Tovar Miguel Ángel, 2003. V World Avocado Congress.

Tabla 4. Aminoácidos en mg/100 g de pulpa de aguacate.

AMINOÁCIDO	mg
Isoleucina	47
Leucina	46
Lisina	59
Metionina	29
Fenilalanina	48
Treonina	40
Triptófano	--
Valina	63
Tirosina	32
Arginina	47
Histidina	25

Referencia: Ortega Tovar Miguel Ángel, 2003. V World Avocado Congress.

La proteína presente en el aguacate, es de gran valor nutrimental, ya que en su amino grama presenta siete de los ocho aminoácidos esenciales, (Ortega, 2003).

Además de su alto contenido de grasas insaturadas, el aguacate también contiene varios fitoquímicos reactivos. Dentro de estos se encuentran algunos carotenoides, vitaminas del complejo B, vitaminas C y E, terpenoides y fenoles, entre otros, (Lu y col., 2005). Resalta, su alto contenido de vitaminas antioxidantes A, C y E, las cuales también representan beneficios para la salud, (Bergh, 1992). Uno de los grupos de sustancias en alimentos que combaten el cáncer son las vitaminas antioxidantes. Estos antioxidantes, tales como carotenos, DL- α -tocoferol y ascorbato han sido asociados con una reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares y varios tipos de cáncer, (Singh y col., 2007). En la **Tabla 5** se muestra el contenido vitamínico y en la **Tabla 6** se presenta el contenido de minerales reportado de la pasta de aguacate.

Tabla 5. Valor vitamínico y aporte nutricional del aguacate

VITAMINA	CONTENIDO EN 100 g DE PULPA	*RDA	PORCENTAJE DE LA RDA CUBIERTAS POR 100 g DE AGUACATE
Vitamina A	85 μ g	900.0 μ g	9.4
Vitamina D	10 μ g	5.0 μ g	200.0
Vitamina E	3 mg	9.0 mg	33.0
Vitamina K	8 mg	110.0 mg	7.3
Vitamina B1	0.11 mg	1.4 mg	7.8
Vitamina B2	0.20 mg	1.6 mg	12.5
Vitamina B6	0.45 mg	2.1 mg	21.4
Niacina	1.60 mg	16.0 mg	10.0
Ác. Pantoténico	1 mg	5.5 mg	18.2
Biotina	10 mg	100.0 mg	10.0
Ácido Fólico	32 mg	200.0 mg	16.0
Vitamina C	14 mg	60.0 mg	23.3

*Recommended Daily Allowances, (Recomendación diaria permitida)

Referencia: Ortega Tovar Miguel Ángel, 2003. V World Avocado Congress.

Tabla 6. Minerales en la pulpa de aguacate.

MINERALES	CONTENIDO EN 100 g DE PULPA.	NECESIDADES DIARIAS	% DE NECESIDAD CUBIERTAS POR 100 g DE PULPA
Calcio	10.00 mg	(3) 800.0 mg	1.25
Hierro	1.06 mg	(3) 15.0 mg	7.06
Fósforo	40.0 mg	(4) 800.0 mg	5.0
Cobre	0.35 mg	(4) 1.7 mg	20.58
Magnesio	41.0 mg	(4) 300.0 mg	13.66
Manganeso	2.30 mg	(4) 3.5 mg	65.71
Sodio	4.0 mg	(5) 3450.0 mg	0.12
Potasio	463.0 mg	(5) 4900.0 mg	0.12

Referencia: *Ortega Tovar Miguel Ángel, 2003. V World Avocado Congress.*

Como se observa en la **Tabla 6**, el aguacate es una fuente importante de manganeso y otros minerales. Aporta prácticamente todas las vitaminas requeridas por el organismo; a excepción de la vitamina B12. El aporte de las vitaminas liposolubles es suficiente en cantidad, sin la presencia de colesterol y con un bajo porcentaje de ácidos grasos saturados, (**Ortega, 2003**).

2.2 Las vitaminas

Las vitaminas son compuestos orgánicos con estructuras muy variadas, requeridas en cantidades menores a 1 g, estas no son metabolizadas para satisfacer los requerimientos de energía ni son utilizadas para propósitos estructurales, sin embargo cumplen funciones muy específicas en el metabolismo humano, por ejemplo, algunas vitaminas son utilizadas como *cofactores* enzimáticos. Estos son cuantitativamente los compuestos minoritarios de los alimentos y deben ser consumidos diariamente, por lo que son considerados nutrientes esenciales para los humanos, (**Brody T., 1998**).

Por su diversa naturaleza química las vitaminas forman un grupo particular en la composición de los alimentos. Históricamente, este grupo ha provocado diversas controversias debidas, en gran medida, al desconocimiento de su función. Las vitaminas empezaron a adquirir importancia cuando se observó que la carencia de estas sustancias en la dieta provocaba graves problemas a la salud. Gracias a los

antiguos egipcios y los romanos, ya se tenía conocimiento del raquitismo, que es la enfermedad causada por falta de vitamina D, sin embargo, fue en el período de 1912-1948 cuando se descubrieron los factores cuya ausencia provocaba los grandes males ya conocidos por la humanidad. Por ejemplo, en 1912 Casimiro Funk observó que una fracción que aisló del arroz, podía curar el beriberi y debido a que dicha fracción tenía propiedades de *amina* y era *vital* para el organismo, la llamó *vitamine*, o *amina vital*. Posteriormente se encontró que no todos estos compuestos eran aminas y en lugar de *vitamine* se le designó con el nombre de *vitamin*, o *vitamina*. En la década de los veinte se propone utilizar una nomenclatura a base de las letras del alfabeto: A, B, C, D, etc.; sin embargo, posteriormente se encontró que la B era en realidad un grupo de sustancias y se identificaron como B₁, B₂, etc.; a otras vitaminas, como el ácido pantoténico y la niacina, nunca se les asignó una letra, (**Badui, 1999**).

Actualmente, el grupo de las vitaminas está formado por *trece* compuestos, las vitaminas A, C, D, E, K y el complejo B, que consta de tiamina (B₁), riboflavina (B₂), piridoxina (B₆), cobalamina (B₁₂), biotina, ácido fólico, niacina y ácido pantoténico. Posteriormente algunos investigadores han incluido en esta lista otras sustancias, como el ácido orótico (vitamina B₁₃), el inositol, el ácido lipóico, la rutina (vitamina P), la colina, la xantopterinina (vitamina B₁₄), el ácido pangámico (vitamina B₁₅) y la carnitina (vitamina T), pero en general no han sido aceptadas como tales. Muchas veces, la actividad biológica de las vitaminas no es exclusiva de un solo compuesto, pues hay más de una sustancia que cumple la misma función en el hombre, a estos compuestos que tienen la misma función biológica se les llama *vitámeros*, (**Badui, 1999**).

Los alimentos aportan las vitaminas requeridas, estas se encuentran en fuentes vegetales, animales y microbianas, también en los alimentos fortificados. Dada su naturaleza química algunas vitaminas son *sensibles* a factores físicos y químicos, por ejemplo: el calor, la luz, el oxígeno, las radiaciones ionizantes, la acidez o pH. Independientemente de si las vitaminas de los alimentos son de origen natural o añadido, siempre existe la posibilidad de que se pierdan o dañen debido a causas

químicas o físicas, por lo que las pérdidas de éstas son inevitables durante la producción, distribución, comercialización, almacenamiento y preparación de alimentos. Si bien se han realizado varios intentos por resumir la estabilidad de las vitaminas, existen limitaciones debidas a la variación en estabilidad que puede existir entre las diversas formas de cada vitamina, además del comportamiento de estas en las matrices alimentarias, (**Fennema, 1985**). En la **Tabla 7** se presenta la estabilidad de las vitaminas a diferentes factores.

Tabla 7. Resumen de la estabilidad de las vitaminas.

NUTRIENTE	NEUTRO	ÁCIDO	ALCALINO	AIRE	LUZ	CALOR	PERDIDA MÁXIMA POR COCCIÓN
Vitamina A	E	I	E	I	I	I	40
Acido ascórbico	I	E	I	I	I	I	100
Biotina	E	E	E	E	E	I	60
Carotenos	E	I	E	I	I	I	30
Colina	E	E	E	I	I	E	5
Vitamina B ₁₂	E	E	E	I	I	E	10
Vitamina D	E	E	I	I	I	I	40
Folato	I	I	I	I	I	I	100
Vitamina K	E	I	I	E	I	E	5
Niacina	E	E	E	E	E	E	75
Acido pantoténico	E	I	I	E	E	I	50
Vitamina B ₆	E	E	E	E	I	I	40
Riboflavina	E	E	I	E	I	I	75
Tiamina	I	E	I	I	E	I	80
Tocoferoles	E	E	E	I	I	I	55

E: estable, I Destrucción significativa. Estas conclusiones están muy simplificadas y no representan exactamente la estabilidad de las vitaminas bajo cualquier circunstancia.

Fuente: Fennema, 1985.

Debido a la sensibilidad de las vitaminas a los diferentes factores, con frecuencia se establece el análisis de estas en alimentos frescos y procesados, con el fin de evaluar pérdidas o cambios en el contenido vitamínico, además el análisis sirve también para evaluar el impacto de los procesos tecnológicos, (**Adrian y col., 2006**). Considerando lo anterior, es posible adicionar vitaminas para recuperar el contenido inicial y sustituir las que se puedan perder o dañar.

Considerando su naturaleza química primaria, las vitaminas se clasifican en dos grandes grupos: las que son solubles en agua, llamadas **hidrosolubles** y las que son solubles en aceites y disolventes orgánicos, llamadas **liposolubles**. Dentro

del grupo de las vitaminas liposolubles, se encuentran las vitaminas A, D, E y K. Estas cuatro vitaminas están constituidas por la condensación de moléculas de **isopreno**, por lo que sus estructuras contienen dobles enlaces que las hacen sensibles a las reacciones de oxidación, mediante mecanismos semejantes a los de la autoxidación de ácidos grasos insaturados; las vitaminas A y E son las más propensas al deterioro oxidativo. El hombre, al igual que otros mamíferos, retiene las vitaminas liposolubles en el tejido adiposo, principalmente del hígado. Algunas de estas vitaminas como la A y la D, consumidas en cantidades excesivas pueden causar intoxicación, (**Badui, 1999**).

2.2.1 Vitamina A

Aunque es probable que la primer enfermedad de deficiencia nutricional claramente reconocida fue la ceguera nocturna (deficiencia de vitamina A), documentada en papiros egipcios, fue hasta 1913 cuando McCollum y Marguerite Davis en Wisconsin acuñaron el término “liposoluble A” que dieron a un compuesto proveniente de la mantequilla o yema de huevo que mostró tener un factor liposoluble necesario para el crecimiento de ratas. Mientras tanto Osborne y Mendel, en Yale, encontraron que el aceite de hígado de bacalao o la mantequilla poseían un alimento que promovía el crecimiento de ratas y es entonces cuando inicia la edad moderna de la exploración de la vitamina A, (**Olson, 2001**).

a) Estructura

Como ya se mencionó, la vitamina A, tiene una estructura *isoprenoide* a base de la unión de cuatro unidades del monómero *isopreno* cuya estructura se observa en la **Figura 1**. Se encuentra fundamentalmente en el reino animal y puede presentarse en las formas de alcohol o retinol, de aldehído o retinal y de ácido retinoico, o esterificada con algunos ácidos grasos. En los vegetales no existe como tal, pero si como sus precursores llamados pro-vitaminas. El término provitamina A es utilizado como un indicador genérico de todos los carotenoides que muestren la

actividad biológica de vitamina A. De unos 600 carotenoides que han sido aislados de la naturaleza, aproximadamente 50 poseen actividad de vitamina A. El más activo y cuantitativamente, el más importante es el todo-*trans*- β -caroteno, (**Badui, 1999, Fennema, 1985**).

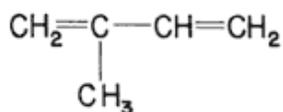


Figura 1. Estructura del isopreno

Los carotenoides usualmente son tetraterpenoides denominados como C₄₀ formados de ocho unidades isoprenoides unidos de tal manera que la secuencia se hace inversa en el centro. El esqueleto básico lineal puede ser ciclizado en uno o ambos extremos, tiene grupos metilo laterales separados por seis átomos de C en el centro y cinco átomos de C en la otra parte. La ciclización y otras modificaciones tales como hidrogenación, deshidrogenación y migración de dobles enlaces, acortamiento o extensión de la cadena, rearrreglo, isomerización, introducción de funciones de oxígeno, o combinaciones de estos procesos resultan en numerosas estructuras, (**Rodríguez-Amaya, 2001**).

El nombre genérico de los carotenoides deriva del nombre científico de la zanahoria, *Dacus carota*, ya que se aislaron de esta hortaliza por primera vez. Son responsables del color de muchas frutas, flores y de algunas algas, bacterias fotosintéticas, hongos y levaduras; estos compuestos se encuentran básicamente en los tejidos que llevan a cabo la fotosíntesis, (**Badui, 1999**). Una característica que los distingue es su extenso sistema de dobles enlaces conjugados, sistema que actúa como **cromóforo**, que absorbe la luz y es responsable del color amarillo, naranja o rojo que estos compuestos confieren a algunos alimentos. Los carotenoides hidrocarbonados (carotenoides compuestos solamente de carbono e hidrógeno) son llamados carotenos, mientras que aquellos que contienen oxígeno son llamados xantófilas. En la naturaleza, estos compuestos existen principalmente en la forma isomérica más estable *all-trans*, pero también se ha reportado la presencia de isómeros *cis* de otros carotenoides. Las plantas son

capaces de sintetizarlos, debido a lo cual son considerados como pigmentos de plantas, aunque también son encontrados en algunos alimentos animales. Los animales son incapaces de biosintetizar carotenoides, pero los que tienen son derivados de la dieta. El β -caroteno (**Figura 2**) es el que se encuentra con mayor frecuencia en los alimentos, (**Rodríguez-Amaya, 2001**).

Estructuralmente, la vitamina A (retinol) equivale a la mitad de la molécula de β -caroteno con la adición de una molécula de agua al final de la cadena poliénica. Así, el β -caroteno es una potente provitamina A y se le asigna el 100% de actividad. El requerimiento mínimo para la actividad de vitamina A es un anillo β sin sustituir con una cadena poliénica C_{11} . El γ -caroteno, α -caroteno, β -criptoxantina, α -criptoxantina y β -caroteno-5,6-epoxido, también son provitaminas pero tienen aproximadamente solo la mitad de la bioactividad del β -caroteno. Los carotenoides acíclicos, quienes carecen de anillos β y las xantofilas en las cuales los anillos β tienen sustituyentes hidroxilo, epoxi y carbonilo, no son provitamina A, (**Rodríguez-Amaya, 2001**). El proceso por medio del cual los carotenoides provitamínicos son convertidos a vitamina A se muestra en la siguiente figura.

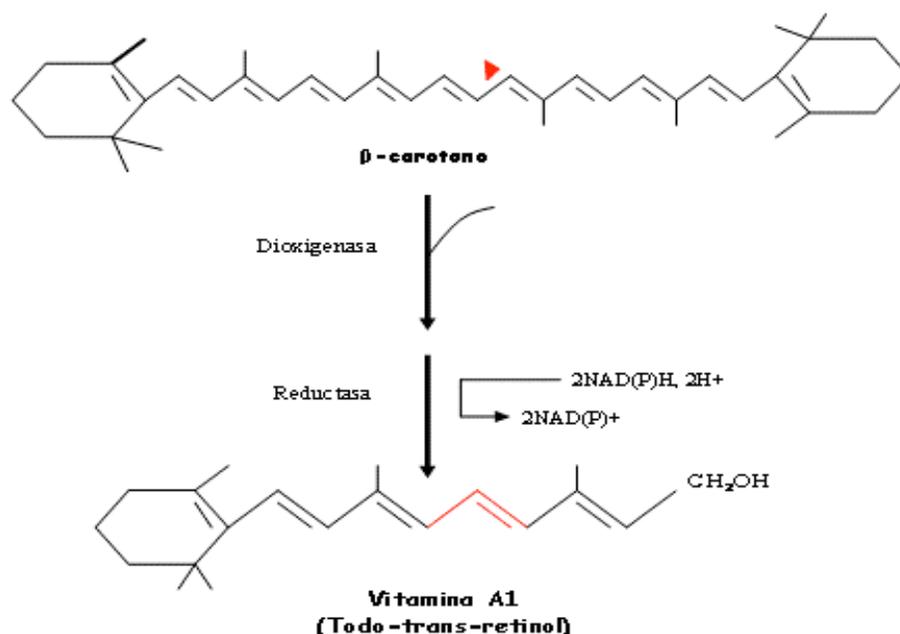


Figura 2. Biosíntesis de la vitamina A

Fuente: Fennema, 1985.

El proceso consiste en la fragmentación oxidativa de la molécula de β -caroteno, en el doble enlace 15,15', con lo que se producen dos moléculas de retinal. Esta reacción es catalizada por la enzima dioxigenasa carotenoide 15,15' que se encuentra en el intestino, hígado, pulmón y otros tejidos.

Absorción de luz

El sistema de dobles enlaces conjugados constituye el cromóforo absorbente de luz que otorga a los carotenoides su atractivo color y suministra el espectro de absorción visible que sirve como base para su identificación y cuantificación. El espectro ultravioleta y visible es la primera herramienta de diagnóstico para la identificación de carotenoides. Son características del cromóforo la longitud de onda de absorción máxima (λ_{max}) y la forma del espectro (estructura espectral fina) (**Figura 3**). La mayoría de los carotenoides absorben a tres longitudes de onda máximas, dando como resultado un espectro de tres picos. A mayor número de dobles enlaces conjugados, se tienen mayores valores de λ_{max} . Se necesitan al menos 7 dobles enlaces conjugados para que un carotenoide tenga un color perceptible, (**Rodríguez-Amaya, 2001**).

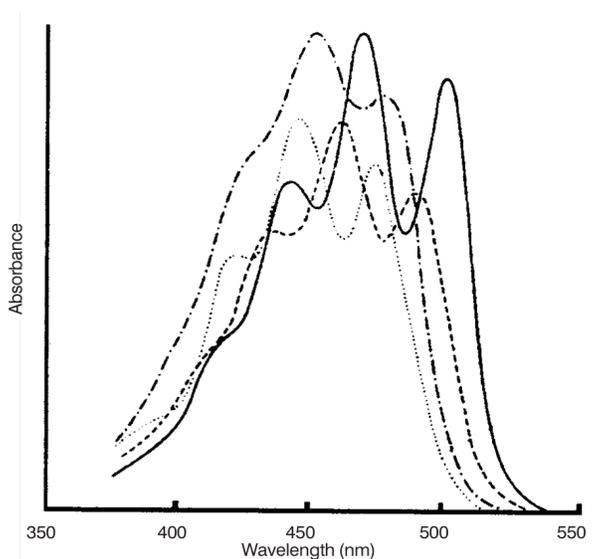


Figura 3. Espectro de absorción visible de licopeno (—), γ -caroteno (----), β -caroteno (-.-.-) y α -caroteno (...) en éter de petróleo.

Fuente: Rodríguez-Amaya, 2001.

La isomerización *cis* de un doble enlace del cromóforo provoca una ligera pérdida de color y un pequeño cambio hipsocrómico (desplazamiento de λ_{max} a menor longitud de onda) (usualmente de 2 a 6 nm para mono-*cis*) y efecto hipocrómico (decremento en absorbancia) acompañado por la aparición de un pico *cis* cerca de la región ultravioleta, (**Rodríguez-Amaya, 2001**) (**Figura 3**).

b) Funciones

En el organismo humano la vitamina A usualmente tiene tres tipos de funciones: **(1)** mantener la diferenciación de las células epiteliales, **(2)** mantener la viabilidad del sistema reproductivo, y **(3)** utilización en el ciclo visual. El ácido retinoico dietario puede mantener solamente la primera de las funciones anteriores, (**Brody, 1998**).

Otras funciones biológicas o acciones atribuidas a los carotenoides como la prevención de ciertos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y degeneración macular son independientes de la actividad de provitamina A y han sido atribuidas a una actividad antioxidante de los carotenoides por medio de la represión del oxígeno singulete (sus dos electrones más externos tienen un spin diferente) y la desactivación de radicales libres. La habilidad de los carotenoides para reprimir al oxígeno singulete está asociada a su sistema de dobles enlaces conjugados y la máxima protección es otorgada por aquellos que tienen nueve o más dobles enlaces, (**Rodríguez-Amaya, 2001**).

c) Estabilidad durante el procesamiento de los alimentos

Debido a su sistema de dobles enlaces conjugados, son susceptibles de sufrir una serie de reacciones que afectan su estabilidad. En la **Figura 4** se muestra un resumen de las reacciones que puede sufrir un β -caroteno.

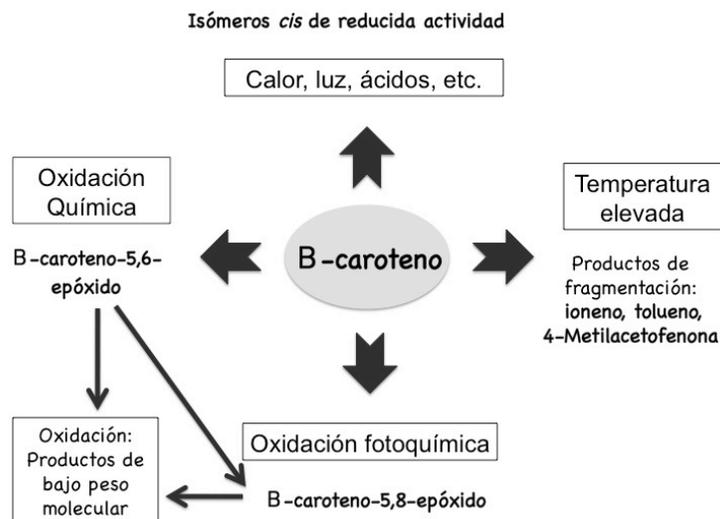


Figura 4. Esquema de la degradación del β -caroteno.

Fuente: Fennema, 1985.

El calor, luz, ácidos y absorción en una superficie activa promueven su isomerización de la forma usual *trans*, a la forma *cis*, provocando pérdida de color y actividad de la provitamina. Por ejemplo, la forma 9 *cis* posee el 38% de la actividad, mientras que la forma 13 *cis* presenta el 56 por ciento. La degradación oxidativa, es la principal causa de la pérdida extensiva de carotenoides, ésta depende de la disponibilidad de oxígeno, y su estimulación por luz, enzimas, metales, por peroxidación directa o por la acción indirecta de radicales libres originados durante la oxidación de los ácidos grasos. Al principio se forman epóxidos y apocarotenoides (carotenoides con esqueleto de carbono reducido), fragmentaciones subsecuentes producen una serie de compuestos de bajo peso molecular, **(Rodríguez-Amaya, 2001)**.

Dadas las condiciones de tratamiento, los carotenoides son susceptibles a la isomerización y oxidación durante el procesamiento y almacenamiento de los alimentos, lo que provoca pérdida de color, actividad biológica y la formación de compuestos volátiles que imparten sabor deseable o indeseable en algunos alimentos. Por ejemplo, el proceso de enlatado incrementa el porcentaje de isómeros *cis* totales de carotenoides provitamina A en diferentes frutas y vegetales debido a las temperaturas utilizadas. Cabe mencionar que los carotenoides

resisten mejor la modificaciones señaladas cuando se encuentran en el seno del alimento que cuando se encuentran en estado puro, ya que los polímeros, las proteínas y los hidratos de carbono ejercen un efecto protector sobre éstos y otros nutrimentos, (**Rodríguez-Amaya, 2001, Badui, 1999**).

d) Métodos analíticos

Los carotenoides en solución obedecen la ley Beer-Lambert, su absorbancia es directamente proporcional a la concentración. Debido a ello, estos compuestos son cuantificados espectrofotométricamente, (**Rodríguez-Amaya, 2001**).

Cuando se desea separar y cuantificar los carotenoides de forma individual y precisa, el método de elección es la cromatografía de líquidos de alta resolución, **HPLC** (por sus siglas en inglés: High Performance Liquid Chromatography). Con esta técnica instrumental, los riesgos de alteración de las sustancias analizadas son mínimos. Además, ofrece un poder de resolución elevado para los carotenos y las xantofilas, así como entre los propios isómeros. En la mayoría de las técnicas se emplean columnas de fase inversa C18, aunque se consigue una mayor selectividad con fases C30. El sistema de detección es por espectrometría UV-visible de longitud de onda variable o con detectores de red de fotodiodos que permiten análisis espectrales en 3 dimensiones y verificar la pureza de cada pico, (**Adrian y col., 2006**).

2.2.2 Vitamina E

Evans y Bishop descubrieron la vitamina E (en aquel tiempo α -tocoferol) mientras estudiaban la influencia de la nutrición en la reproducción de ratas, observándola como un factor esencial para la reproducción. El nombre tocoferol, entonces, viene de “tokos” (parto) y “phorein” (dar a luz) y el sufijo “-ol” fue añadido para indicar la naturaleza fenólica. Ahora el término “vitamina E” es un nombre genérico para todos los derivados tocol y tocotrienol que presentan la actividad biológica del α -

tocoferol. La vitamina E solamente es sintetizada por plantas, es un nutriente dietario muy importante para humanos y animales. Los tocoferoles están presentes en semillas aceitosas, hojas y otras partes verdes de plantas superiores. El α -tocoferol se encuentra principalmente en los cloroplastos de células de plantas, mientras que los homólogos β , δ y γ usualmente se encuentran fuera de estos organelos. En contraste los tocotrienoles no se encuentran en las partes verdes de las plantas, más bien en el salvado y fracciones de germen de ciertas semillas y cereales, (Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996).

a) Estructura

Con el nombre de *tocoferoles* se conocen varios compuestos con estructura química similar, y esta denominación incluye a los *tocotrienoles* y sus derivados; los más importantes son los α , β , γ y δ -tocoferol y el α -tocotrienol, con actividades biológicas relativas de 10, 4, 1, 0.1, y 3, respectivamente, (Badui, 1999). Todas las formas de la vitamina cuentan con dos partes, una “cabeza” y una “cola” en la Figura 5 se observa la estructura de los tocoferoles.

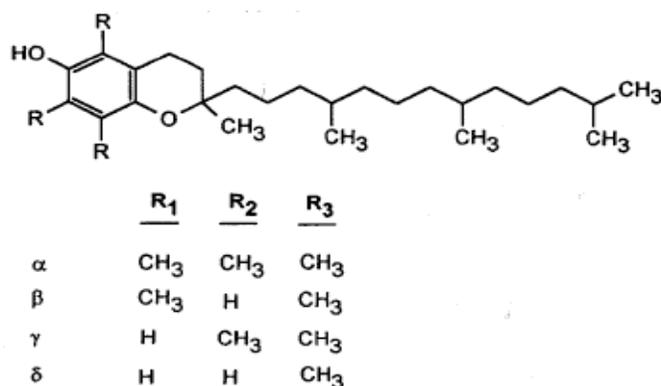


Figura 5. Estructura de los tocoferoles.

Fuente: Fennema, 1985.

La cabeza consiste en una estructura de anillo aromático, llamado *romano* o *romanol*, el cual tiene uno o más grupos metilo en las posiciones 5, 7 u 8; este anillo es el sitio de la acción antioxidante. La cola de los tocoferoles es un *grupo fitil*, mientras que la cola de los tocotrienoles es un *grupo polisoprenoide*, (Brody,

1998). Los tocotrienoles son idénticos a los tocoferoles, solo que los tocotrienoles poseen dobles enlaces en las posiciones 3', 7' y 11' de la cadena lateral. Las formas α , β γ y δ de tocoferoles y tocotrienoles se diferencian de acuerdo al número y la posición de los grupos metilo, debido a esto difieren en la actividad de vitamina E que poseen. La molécula de tocoferol tiene tres carbonos asimétricos (2, 4' y 8'), haciendo posibles ocho diastereoisómeros, la configuración estereoquímica influye también en la actividad de la vitamina E, (**Fennema, 1985**). El grupo fitil de los vitámeros E sirve para que se puedan fijar en las membranas lipídicas, en el tejido adiposo, y en el centro de las lipoproteínas. La forma predominante de vitamina E en los alimentos es el *α -tocoferol*, (**Brody, 1998**).

b) Funciones

La actividad biológica del α -tocoferol está basada en su propiedad antioxidante, juega un papel esencial en el mantenimiento de la integridad de membranas biológicas, además de estabilizar otros compuestos biológicos activos contra la oxidación. Los tocoferoles y tocotrienoles naturales también contribuyen a la *estabilidad* de los aceites vegetales muy insaturados mediante su efecto antioxidante, (**Player y col., 2006, Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996**). La actividad antioxidante de los tocoferoles y tocotrienoles (agrupados como cromanoles), se debe principalmente a su facilidad para donar sus hidrógenos fenólicos a radicales lipídicos libres. En años recientes, se ha reanudado y promovido el interés por la vitamina E, debido a la implicación de *radicales libres* en la patogénesis de enfermedades degenerativas y la posible *prevención* o retardo del proceso de la enfermedad por antioxidantes, (**Chow, 2001**).

c) Estabilidad durante el procesamiento de los alimentos

Los tocoferoles son estables en ausencia de oxígeno y lípidos oxidables, pues la velocidad de degradación del α -tocoferol incrementa rápidamente con la presencia de oxígeno molecular y radicales libres en los alimentos. Durante el proceso de refinación de aceites, por ejemplo, los tocoferoles sufren reacciones de deterioro,

principalmente de oxidación, que reducen su concentración hasta un 70%. Por otro lado, los tratamientos anaerobios durante procesos térmicos como el enlatado, tienen poco efecto sobre la actividad de vitamina E, (**Player, y col., 2006, Badui, 1999**).

En los alimentos con actividad de vitamina E, el α -tocoferol puede reaccionar con un radical peroxilo, resultando en la formación de un hidroperóxido y un radical α -tocoferilo, este radical es poco reactivo debido a que el electrón no apareado resuena en todo el anillo fenólico. Las reacciones de terminación del radical pueden formar dímeros y trimeros de tocoferilo ligados covalentemente, mientras que subsecuentes oxidaciones y reestructuraciones pueden producir tocoferóxido, tocoferil hidroquinona y tocoferil quinona, entre otros productos. Los productos de degradación de la vitamina E tienen muy poca o ninguna actividad de vitamina E, (**Fennema, 1985**).

Asimismo, los vitámeros E pueden secuestrar el oxígeno singulete mientras está produciéndose la degradación. Cuando el oxígeno singulete ataca al anillo cromanol, se forma un derivado de hidroperoxidioneona transitorio, el cual puede reestructurarse para dar tocoferil quinona y tocoferil quinona 2,3 óxido cuya actividad de vitamina E es pequeña. Además, los tocoferoles también pueden fijar el oxígeno singulete físicamente, con lo que se desactiva el estado singulete sin que se oxide el tocoferol, (**Fennema, 1985**).

Para la fortificación de alimentos, se añaden tocoferoles esterificados como el acetato de α -tocoferilo, pues este tipo de compuestos son más estables. Estos compuestos carecen de actividad antioxidante debido a que el átomo de hidrógeno del grupo fenólico es reemplazado por el éster acetato, sin embargo, recobran su efecto antioxidante y la actividad de vitamina E *in vivo*, gracias a la ruptura enzimática que sufre el enlace éster, (**Fennema, 1985**).

d) Métodos analíticos

La vitamina E puede cuantificarse por cromatografía de gases (CG) usando una columna capilar con fase líquida de metilfenil silicona, y un detector de ionización de llama que permite obtener los contenidos individuales de los cuatro tocoferoles. Sin embargo, la cromatografía de líquidos de alta resolución, HPLC, presenta la ventaja de lograr una mejor separación de las mezclas complejas sin necesidad de una derivación previa. Estas manipulaciones, menos exigentes, permiten reducir las eventuales pérdidas por oxidación, (**Adrian y col., 2006**). El análisis de los *vitámeros* E se lleva a cabo comúnmente con fase normal con detector de fluorescencia (NP-HPLC-FLD). Se prefiere un detector de fluorescencia, a un detector ultravioleta en el análisis de tocoferoles y tocotrienoles en matrices alimenticias complejas debido a su especificidad y sensibilidad. Otros métodos de separación incluyen la HPLC fase reversa, y más recientemente la electrocromatografía capilar, (**Ryynänen y col., 2004**).

2.2.3. Vitamina C

Las vitaminas hidrosolubles están constituidas por la C y el complejo B, que consta de tiamina (B₁), riboflavina (B₂), piridoxina (B₆), cobalamina (B₁₂), biotina, ácido fólico, niacina y ácido pantoténico. A diferencia de las vitaminas liposolubles, el hombre no tiene la capacidad de almacenar este grupo de nutrimentos, por lo que requiere consumirlas de manera continua mediante una dieta balanceada. Cuando se ingiere una excesiva cantidad de ellas solo se aprovecha una fracción y la otra se elimina en la orina, (**Badui, 1999**).

En humanos, la vitamina C cura y previene el escorbuto, de ahí la designación de ácido ascórbico. La vitamina C es muy importante para los humanos, pues la deficiencia de esta vitamina, provoca la fatal enfermedad llamada escorbuto. Históricamente esta enfermedad fue la causante de innumerables muertes de viajeros del océano. Por ejemplo, Vasco de Gama perdió a la mitad de su tripulación por causa de tal enfermedad, cuando rodeó por primera vez el Cabo entre 1497 y 1499. A finales de 1800, se estableció la conexión entre el escorbuto

y la dieta, mientras que, en 1915, Zilva y sus colaboradores en Londres, aislaron la actividad antiescorbútica de una fracción cruda del limón, (Davies y col., 1991, Johnston y col., 2001).

La vitamina C es químicamente la más simple de las vitaminas y por esta razón fue de las primeras en ser aislada, caracterizada, purificadas y tener su estructura determinada; además es producida industrialmente en mayor cantidad que alguna otra vitamina, (Johnston y col., 2001). Este compuesto se encuentra de manera natural en las frutas y verduras, y en menor extensión, en los tejidos animales y en los productos derivados de estos. En la naturaleza está presente casi por completo en la forma reducida de ácido L-ascórbico, (Badui, 1999).

a) Estructura

La vitamina C es una cetona cíclica que corresponde a la forma enólica de la 3-ceto-1-gulofuranolactona; contiene un enol entre los carbonos 2 y 3 que la hace un agente ácido y muy reductor, por lo que se oxida fácilmente, (Badui, 1999). En la Figura 6 se muestra su fórmula desarrollada.

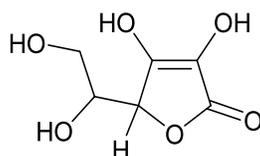


Figura 6. Estructura del ácido ascórbico.

Fuente: Fennema, 1985.

Es una molécula muy polar, su carácter ácido se debe a la ionización del grupo hidroxilo en el C-3 ($pK_{a1} = 4.04$ a 25°C). Además tiene una segunda ionización del grupo hidroxilo en el carbono C-2 ($pK_{a2} = 11.4$ a 25°C). El ácido L-ascórbico se convierte en ácido L-deshidroascórbico (DHAA por sus siglas en inglés) (Figura 7) por oxidación y éste presenta aproximadamente 80% de la actividad del ácido ascórbico, ya que se reduce casi totalmente a ácido ascórbico en el organismo, (Fennema, 1985).

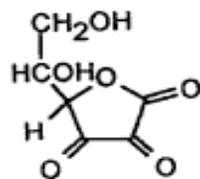


Figura 7. Estructura del ácido L-deshidroascórbico.

Fuente: Fennema, 1985.

Sólo los isómeros L de estos ácidos tienen una acción vitamínica. El ácido L-isoascórbico, el cual es un isómero óptico en la posición C-5, y el ácido D-ascórbico, que es un isómero óptico en la posición C-4, se comportan químicamente igual que el ácido ascórbico, pero estas moléculas no tienen actividad de vitamina C, (Fennema, 1985).

b) Funciones

Su actividad biológica es variada, se sabe que es necesaria para la síntesis del tejido conectivo (colágeno), para la formación de los huesos, la dentina de los dientes, los cartílagos y las paredes de los capilares sanguíneos; además, interviene en reacciones de oxidación-reducción, y de hidroxilación de hormonas esteroidales, así como de aminoácidos aromáticos, (Badui, 1999).

c) Estabilidad durante el procesamiento de los alimentos

De todas las vitaminas, la C es la más inestable y lábil, por lo que se ha propuesto utilizar su contenido residual en los alimentos como índice de retención de otros nutrimentos. Se considera que si resiste el procesamiento, almacenamiento, etc., quiere decir que los demás nutrientes serán afectados en menor medida, (Badui, 1999).

Siempre existe la posibilidad de que se produzcan grandes pérdidas por lixiviación debido a la alta solubilidad del ácido ascórbico en disoluciones acuosas. El ácido ascórbico es muy sensible a la oxidación, sobre todo cuando es catalizada por iones metálicos como Cu^{2+} y Fe^{3+} . El calor y la luz aceleran el proceso, mientras

que el pH, la concentración de oxígeno y la actividad de agua influyen de manera importante en la velocidad de la reacción, (**Fennema, 1985**). Además el material vegetal rico en ácido ascórbico también contiene ácido ascórbico oxidasa, la cual normalmente puede estar inactiva o contenida dentro de vesículas, pero el picado fino de tal material, se sabe incrementa la actividad de la enzima. Otra enzima que causa pérdida de ácido ascórbico en vegetales es la fenolasa, la cual funciona con oxígeno y ácido ascórbico, esto resulta en la formación de ácido dehidroascórbico, el cual es convertido rápidamente a ácido 2,3-dicetogulónico. El proceso es catalizado por Cu (II) y otros iones metálicos de transición, los cuales asimismo aceleran la pérdida de ácido ascórbico de frutas y vegetales, por ejemplo, cuando se cocinan en contenedores que contienen cobre o hierro, (**Johnston y col., 2001**).

La degradación química de la vitamina C comienza con la oxidación del ácido ascórbico a DHAA, posteriormente ocurre la hidrólisis del puente de lactona del DHAA, con lo que se genera ácido 2,3-dicetogulónico, dicha hidrólisis es la causante de la pérdida irreversible de vitamina C. Posteriores reacciones de oxidación, deshidratación y polimerización producen varios productos inactivos nutritivamente. La oxidación del ácido ascórbico puede ocurrir en dos procesos, de transferencia de un electrón, o como una reacción única de dos electrones sin detectar al intermediario semi hidroascorbato, (**Fennema, 1985**).

El ácido ascórbico, también puede degradarse por vía anaeróbica sin embargo, esta vía no provoca pérdidas significativas de la vitamina en los alimentos. Esta vía es más importante en los productos enlatados, como las hortalizas y zumos de frutas, (**Fennema, 1985**).

Las reacciones que ocurren en las fases terminales de la degradación del ácido ascórbico revisten importancia, debido a que dan lugar a la formación de compuestos aromáticos y con sabor o precursores de los mismos. Tales compuestos pueden contribuir a los cambios de sabor, aroma y el olor producido

en zumos de cítricos durante su almacenamiento o tratamiento térmico excesivo. También pueden participar en el pardeamiento no enzimático, (**Fennema, 1985**).

d) Métodos analíticos

Uno de los reactivos más antiguos utilizados para la determinación de la vitamina C es un pigmento azul cuyo leucoderivado se obtiene por reacción redox con el ácido ascórbico, se trata del *2,6-diclorofenolindofenol*. La determinación se realiza siguiendo la cinética de decoloración del pigmento en presencia de ácido ascórbico. La técnica mide sólo la forma reducida o la vitamina total a condición de que el DHAA haya sido previamente reducido. En la actualidad se procede a una medida volumétrica determinando la cantidad de reactivo necesaria para la oxidación del ácido ascórbico; el viraje se detecta visualmente o electroquímicamente. Sin embargo, los métodos de HPLC presentan mayor especificidad por el hecho de separar eficazmente las sustancias interferentes. Una separación cromatográfica junto con la detección espectrofotométrica, fluorométrica o electroquímica hace que los análisis con HPLC sean mucho más específicos que los métodos tradicionales de titulación redox. Es posible realizar un análisis cromatográfico del extracto como tal y medir las dos formas de vitamina C, (**Fennema, 1985**).

2.2.4 Sinergia entre vitaminas

Cuando en un sistema lipídico oxidante, está presente más de un componente (antioxidante), frecuentemente el efecto neto de aquellos compuestos es mayor que la suma de sus efectos individuales, este fenómeno se conoce como **sinergismo**. El sinergismo con tocoferoles puede explicarse por tres mecanismos: El primer mecanismo involucra alguna clase de tocoferol “de repuesto” y ocurre cuando el tocoferol está presente con algún otro antioxidante real trabajando por el mismo o por un mecanismo diferente (ejemplo: atrapador de radicales o represor del oxígeno singulete). En el caso de otro donador de hidrógeno, el efecto puede

ser el mismo que cuando se tiene una alta concentración de tocoferol, por lo que no es significativo tener algún otro antioxidante que trabaje por el mismo mecanismo. Sin embargo se pueden obtener efectos sinérgicos significativos cuando el otro antioxidante trabaja por otro mecanismo, por ejemplo, represión de radicales libres por β -caroteno. Se sabe que el β -caroteno actúa como un antioxidante a baja presión de oxígeno, pero tiene efectos prooxidantes a altas presiones de oxígeno. Así, el α -tocoferol y el β -caroteno pueden jugar roles complementarios o igual mostrar sinergismo en sistemas de baja presión de oxígeno. El segundo mecanismo opera cuando el tocoferol está presente junto con otra sustancia (s) las cuales es/son capaces de “regenerarlo” de sus radicales o productos de oxidación. El ácido ascórbico regenera al α -tocoferol de su radical tocoferoxil *in vivo* e *in vitro* y asimismo restaura su actividad antioxidante. El tercer mecanismo por el cual trabajan algunos sinergistas es a través de “quelación metal traza”. Existen reportes en los cuales los tocoferoles mostraron efectos sinérgicos con fosfolípidos, que son debidos principalmente a las propiedades quelantes de metales de los fosfolípidos, (**Kamal-Eldin y Appelqvist, 1996**).

2.3 Métodos de conservación de los alimentos

Desde tiempos ancestrales, el hombre se ha preocupado por desarrollar técnicas de conservación de alimentos que le fueran permitiendo contar con ellos en épocas de sequía o hambruna; se puede decir que siempre el hombre ha recurrido a la conservación de alimentos. Muchas de las técnicas de elaboración y procesamiento de alimentos que se emplean en la actualidad tienen su origen en civilizaciones tan antiguas como la egipcia o la azteca y tales conocimientos, transmitidos de generación en generación han llegado hasta nosotros, por ejemplo la utilización del fuego, del humo, del aceite, el vinagre, la sal, la cera o la miel o bien procesos como el secado o la fermentación se han utilizado desde tiempos muy antiguos para la preparación y conservación de los alimentos, (**Badui, 1999**).

El procesamiento de los alimentos consiste en la transformación de materiales crudos de plantas y animales, en productos listos para consumirse, con el objetivo de estabilizar los productos alimenticios, el procesamiento también incluye atacar o reducir los factores que provocan cambios negativos en la calidad de estos, estos factores son los microorganismos y las enzimas. Para los consumidores, los atributos más importantes de un producto alimenticio son sus características sensoriales, lo cual determina la preferencia del individuo por productos específicos. Un reto de los fabricantes de alimentos es desarrollar y emplear tecnologías de procesamiento que retengan o suministren cualidades sensoriales deseables para el consumidor, o bien, que reduzcan cambios indeseables en el alimento como resultado del proceso, **(Hogan y col., 2005)**.

Dentro de los métodos tradicionales de conservación de alimentos, se encuentran métodos físicos y químicos. Son métodos físicos el uso de calor, el manejo del frío, o bien el control de la actividad de agua, ejemplos de métodos térmicos son la esterilización, pasteurización, el freído y más recientemente la ultra-pasteurización que implica temperaturas más elevadas pero de corto tiempo, la refrigeración y la congelación, etc.; otros procesos se basan en métodos químicos como la reducción del pH o el uso de conservadores, estos métodos se utilizan de manera extensiva. El mecanismo de acción de los métodos tradicionales incluye la reducción del crecimiento microbiano y de la actividad enzimática o metabólica, con el fin de prevenir cambios químicos indeseables en los alimentos, si bien el uso de calor reduce los niveles de microorganismos y actividad de enzimas, también puede alterar las características sensoriales y nutricionales de los alimentos, por ejemplo la destrucción de vitaminas. En la actualidad se realizan avances tecnológicos para mejorar la eficiencia y efectividad de estos procesos, asimismo, se están explorando e implementando tecnologías de procesamiento de alimentos nuevas o alternas a las tradicionales, con el fin de obtener alimentos que se asemejen lo mejor posible a los productos en su estado fresco, que sean seguros, que presenten una vida de anaquel razonable con una alta retención de vitaminas y otros nutrientes, y sin el uso de calor o conservadores químicos, **(Hogan y col., 2005)**.

Desde los años sesentas las compañías procesadoras e investigadores de todo el mundo se dieron a la tarea de desarrollar procesos menos agresivos, en respuesta a la creciente demanda de productos con adiciones mínimas de aditivos o conservadores y, que al mismo tiempo, conserven lo mejor posible las características nutritivas y sensoriales del producto en su estado fresco. Entonces surgen las **Tecnologías Emergentes**, las cuales presentan ventajas con respecto a las tecnologías tradicionales, ya que hacen un uso más eficiente de la energía o bien menor uso de ésta. Además de dañar en menor grado los atributos sensoriales y nutricionales de los alimentos. Dentro de este grupo de tecnologías destacan, las altas presiones, los campos electromagnéticos pulsados (CEP), la liofilización, las microondas, el ultrasonido, los pulsos de luz y las radiofrecuencias, entre otras, (**Rodríguez y col., 2003**).

2.3.1 Conservación de la pulpa de aguacate

2.3.1.1 Oscurecimiento enzimático

Se sabe que el deterioro del aguacate es producido por reacciones oxidativas mediadas por enzimas, especialmente en la fracción acuosa, donde los sustratos fenólicos son hidroxilados y después oxidados para producir compuestos conocidos genéricamente como quinonas y que se polimerizan para formar complejos de color oscuro conocidos como melaninas. Por otro lado, los cambios que ocurren en la fracción lipídica son la consecuencia de la auto oxidación de los lípidos, (**Elez-Martínez y col., 2005**).

Se ha reportado una relación directa entre la susceptibilidad al oscurecimiento del aguacate y la actividad de la enzima polifenol oxidasa. La polifenol oxidasa, **PFO**, (1,2-benzenediol: oxígeno óxidoreductasa; EC 1.10.3.1), también conocida como tirosinasa, polifenolasa, fenolasa, catecol oxidasa, cresolasa, o catecolasa es ampliamente encontrada en la naturaleza, típicamente está presente en la mayoría de los tejidos de plantas. El oscurecimiento enzimático ocurre como resultado de

la oxidación de compuestos fenólicos por acción de la **PFO** y su eventual polimerización a quinonas, (catalizada sin enzimas) y posteriormente a pigmentos como melanina, (Yoruk y Marshall, 2003).

En la **Figura 8** se muestran las reacciones catalizadas por la PFO. Se sabe que el intenso oscurecimiento de productos vegetales se origina en condiciones de estrés debido al rompimiento celular, ocasionando el contacto del sustrato con la PFO y la penetración de oxígeno. Estas reacciones son complejas, dado que un gran número de compuestos monofenólicos y/o difenólicos catalizados por la PFO pueden formar una variedad de productos (quinonas y productos de condensación).

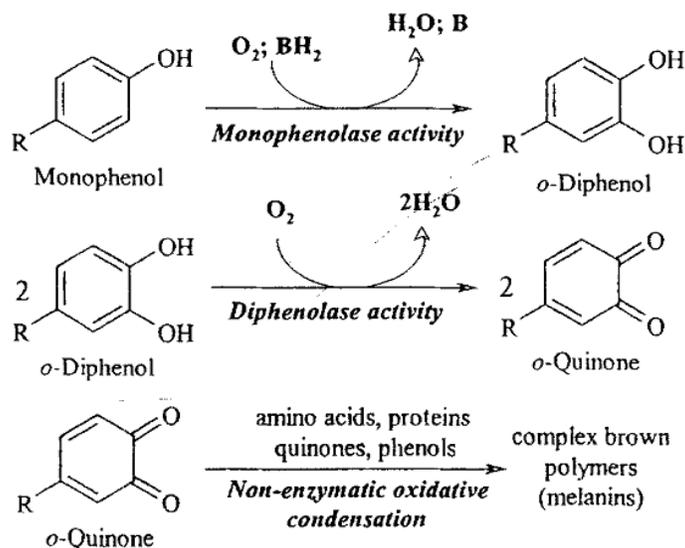


Figura 8. Representación esquemática de las reacciones catalizadas por la PFO y subsecuentes procesos de condensación no enzimáticos.

Fuente: Yoruk y Marshall, 2003.

Las o-quinonas generadas por la reacción de la PFO con sustratos fenólicos poseen color, sin embargo, el color café rojizo típico característico del oscurecimiento enzimático es debido principalmente a reacciones secundarias no enzimáticas de o-quinonas que resultan en la formación de polímeros complejos conocidos como melaninas, (Yoruk y Marshall, 2003).

Aunque la oxidación de fenoles y la formación de melaninas son procesos fisiológicos normales de la PFO en plantas, la presencia de la actividad enzimática en tejidos intactos de plantas no está comprendida por completo. La acción catalítica de la PFO tiene un enorme impacto en la calidad de varios cultivos de frutas y vegetales y resulta en la alteración de color, sabor, textura y valor nutricional. Estas reacciones disminuyen significativamente la aceptación del consumidor, la vida de anaquel y el valor de los productos. La función de la PFO aún es enigmática, en plantas se observa frecuentemente una correlación positiva entre niveles de PFO y la resistencia a patógenos y herbívoros, pero en la mayoría de los casos, no se ha publicado una prueba convincente de una relación que lo cause. Por otro lado, hay concordancia general en que durante el crecimiento normal y desarrollo de la planta, la actividad de la PFO es mucho más alta en frutas inmaduras y hojas jóvenes que en frutas y hojas maduras, lo que sugiere un posible papel de la PFO en la protección de plantas en crecimiento contra infecciones o daños, (Yoruk y Marshall, 2003, Mayer, 2006).

2.3.1.2 Técnicas de conservación aplicadas a la pulpa de aguacate

Se han desarrollado algunas técnicas para evitar el oscurecimiento del fruto, lo que le otorgaría una mayor vida de anaquel, un mejor transporte y distribución y sobretodo un valor agregado para el producto. Aunque los tratamientos térmicos son eficaces para disminuir o eliminar microorganismos y actividad de enzimas, este tipo de tratamiento perjudica la calidad de la pulpa del aguacate, debido a que induce varias reacciones indeseables que producen oscurecimiento, dañan el sabor, la textura y/o se producen pérdidas nutricionales, (Elez-Martínez y col., 2005, Olaeta, 2003). La aplicación de altas temperaturas pero a tiempos cortos puede causar menor efecto negativo en alimentos sensibles. Ortíz y colaboradores (2003), propusieron un tratamiento térmico de corta duración como un intento de retener la calidad en la pasta de aguacate. Ellos evaluaron la actividad de la polifenoloxidasas y el color de pasta de aguacate con tratamiento

térmico de altas temperaturas y tiempo corto, en un intercambiador de calor de superficie raspada (ICSR), los autores mencionan que este tipo de intercambiadores son una alternativa para alimentos tipo puré o pasta, ya que estos contienen sólidos en suspensión. Las temperaturas probadas fueron de 73, 80, 84 y 85° C durante 10, 8, 6 y 4.6 minutos; después del tratamiento almacenaron las muestras durante ocho semanas y evaluaron la calidad microbiológica, color y pH de las mismas, lograron inactivar la polifenoloxidasas a partir de 73° C durante 10 minutos, el producto mostró gran estabilidad microbiológica y poca variación de pH, sin embargo, el color de la pasta se degradó cambiando a un color amarillo, tal degradación aumentó con el tiempo de tratamiento y de almacenamiento en todos los casos. Existen diversos trabajos de investigación que buscan la conservación de la pulpa de aguacate en forma de puré o como guacamole, entre los métodos propuestos se encuentra el empleo de métodos combinados y tecnologías emergentes como las atmósferas modificadas, liofilización, las altas presiones y las microondas.

Actualmente se comercializan pulpas de aguacate refrigeradas o congeladas, también mitades y cubos de aguacate congelados, estos productos pueden almacenarse de 8 a 10 meses, sin embargo, presentan un decremento en su calidad después de tres meses de almacenamiento y es necesario combinar estas técnicas con el uso de antioxidantes para controlar el pardeamiento enzimático de la pulpa; debido a esto, algunas pulpas que se comercializan, presentan un alto nivel de aditivos, afectando la calidad del producto final. Ya se mencionó que existe una creciente demanda de alimentos con menor adición de conservadores, por lo que existen trabajos que mencionan el uso de otros métodos combinados con la congelación, por ejemplo, para aguacate mínimamente procesado se emplea el empaque del producto con atmósferas modificadas con nitrógeno o bien al vacío, así como el uso de películas cuya permeabilidad al oxígeno sea baja. Por medio de esta técnica se ha logrado disminuir la actividad de la polifenoloxidasas lo que permite prolongar la vida de anaquel y al mismo tiempo conservan el color natural del producto, (Olaeta, 2003, Zarazúa-Escobar y col., 2005, Soliva-Fortuny y col., 2000 y 2002).

También se han estudiado métodos por medio de los cuales se reduce la actividad de agua de la pasta de aguacate, por ejemplo, el secado por atomización, la deshidratación osmótica y la liofilización. **Schwartz** y colaboradores en el **2007a**, reportaron un estudio sobre secado por atomización de pulpa de aguacate variedad Fuerte, con dicho método se pueden aplicar altas temperaturas en tiempos cortos, por lo que permite el secado de productos termolábiles como el aguacate. En este ensayo, la pulpa previamente mezclada con antioxidantes, se secó con un atomizador cuya temperatura de aire de entrada fue de 120 a 130° C y el de salida fue de 70 a 80° C y el flujo de alimentación de 8 a 10 kg h⁻¹, el producto se almacenó durante dos meses a temperatura ambiente y bajo refrigeración en oscuridad. El polvo presentó humedad del 1%, color verde típico del aguacate y buena reconstitución con agua, así como ausencia de microorganismos patógenos. Al cabo de dos meses de almacenamiento, no hubo diferencia significativa de color, aroma e índice de peróxidos entre el producto que se mantuvo a temperatura ambiente o en refrigeración bajo oscuridad. También **Schwartz** y colaboradores (**2007b**), reportaron un estudio sobre deshidratación osmótica de aguacate variedad Fuerte. Mencionan que este tipo de deshidratación tiene ventajas con respecto al método tradicional, por ejemplo la ausencia de altas temperaturas, pues el proceso se lleva a cabo a temperatura ambiente, por lo que no se afectan el color y el sabor del fruto, así como la conservación de la estructura e incluso mejora de la textura final del producto. Para este trabajo se deshidrataron trozos de aguacate en forma semilunar de 1 cm de espesor con tres soluciones osmóticas: NaCl 20% p/v (T1); maltodextrina (DE = 18-22) 60% (T2) y una solución mixta de NaCl 10%-maltodextrina (DE = 18-22) 50% (T3). También se expusieron al aire durante 24 horas, trozos y pulpa ya deshidratados. La deshidratación se llevó a cabo con la inmersión completa de los trozos de aguacate en cada solución osmótica durante 6 horas a temperatura ambiente, después de lo cual, los trozos se trituraron y se almacenaron al vacío en bolsas de polietileno. El mayor porcentaje de pérdida de peso (30.3%), pérdida de agua (39.4%) y sólidos solubles ganados (9.2%) se obtuvieron con el T3. La actividad de agua disminuyó desde 0.968 (valor inicial) hasta 0.907, 0.965 y 0.910 con T1,

T2 y T3, respectivamente; los trozos y pulpa de aguacate que se expusieron al aire no se oscurecieron y el color típico de la pulpa se mantuvo constante.

El método de liofilización representa una alternativa interesante para el secado de aguacate dadas sus ventajas, pues este proceso se realiza a bajas temperaturas y con vacío, lo que permite que el aguacate conserve sus características sensoriales y nutricionales, sin embargo, para consumir este tipo de productos, es necesario reconstituirlo. **Arriola-Guevara** y colaboradores (2006) realizaron un estudio sobre el comportamiento de aguacate liofilizado durante su rehidratación, encontrando que parámetros como la madurez del fruto, tiempo de congelación del liofilizado y la temperatura de rehidratación, repercuten en la eficiencia de la reconstitución del producto.

Asimismo, se ha reportado que el tratamiento con Altas Presiones Hidrostáticas puede mantener los atributos sensoriales del aguacate y al mismo tiempo, proporcionar un producto seguro con una vida de anaquel estable. Desde hace algunos años se comercializan pasta de aguacate y guacamole tratados con altas presiones, el guacamole es uno de los principales productos tratados con esta tecnología que son comercializados en los Estados Unidos. En nuestro país, existe una empresa que también elabora pulpa de aguacate y guacamole tratados con altas presiones, sin embargo sus productos son enteramente exportados a Estados Unidos y Europa, (**Hogan y col., 2005**).

Recientemente se ha investigado otra aplicación con temperatura, por medio de microondas, para el desarrollo de productos de aguacate como puré, guacamole y aceite. Por medio de esta técnica se ha observado una buena retención del color de la pulpa y aunque se genera pérdida de sabor debido al tratamiento térmico, **Guzmán-Gerónimo** y colaboradores (2008) reportaron la aplicación de un tratamiento combinado de microondas, pH y la adición de hojas de aguacate a la pulpa, con lo cual se minimiza la pérdida de sabor obteniendo un producto con el sabor característico del aguacate. Además, **Ortíz** y colaboradores (2010) reportaron la aplicación de un método combinado de microondas con expresión, el

cual puede llevar a obtener un buen rendimiento y calidad de aceite de aguacate libre de ácidos grasos *trans*.

Es importante mencionar que en la actualidad se han diversificado los usos del aguacate en varios países del mundo. Por ejemplo, en Brasil se añade a helados y sorbetes; en Japón se come en rollos de sushi.

2.3.2 Campos Electromagnéticos Pulsados

Un método no térmico para la pasteurización y esterilización de alimentos pueden ser los Campos Electromagnéticos Pulsados (CEP), que consisten en la aplicación de un *campo* de alto voltaje cuyo efecto es inactivar microorganismos y/o inhibir actividad enzimática sin modificar las características físico-químicas del producto tratado. En los equipos tradicionales de CEP se generan pulsos de corriente de alto voltaje pero muy corta duración, estos pulsos son descargas directas de corriente eléctrica y se forma al mismo tiempo un campo electromagnético, el cual recibe el nombre de CEP. Para generar los CEP se requiere principalmente de un sistema de alto voltaje, de un condensador para generar los pulsos y, desde luego, una cámara de tratamiento.

Es conveniente recordar que el voltaje es la fuerza impulsora que permite que las cargas fluyan en dirección decreciente del potencial. El voltaje cuya unidad es el volt (V), representa el trabajo necesario para mover las cargas de un punto a otro. El flujo de cargas a través del material conductor recibe el nombre de corriente eléctrica. La unidad de carga en el Sistema Internacional de unidades es el coulomb (C). La corriente eléctrica representa el número de cargas en movimiento, la unidad de medida de corriente eléctrica es llamada Amperio (A), donde la corriente es igual a la rapidez del flujo de carga por alguna región del espacio. Cuando la corriente en un objeto es de 1 A, quiere decir que la cantidad de carga que fluye en un punto del objeto en un segundo es de 1 C. La unidad más pequeña de carga conocida en la naturaleza es la que posee un electrón o un

protón, 1 C de carga es igual a la carga de 6.3×10^{18} electrones. Existen dos tipos de corriente, la corriente continua que es la que siempre circula en el mismo sentido, y la corriente alterna, esta circula cambiando de sentido con respecto al tiempo con cierta periodicidad llamada frecuencia, la frecuencia se define como el número de ciclos por segundo y se mide en hertz (Hz). La distancia de un ciclo completo se llama longitud de onda, (**Serway, 1999**).

La intensidad del campo electromagnético depende directamente de la intensidad del voltaje e inversamente de la distancia entre los electrodos. Asimismo, la cantidad de corriente que se aplica depende de la resistencia de la cámara de tratamiento. Los pulsos utilizados consisten en descargas discretas de corriente, por lo que se puede controlar el número y la duración de los mismos; asimismo, se pueden emplear dos tipos de pulsos, de decaimiento exponencial y de onda cuadrada. La cámara de tratamiento está conformada por dos electrodos, las hay para tratamientos por lote y, para equipos de operación continua se han diseñado cámaras de tratamiento continuo donde el alimento se hace pasar a través de éstas. Se utilizan entre 20 y 80 kV/cm y pulsos con duración de entre 1 y 10 μ s. Los CEP se han aplicado para el tratamiento de leche, jugos de fruta y huevos líquidos, esta tecnología presenta varias ventajas como el poder operar de manera continua con tiempos de tratamiento muy cortos, se puede implementar este sistema en líneas de procesamiento que ya existen, los incrementos de temperatura son mínimos, se logra una inactivación altamente efectiva de microorganismos y al mismo tiempo se retiene la calidad del producto tratado. (**Pizzichemi M., 2007, Toepfl y col., 2005, Min y col., 2003**).

Aunque desde principios del siglo XX se utilizó la energía eléctrica en tecnologías de conservación de alimentos, por ejemplo con una resistencia eléctrica dentro del producto, como calentamiento óhmico, esta tecnología se dejó de usar en los 50 por el costo de la electricidad. **Sale y Hamilton (1967, 1968)** fueron los primeros en llevar a cabo un estudio sistemático para investigar el efecto letal de los CEP en microorganismos. Ellos demostraron que la fuerza del campo electromagnético y el tiempo de tratamiento, fueron los factores más importantes que estuvieron

involucrados en la inactivación microbiana. El mecanismo de acción propuesto para explicar el efecto de inactivación de los CEP en microorganismos, es la formación de poros en la membrana cuando la célula se expone a un campo eléctrico externo, debido a la alineación de cargas a lo largo de la membrana. En la **Figura 9** se presenta un diagrama que representa el mecanismo de acción.

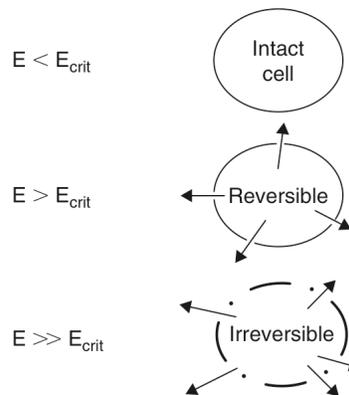


Figura 9. Diagrama de la formación de poros por la acción de un campo eléctrico externo.

Fuente: (Toepfl y col., 2005)

Los poros se forman cuando se rebasa el potencial crítico de 1 V, pues causa la ruptura de la membrana. Estos poros pueden ser reversibles o irreversibles, dependiendo del tiempo de exposición y la fuerza del campo, si se incrementa la intensidad de estos parámetros se forman poros grandes, causando el rompimiento de la membrana y por consiguiente la muerte celular, este proceso de formación de poros es conocido como *Electroporación*. En la actualidad esta técnica es utilizada de manera cotidiana en biología molecular para el intercambio de material hacia adentro o hacia fuera de las células, por ejemplo introducir DNA ajeno a una célula, (Toepfl y col., 2005).

Si bien en sus inicios la tecnología de los CEP se utilizó para inactivar microorganismos, tiempo después se descubrió que los CEP también podían inactivar algunas enzimas. Algunos autores atribuyen las modificaciones de la actividad enzimática, a cambios conformacionales en la estructura de las mismas.

No se conoce bien el comportamiento de las proteínas bajo campos electromagnéticos intensos, pero al parecer los campos pueden causar desdoblamiento y desnaturalización de la proteína, rompimiento de enlaces covalentes y reacciones de oxidación-reducción, como aquellas entre grupos sulfuro y enlaces disulfuro, debido a la separación de cargas, provocando cambios o probablemente modificaciones en su estructura, y consecuentemente la pérdida de actividad debido a la dificultad de ensamblar el sustrato en el sitio activo. El efecto de los CEP sobre enzimas depende de las condiciones de tratamiento, la enzima misma y el medio en el cual está suspendida. Además se ha reportado que factores tales como la fuerza del campo eléctrico, el tiempo de tratamiento o número de pulsos, ancho, frecuencia y polaridad de los mismos, la temperatura de tratamiento, si el procesamiento es por lotes o circulación continua, la forma de la onda, y el medio que contiene a la enzima tienen efectos significativos en la inactivación de la enzima, (**Martín-Belloso y Elez-Martínez, 2005**).

Además, en años más recientes, al aplicar campos electromagnéticos a alimentos sólidos se pudo observar que el tratamiento con CEP a tejidos celulares, genera un incremento en los coeficientes de transferencia de masa, debido a la formación de poros en la membrana, facilitando operaciones unitarias como la extracción o el secado, (**Toepfl y col., 2005**). Por lo anterior se ha sugerido el uso de esta técnica, como una etapa de pretratamiento no térmico para la desintegración de la membrana celular en tejidos, con lo cual se puede incrementar la eficiencia de la extracción del líquido intracelular, y para facilitar el secado de frutas y vegetales, (**Fincan y col., 2004**).

Habiéndose demostrado que los CEP tienen un efecto importante sobre enzimas y microorganismos, esta tecnología representa un potencial para mejorar o crear alternativas a los métodos convencionales en el procesamiento de alimentos. Sin embargo la explotación comercial de los CEP, requiere un análisis detallado de la seguridad del proceso, costo-efectividad y beneficios al consumidor, (**Toepfl y col., 2007**). Por otro lado, la habilidad de los CEP para permeabilizar el tejido celular en tiempos cortos puede ser utilizada para reemplazar técnicas térmicas

convencionales que consumen energía y tiempo, o técnicas para la desintegración mecánica o de maceración enzimática, (**Toepfl y col., 2005**).

Es importante mencionar que el equipo de CE que se diseñó y construyó en el CIBA-IPN, presenta importantes modificaciones con respecto a los equipos CEP tradicionales, en este equipo no existe contacto físico entre electrodo y muestra de alimento, no existe flujo de corriente y no existen incrementos de temperatura, en este equipo el alimento o la muestra es sometida a un verdadero campo de fuerzas, descritas de manera breve como *campo electrostático*, CE y que de acuerdo a la teoría se puede describir también como *campo eléctrico*. En este equipo se han demostrado el efecto sobre la enzima polifenoloxidasasa del aguacate, (**Castorena, 2007**) y un efecto letal sobre bacterias, (**Robles, 2008**).

2.3.2.1 Efecto sobre las vitaminas

Los tratamientos térmicos para la pasteurización de alimentos como leche son muy eficientes, sin embargo, pueden ocurrir cambios químicos y organolépticos indeseables. La utilización de CEP se ha tornado como una alternativa a los tratamientos con calor, debido a su efectividad contra la mayoría de los microorganismos, mientras que el sabor, color o vitaminas se ven afectadas de manera mínima o no se afectan, (**Riener y col., 2008**).

Se han llevado a cabo diversos estudios del efecto de los CEP sobre características como color y sabor, así como en vitaminas de alimentos tratados con esta tecnología. Por ejemplo, **Riener** y colaboradores (**2008**) desarrollaron un trabajo en el cual determinaron el efecto del tratamiento con CEP en leche cruda de bovino, donde encontraron que los contenidos de tiamina, riboflavina, retinol y α -tocoferol no fueron afectados por el tratamiento con CEP ($p > 0.05$), bajo los parámetros utilizados, que fueron de 15 a 35 kV/cm, a 12.5, 25, 37.5, 50 y 75 μ s (calculado como: número de pulsos x duración del pulso) a una temperatura de pretratamiento de 30° C. **Torregrosa** y colaboradores (**2005**) observaron que la

concentración de β -caroteno es ligeramente más alta cuando se aplica un campo de 30 kV/cm, y cuando el campo fue de 25, 35 o 40 kV/cm no se observaron diferencias significativas en la cantidad de β -caroteno a tiempos mayores tiempos de tratamiento.

Bendicho, (2002) compararon el efecto de campos eléctricos pulsados de alta intensidad (HIPEF por sus siglas en inglés) y un tratamiento térmico convencional en tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, colecalfiferol y tocoferol de leche. Las muestras se trataron con frecuencias de arriba de 400 μ s con 18.3 a 27.1 kV/cm y con tratamientos térmicos mayores a 60 minutos a temperaturas de 50 a 90° C. No hubo diferencias significativas entre los resultados después de aplicar tratamientos a temperatura ambiente o moderada y no se observaron cambios en el contenido de vitaminas después de los tratamientos con HIPEF o térmicos, a excepción del ácido ascórbico. La leche retuvo el 93.4% de ácido ascórbico después del tratamiento de 400 μ s a 22.7 kV/cm, la retención de esta vitamina resultó ser menor en los tratamientos de pasteurización con calor.

2.3.3 Equipo generador de campos eléctricos utilizado para éste estudio

Para el presente trabajo se utilizó un equipo generador de campos eléctricos (CE) diseñado en el CIBA-IPN unidad Tlaxcala, en la **Figura 10** se muestra un diagrama con los elementos principales que lo componen.

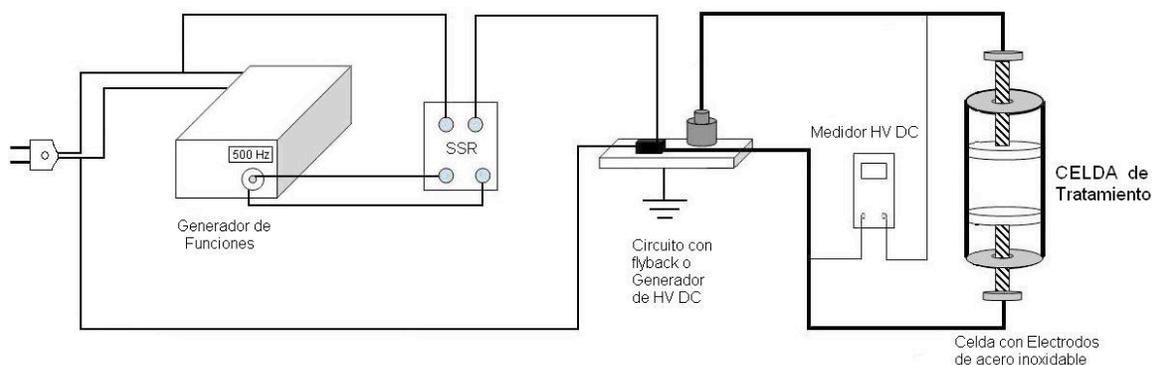


Figura 10. Diagrama del equipo generador de CE utilizado.

El equipo consta principalmente de una fuente de alto voltaje; un generador de funciones que permite variar la frecuencia en el rango de 5 Hz a 5.7 MHz; y una cámara de tratamiento formada por dos placas de acero inoxidable (electrodos) que se encuentran dentro de un tubo de acrílico, en este espacio se coloca el alimento a tratar, el cual a su vez se coloca dentro una caja de vidrio por lo que no hay contacto directo entre los electrodos y el alimento. Los campos eléctricos se generan al hacer pasar voltaje de la fuente generadora a los electrodos, el paso de voltaje se controla a través de un switch, que en este caso es un relevador de estado sólido, (SSR). La diferencia entre los sistemas generadores de campos electromagnéticos pulsados y el sistema utilizado en este estudio, radica precisamente en que no existe contacto directo entre los electrodos y el alimento, por lo que no hay paso de corriente a través del mismo, lo cual provoca que se genere un campo de fuerzas. Además por medio de este mecanismo no hay incremento de temperatura a diferencia de la tecnología de los CEP donde se registran aumentos de temperatura como resultado de la disipación de la energía eléctrica. Este sistema es por lotes.

En un trabajo previo del grupo de investigación, el máximo porcentaje de inactivación de la enzima polifenoloxidasa de aguacate que fue del 44% se obtuvo cuando las condiciones de tratamiento utilizadas estuvieron entre los 25 y 730 Hz con 15 minutos de tratamiento (**Castorena, 2007**). El trabajo mencionado dio a conocer las condiciones óptimas para inactivación de la PFO de aguacate, por lo que para este trabajo, se establecieron los parámetros de 720 Hz de frecuencia, 9 kV/cm de voltaje y tiempos de tratamiento máximos de 15 a 20 minutos, con el fin de estudiar el efecto bajo estas condiciones sobre las principales vitaminas del aguacate.

III. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

3.1 Justificación

Se ha comprobado que al tratar pasta de aguacate con el campo eléctrico (CE), se logra la inactivación de la polifenoloxidasas (**Castorena, 2007**) y la bondad de esta técnica radica en que la aplicación es de tiempo corto y el incremento de temperatura es mínimo. Sin embargo, debido a que el tratamiento con campo eléctrico es una técnica de conservación reciente, se desconoce si tiene algún efecto negativo sobre los nutrientes del aguacate.

Las vitaminas son sensibles a factores como el oxígeno, luz, temperaturas, iones metálicos, etc., por lo cual es posible que el tratamiento con CE dado al aguacate con fines de disminución del oscurecimiento enzimático pueda ocasionar una mayor degradación de vitaminas del mismo. Debido a lo anterior, en este trabajo se pretende conocer si el tratamiento con CE dado a la pulpa de aguacate tiene algún efecto negativo sobre las vitaminas A, C y E de la misma.

3.2 Objetivos

3.2.1 Objetivo General

Determinar los *posibles* efectos del campo eléctrico, CE, sobre las vitaminas C, E y A en pasta de aguacate.

3.2.2 *Objetivos específicos*

1. Evaluar el efecto de factores estresantes de vitaminas como temperaturas altas.
2. Evaluar el efecto del campo eléctrico sobre estándar de β -caroteno por medio de espectroscopia UV/visible y HPLC, así como el efecto del CE sobre esta vitamina dentro de la matriz del aguacate por HPLC.
3. Evaluar el efecto del campo eléctrico sobre estándar de ácido ascórbico como tal y dentro de la matriz del aguacate por medio de HPLC.
4. Evaluar el efecto del campo eléctrico sobre estándar de α -tocoferol por medio de HPLC e IR, así como el efecto dentro de la matriz del aguacate, por medio de HPLC.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Reactivos

Los estándares utilizados como patrones de referencia fueron **β -caroteno** (Pro vitamina A) de Fluka, ácido **L-ascórbico** (vitamina C) y **α -tocoferol** (vitamina E) de Sigma Aldrich. Se utilizaron disolventes grado HPLC, los cuales fueron hexano y alcohol isopropílico de Golden Bell, acetonitrilo, metanol de EMD Chemicals y acetato de etilo; además agua desmineralizada y desionizada, y ácido sulfúrico grado espectroscópico de Sigma.

Para los ensayos realizados con aguacate, la pasta se obtuvo de aguacate Hass adquirido en un centro comercial, una vez obtenida fue liofilizada en un equipo marca Virtiz con capacidad de 12 kg, y conservado en congelación a -70°C hasta su uso.

4.2 Equipos

Se utilizó el equipo generador de campos eléctricos diseñado en CIBA-IPN. Una Centrífuga 5804 R marca Eppendorf. Además de un HPLC HP 1100 equipado con desgasificador en línea, bomba cuaternaria, inyector automático y detectores de Arreglo de Diodos (DAD) y Fluorescencia (FLD). Un espectrofotómetro UV/visible marca Genesys 2. Espectrómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FT-IR) marca Bruker modelo Vertex 70, los análisis se realizaron por el método de Reflectancia Total Atenuada (ATR).

4.3 Métodos

En la siguiente figura se presenta un diagrama de la estrategia experimental que se siguió para el desarrollo del presente trabajo.

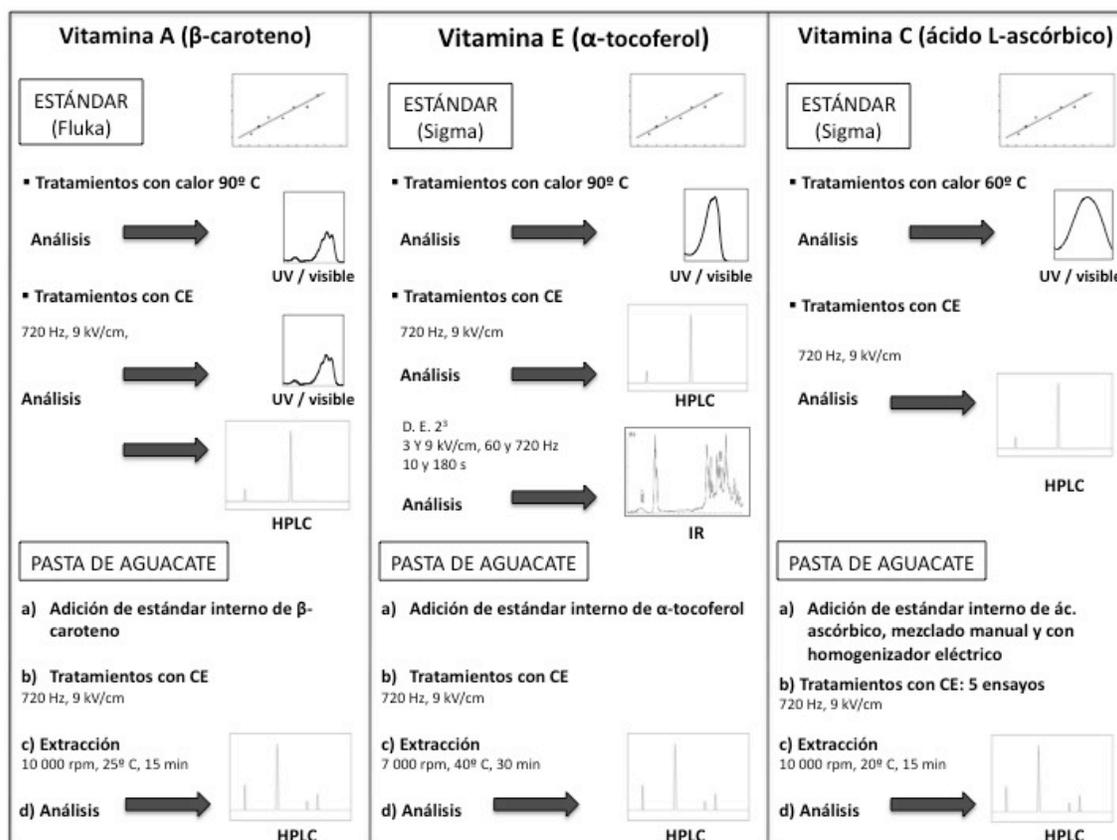


Figura 11. Diagrama de la estrategia experimental

4.3.1 Tratamientos a estándar de β -caroteno

4.3.1.1 Tratamientos a 90° C

En un principio, se buscaron métodos alternos de medición del efecto tanto del campo eléctrico como de otros factores estresantes sobre los estándares de β -caroteno, α -tocoferol y ácido L-ascórbico. Por lo que se dieron tratamientos con calor a los estándares con el fin de analizar los posibles cambios o alteraciones.

Para el análisis, primero se recurrió a la espectrofotometría ultravioleta y visible, espectroscopia infrarroja, y posteriormente a la cromatografía de líquidos de alta resolución, HPLC. Para estos ensayos, lo primero que se hizo fue *establecer las condiciones del método de HPLC* para las tres vitaminas.

Como primer *paso para todas las pruebas* con estándares de vitaminas, se eligió el disolvente más conveniente, ya que se requiere una completa disolución y que además no se propicie la producción de arcos durante los tratamientos con CE. El disolvente elegido para β -caroteno fue hexano. Posteriormente se realizaron pruebas para determinar la concentración de vitamina con la que se obtuviese un espectro cuya absorbancia estuviese en un rango adecuado de lecturas.

Se ha reportado que es posible detectar isómeros *cis* de los carotenoides por medio de espectrofotometría UV/visible, (**Rodríguez-Amaya y Kimura, 2004**). Por lo que se realizaron pruebas con el fin de generar los isómeros *cis* del beta-caroteno, *aplicando calor* y analizando las muestras en el espectrofotómetro, realizando un barrido de 200 a 11000 nm. Los ensayos se llevaron a cabo de la siguiente manera:

Se preparó una disolución inicial de 5 $\mu\text{g/ml}$ de β -caroteno en hexano, se tomaron muestras de 5 ml de la solución inicial y se colocaron en tubos de vidrio de 8 ml, a su vez se marcó el nivel de los tubos para reponer el disolvente evaporado durante la aplicación de calor, 12 tubos se colocaron en baño maría a **90° C**, cada 5 minutos un tubo con muestra se midió en el espectrofotómetro de UV hasta completar una hora de tratamiento, los espectros de absorción de las muestras se compararon con el espectro de una muestra sin tratar.

4.3.1.2 Tratamientos con CE y análisis en espectroscopia UV/visible

Se aplicaron 9 kV/cm de voltaje, 720 Hz de frecuencia y distancia entre electrodos de 2 cm, estos parámetros se mantuvieron constantes, solamente se varió el

tiempo de tratamiento. Las muestras se trataron durante 0.5, 1, 2, 5, 10, 15 y 20 minutos. Los tratamientos se realizaron por duplicado. Las absorbancias de las muestras tratadas se compararon con la de una muestra de vitamina que solamente se colocó en la celda de tratamiento sin aplicar CE.

4.3.1.3 Tratamientos con CE y análisis en RP-HPLC

Para la cuantificación de las vitaminas se construyeron curvas de calibración utilizando diferentes concentraciones de la vitamina y el área bajo la curva del pico producido en el equipo de HPLC. Las concentraciones se eligieron con base a la cantidad de vitamina presente en 100 g de aguacate. El procedimiento consistió en preparar una disolución madre de vitamina, a partir de la cual se realizaron las diluciones necesarias para la curva. Para el caso del β -caroteno se han reportado contenidos entre 40 y 80 μg de β -caroteno por 100 g de aguacate, (**Lu y col., 2005**), por lo que se preparó una disolución de 80 $\mu\text{g/ml}$ de β -caroteno en metanol-acetato de etilo 1:1, a partir de esta solución madre se realizaron diluciones para obtener concentraciones de 40, 50, 60, 70 y 80 $\mu\text{g/ml}$ de β -caroteno.

Ensayo 1.

a) Tratamientos con CE

Se preparó una disolución de β -caroteno de 80 $\mu\text{g/ml}$ en acetato de etilo-metanol 50:50, de la cual se tomaron muestras de 1.5 ml para los tratamientos con CE. Los tratamientos se realizaron con frecuencia (720 Hz) y voltaje (9 kV/cm) y distancia entre electrodos (1.5 cm) constantes, variando únicamente el tiempo de tratamiento. Los experimentos se realizaron por duplicado con tiempos de 10 y 20 minutos de tratamiento.

b) Análisis en HPLC

Se inyectó un volumen de 20 µl previamente filtrado con membrana de 0.45 µm a una columna Ultra C18 de 250 x 4.6 mm, 5 µm de Restek, a flujo de 1 ml/minuto. Se desarrolló una elución isocrática (sin gradiente de elución) con 55% acetonitrilo, 35% acetato de etilo y 10% metanol, la detección se realizó con un Detector de Arreglo de Diodos (DAD) a 445 nm.

Segundo ensayo

a) Tratamientos con CE

Se tomaron alícuotas de 1 ml las cuales se expusieron a los CE, con parámetros de voltaje, frecuencia y distancia entre electrodos idénticos a los del primer ensayo. En este caso, los tratamientos tuvieron una duración de 3, 5, 10 y 15 minutos; para evaluar los cambios que de manera natural pudieran ocurrir en la vitamina, se realizaron experimentos colocando muestras en la cámara de tratamiento sin aplicar campo eléctrico durante 5 y 15 minutos. Todos los ensayos se realizaron por duplicado y al azar.

b) Análisis en HPLC

Las mediciones en el HPLC se realizaron con 20 µl de muestra previamente filtrada con membrana de 0.45 µm. Se utilizó la misma columna del ensayo 1 con un flujo de 1 ml/min y elución isocrática. Esta vez la fase móvil estuvo compuesta de 70% acetonitrilo, 20% acetato de etilo y 10% metanol. El cambio de fase móvil se debió a que en el primer ensayo, los cromatogramas de las muestras tratadas mostraron el surgimiento de un hombro en el pico del β-caroteno, entonces en este segundo ensayo se hizo el intento de separar el hombro, por lo que se tuvo que cambiar los porcentajes de los disolventes. La detección se realizó con el DAD a 450 nm, en este caso también la longitud de onda es diferente a la del primer ensayo, debido a que se observó por espectrofotometría visible, que a 450 nm se obtuvo la absorción máxima del estándar de β-caroteno.

4.3.2 Tratamientos en pasta de aguacate con estándar interno de β -caroteno

La cantidad de β -caroteno que se encuentra en el aguacate es pequeña, se reporta de 48 a 81 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ de pulpa de aguacate Hass, (**Lu y col., 2005**). Para la extracción de carotenoides se deben llevar a cabo varios pasos, en los métodos de análisis por HPLC para estas sustancias, en general, la muestra se extrae con disolventes como acetona o tetrahidrofurano, dos o tres veces, los extractos se mezclan, se filtran y se evaporan a sequedad con vacío, por último el residuo se disuelve y se inyecta una alícuota previamente filtrada, a la columna cromatográfica. En otros métodos, los extractos se concentran y se saponifican a temperatura ambiente toda la noche con hidróxido de potasio, etanol y ácido ascórbico como antioxidante. El extracto saponificado se diluye con una solución de cloruro de sodio y enseguida se extraen los carotenoides con solventes como éter dietílico o éter de petróleo adicionado con BHT como antioxidante. Los extractos obtenidos se lavan con agua, posteriormente se evaporan a sequedad, y el residuo se disuelve con un disolvente apropiado para inyectar alícuotas previamente filtradas en la columna cromatográfica, (**Rodríguez-Amaya, 2001**). Además se deben tener ciertos cuidados durante el análisis de este tipo de compuestos, por ejemplo el empleo de nitrógeno durante la saponificación y la evaporación de los extractos, así como utilizar luz fluorescente dorada ($\lambda > 500\text{ nm}$) en el espacio donde se desarrolla el análisis, debido a la sensibilidad de los carotenoides a la luz, ya que esta provoca su deterioro, (**Ball, 1992**). Debido a lo anterior, el análisis de carotenoides, representa gran consumo de tiempo y cuidados especiales para evitar pérdidas durante el transcurso entre la primera extracción y el análisis.

Para evaluar el efecto del campo eléctrico sobre las vitaminas cuando estas se encuentran dentro del aguacate, se adicionaron los estándares de β -caroteno, α -tocoferol y ácido L-ascórbico, a las muestras antes de tratarlas con campo eléctrico (estándar interno), con el fin de observar el efecto que pueden tener los componentes de la pulpa de aguacate sobre las vitaminas mencionadas.

a) Preparación de las muestras

Se preparó un lote de muestra mezclando 40 g de aguacate liofilizado con 208 ml de agua para reconstituir la pulpa y 32 ml de una disolución de 120 µg/ml de estándar de β-caroteno. El estándar se adicionó diluido en acetato de etilo, debido a que es poco polar y no se incorpora de manera homogénea en la pulpa rehidratada a causa del agua. Para los tratamientos con CE se tomaron muestras de 17.5 g con un contenido de 240 µg de estándar.

b) Tratamientos con CE

Los parámetros de tratamiento fueron 720 Hz, 9 kV y separación entre electrodos de 1.5 cm, los cuales se mantuvieron constantes. Se utilizaron tiempos de tratamiento de 3, 5, 10 y 15 minutos. Los tratamientos se hicieron por duplicado, además se colocó una muestra durante 10 minutos en la celda de tratamiento sin aplicar CE.

c) Separación por centrifugación

Las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm a 25°C durante 15 minutos, para separar la parte hidrofóbica (fracción de menor densidad), que es donde se encuentra la vitamina disuelta en acetato de etilo. Ya separada la fracción de interés, se toman 0.1 g y se diluyen a 1ml con una mezcla de MeOH-AcEt 1:1 para el análisis cromatográfico se utilizó un volumen de 20 µl previamente filtrado con membrana de 0.45 µm.

d) Análisis en HPLC

Las muestras se eluyeron de manera isocrática, con 60% acetonitrilo, 30% acetato de etilo y 10% de metanol con un flujo de 1 ml/min en una columna Ultra C18 de 250X4.6 mm, 5 µm de Restek, la detección se realizó con el DAD a 450 nm.

4.3.3 Tratamientos a estándar de Ácido L-ascórbico

4.3.3.1 Tratamientos con CE y análisis en HPLC

a) Curva de calibración

De acuerdo a la literatura se sabe que en 100 g de aguacate se encuentran 14 mg de vitamina C, (Ortega, 2003). La curva de calibración se obtuvo a partir de una disolución concentrada de 150 µg/ml, a partir de la cual se hicieron diluciones para tener concentraciones de 30, 60, 90, 120 y 150 µg/ml.

b) Tratamientos con CE

Se trataron muestras de 1 ml de ácido ascórbico de 150 µg/ml diluidas en ácido metafosfórico al 4%. Los tratamientos con CE fueron de 720 Hz, 9 kV y separación entre electrodos de 1.5 cm, los tiempos de tratamiento fueron de 3, 5, 10, 15 y 20 minutos, también se colocaron muestras en la cámara de tratamiento sin aplicar CE durante 10 minutos. Los ensayos se realizaron por duplicado y al azar.

c) Análisis en HPLC

Se analizaron con una columna Ultra Aquos C18 de 250x4.6 mm, 5 µm de Restek alícuotas de 10 µl previamente filtradas con membrana de 0.45 µm, de cada muestra tratada y de las diluciones para la curva de calibración, se eluyeron de manera isocrática, con 0.05% de ácido sulfúrico acuoso a una velocidad de flujo de 0.8 ml/min. La detección se realizó con DAD a 245 nm.

4.3.4. Tratamientos en pasta de aguacate con estándar interno de ácido L-ascórbico

Cuando se realizaron estas pruebas, se notó que la forma de mezclar los componentes de las muestras (pulpa liofilizada, agua y vitamina) repercutía en la

repetividad de los resultados, por lo que se llevaron a cabo varios ensayos donde se probaron diferentes formas de mezclado.

a) Preparación de las muestras

Ensayo 1. Se prepararon doce muestras con 2.5 g de pulpa liofilizada, 12 ml de agua y estándar diluido en ácido metafosfórico al 4%, cada una se mezcló con un agitador de vidrio. La concentración final de vitamina fue de 0.025%.

Ensayo 2. Se preparó una muestra de 175 g de peso final, con la misma proporción de los componentes del ensayo 1, se mezcló con un homogenizador eléctrico. Para la aplicación de CE se pesaron 15 g de esta mezcla.

Ensayo 3. Se prepararon dos lotes de 87.5 g cada uno con las mismas proporciones de los componentes del ensayo 1, la cuya única diferencia fue que uno se mezcló con un agitador de vidrio y el segundo con un homogenizador eléctrico.

Ensayo 4. Se prepararon 2 lotes de 87.5 g igual que en el ensayo 3, solo que en este caso la concentración de vitamina fue de 0.043%, uno se mezcló con un agitador de vidrio y el segundo con un homogenizador eléctrico.

Ensayo 5. Se preparó un lote igual que el ensayo 4, se mezcló con un agitador de vidrio.

b) Tratamientos con CE

Las condiciones de tratamiento fueron las mismas que cuando se trató el estándar solo, el voltaje, la frecuencia y la distancia entre electrodos se mantuvieron constantes, solamente se varió el tiempo de tratamiento. Los tiempos que se utilizaron en los ensayos 1 y 2 fueron de 3, 5, 10, 15 y 20 minutos. En el ensayo 3 se dieron tratamientos de 5, 15 y 20 minutos; y para el ensayo 4 se dieron tratamientos de 3, 10 y 20 minutos, además en este ensayo se mantuvo una

muestra durante 15 minutos dentro de la celda de tratamiento sin aplicar voltaje. Cabe mencionar que no se realizó duplicado en los tratamientos de ninguno de los ensayos, debido a que se trató de ver en primera instancia si los resultados se replicaban entre los ensayos.

c) Extracción de ácido ascórbico

Las muestras se centrifugaron a 20° C a 10 000 rpm durante 15 minutos, se tomaron 10 µl del sobrenadante para el análisis en HPLC

d) Condiciones cromatográficas

El sobrenadante se filtró con membrana de 0.45 µm. Para el análisis cromatográfico se utilizó una columna Ultra Aquos C18 de 250x4.6 mm, 5 µm de Restek, eluyendo de manera isocrática con 0.05% de ácido sulfúrico acuoso a una velocidad de flujo de 0.8 ml/min. La detección se llevó a cabo con el DAD a 245 nm.

4.3.5 Tratamientos a estándar de α -Tocoferol

4.3.5.3 Tratamientos con CE y análisis por espectroscopia de IR

Para este ensayo, se tomaron muestras de una disolución de 10 mg/ml de α -tocoferol en hexano. Se probó un diseño experimental factorial 2^3 completamente al azar variando voltaje, frecuencia y tiempo de tratamiento. Las pruebas se realizaron por duplicado y se analizaron en un espectrómetro de infrarrojo colocando 40 µl de cada muestra en el cristal del equipo durante 2 minutos, después de lo cual se midió el espectro de IR. En la **Tabla 8** se ilustra el diseño experimental utilizado.

Tabla 8. Diseño experimental para tratamientos de α -tocoferol con CE.

Experimento	v (kV)	f (Hz)	t (s)
	A	B	C
3	3	60	10
5	3	60	180
1	3	720	10
7	3	720	180
6	9	60	10
2	9	60	180
8	9	720	10
4	9	720	180

4.3.5.4. Tratamientos con CE y análisis por HPLC

a) Curva de calibración

De acuerdo a la literatura se sabe que en 100 g de aguacate se encuentran de 2.5 a 3 mg de α -tocoferol, (Lu y col., 2005). La curva de calibración se obtuvo a partir de una disolución concentrada de 3 mg/ml, a partir de la cual se hicieron diluciones para tener concentraciones de 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 y 3 mg/ml en hexano.

b) Tratamientos con CE

Se trataron muestras de 1 ml con una concentración de 3 mg/ml de α -tocoferol en hexano. Se aplicaron tratamientos con 720 Hz, 9 kV/cm y 1.5 cm de separación entre electrodos, estos parámetros se mantuvieron constantes. Los tratamientos tuvieron duración de 3, 5, 10 y 15 minutos, se colocó una muestra testigo en la celda de tratamiento sin aplicar campo eléctrico durante 5 minutos. Los experimentos se realizaron por duplicado y al azar.

c) Análisis en HPLC

Se tomaron 20 μ l de muestra previamente filtrada con membrana de 0.45 μ m para este análisis, se utilizó a una columna Pinnacle II Si de 250x4.6 mm, 5 μ m de Restek, a flujo de 1 ml/minuto, con elución isocrática, la fase móvil estuvo

compuesta de 99.1% hexano y 0.9% isopropanol, la detección se realizó con un DAD a 298 nm y un detector de fluorescencia (FLD), Ex=290 nm, Em= 330 nm.

4.3.6 Tratamientos en pasta de aguacate con estándar interno de α -tocoferol

a) Preparación de las muestras

Las muestras se prepararon mezclando 2.5 g de aguacate liofilizado con 15 ml de agua destilada en cajas petri de vidrio, en las cuales previamente se agregaron 2 mg de estándar de α -tocoferol sin diluir, todo se mezcló con un agitador de vidrio dentro de la misma caja, la cual se colocó en la celda de tratamiento del equipo generador de CE.

b) Tratamientos con CE

Los tratamientos se llevaron a cabo con voltaje y frecuencia constantes, 9 kV/cm y 720 Hz, respectivamente, solamente se varió el tiempo de tratamiento, con 2, 5, 10, 15 y 20 minutos. Se colocó una muestra testigo en la celda de tratamiento sin aplicar campo eléctrico durante 10 minutos. Los experimentos se realizaron por duplicado y al azar.

c) Separación por centrifugación

Las muestras se centrifugaron a 7000 rpm a 40° C durante 30 minutos, para separar la parte hidrofóbica que es donde se encuentra disuelto el tocoferol. Los aceites separados se colocan en tubos eppendorf ámbar de 1.5 ml con la ayuda de una micropipeta.

d) Condiciones cromatográficas

Del aceite obtenido, 20 mg se diluyen a 1 ml con hexano grado HPLC, las muestras se mezclaron en un agitador vortex, se tomó una alícuota de 10 μ l de

cada muestra previamente filtrada con membrana de 0.45 μm , se inyectó a una columna Pinnacle II Sílica de 250x4.6 mm, 5 μm de Restek. Se llevó a cabo la elución isocrática con una fase móvil compuesta de 99% Hexano, 1% Alcohol isopropílico, a flujo de 0.8 ml/min, la detección se realizó con el detector de Fluorescencia Ex: 290, Em: 330 nm.

2.3.7 Análisis estadístico

Para determinar diferencias entre tratamientos y de esta manera establecer si el Campo Eléctrico ejerce algún efecto sobre las vitaminas, se recurrió al análisis de varianza (ANOVA).

Las curvas de calibración se obtuvieron a partir del análisis de regresión lineal de concentraciones obtenidas en el HPLC, de cada uno de los estándares de β -caroteno, ácido L-ascórbico y α -tocoferol en el programa Excel 2003 de Microsoft.

Asimismo, para el ajuste de la concentración residual de ácido ascórbico y β -caroteno en función del tiempo, se empleó un modelo exponencial el cual se calculó usando regresión lineal de los datos transformados.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 β -caroteno

5.1.1 Tratamientos con calor a 90° C

En la **Figura 12** se muestran los espectros de UV/visible obtenidos después dar tratamientos a estándar de β -caroteno a 90° C durante diferentes tiempos. Con fines comparativos, en la **Figura 13** se muestran los espectros reportados por **Rodríguez-Amaya y Kimura, 2004**.

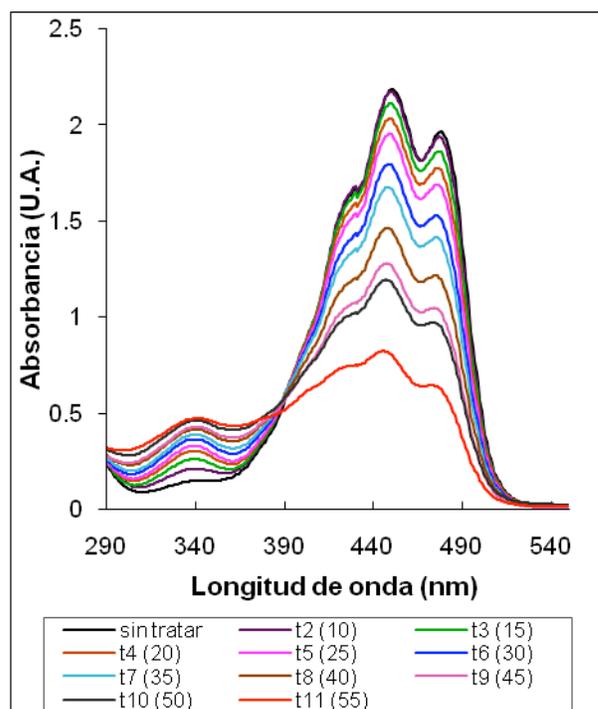


Figura 12. Espectros UV/visible de β -caroteno tratado con calor (90° C) a diferentes tiempos de exposición.

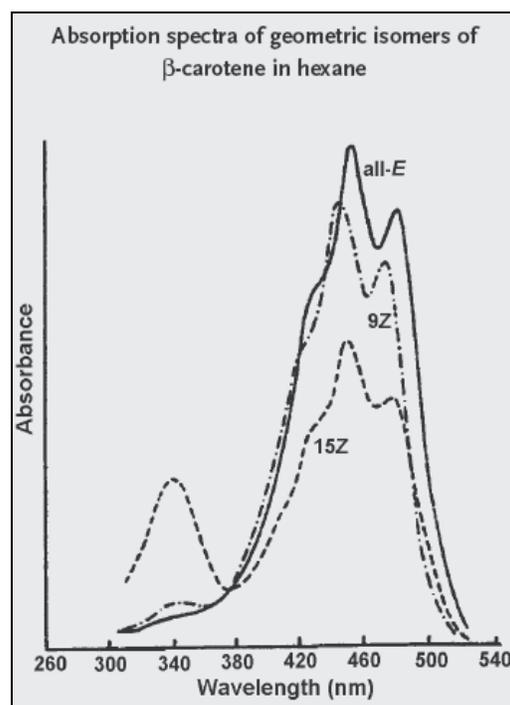


Figura 13. Espectros UV/visible de isómeros geométricos de β -caroteno en hexano
Fuente: Rodríguez-Amaya y Kimura, 2004.

En las figuras anteriores, se observa que existe una notable semejanza entre los espectros de ambas figuras. Los espectros de la **Figura 12** muestran una disminución de la absorbancia (picos de absorción característicos del β -caroteno

entre 380 a 500 nm), y al mismo tiempo, un incremento en la absorbancia en los 340 nm conforme se incrementa el tiempo de exposición de la vitamina a la temperatura de 90°C. Este comportamiento indica que conforme transcurre el tiempo, se generan isómeros *cis* del β -caroteno, en este caso el isómero 15-*cis* como lo reportó **Rodríguez-Amaya (Figura 13)**. Con estos resultados se muestra que con la espectroscopia UV/visible es posible evaluar el efecto nocivo debido a algún tratamiento *deteriorativo*.

5.1.2 Tratamientos con CE

En la **Figura 14** se presenta la comparación entre la intensidad máxima de absorbancia (450 nm) y la absorbancia a 340 nm de las muestras de β -caroteno, en función del tiempo de tratamiento con CE.

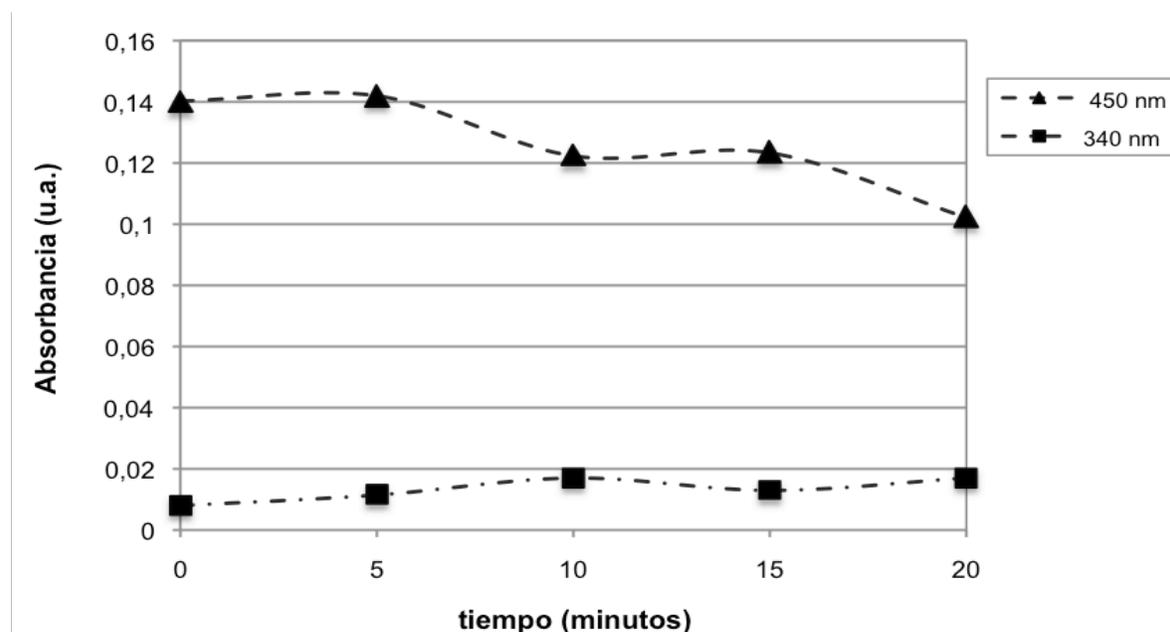


Figura 14. Dependencia de la absorbancia de β -caroteno después del tratamiento con CE a dos longitudes de onda.

En la **Figura 14** se observa decremento en la absorbancia a 450 nm de las muestras tratadas con relación a la muestra sin tratar, mientras que al mismo

tiempo, se observa un ligero incremento en la absorbancia a 340 nm. Este comportamiento es parecido al que ocurrió cuando se trató β -caroteno con la temperatura de 90° C (Figura 12), donde se obtuvo como resultado la generación de isómeros *cis*. Aunque se puede notar en el eje de las ordenadas, que la escala pequeña, es posible que el campo eléctrico afecte al β -caroteno, provocando su degradación a la forma *cis*.

5.1.3. Tratamientos de CE a estándar de β -caroteno

A continuación se presenta la curva de calibración resultante de β -caroteno.

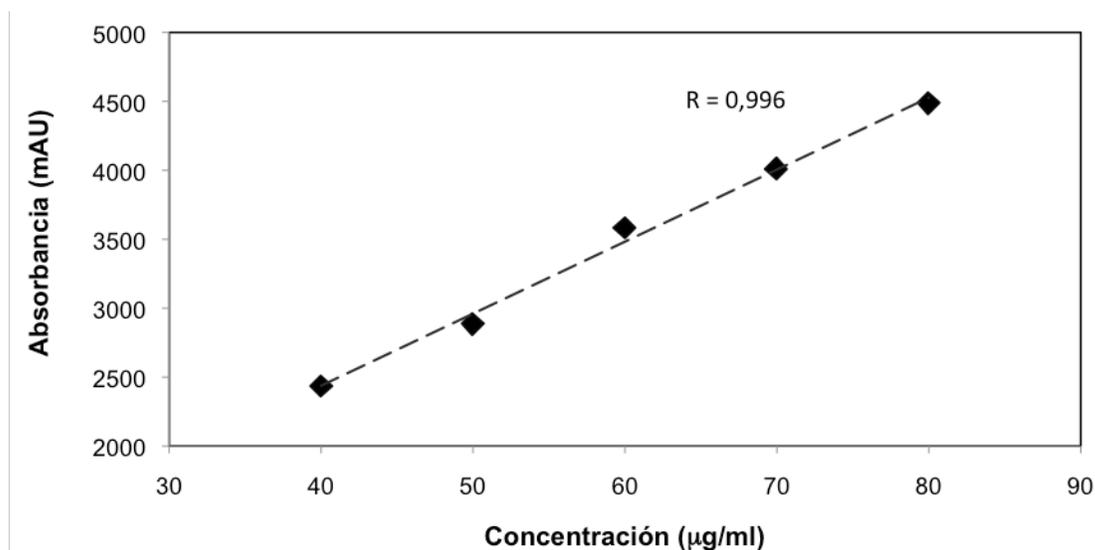


Figura 15. Curva de calibración del estándar de β -caroteno.

Como se observa en la figura anterior, los datos de β -caroteno se ajustaron a un modelo lineal, obteniendo un coeficiente de correlación de $R = 0.9968$, con la ecuación que resultó del ajuste, se llevó a cabo la cuantificación de β -caroteno de las muestras. Por otro lado, los cromatogramas resultantes de los tratamientos con CE se presentan a continuación.

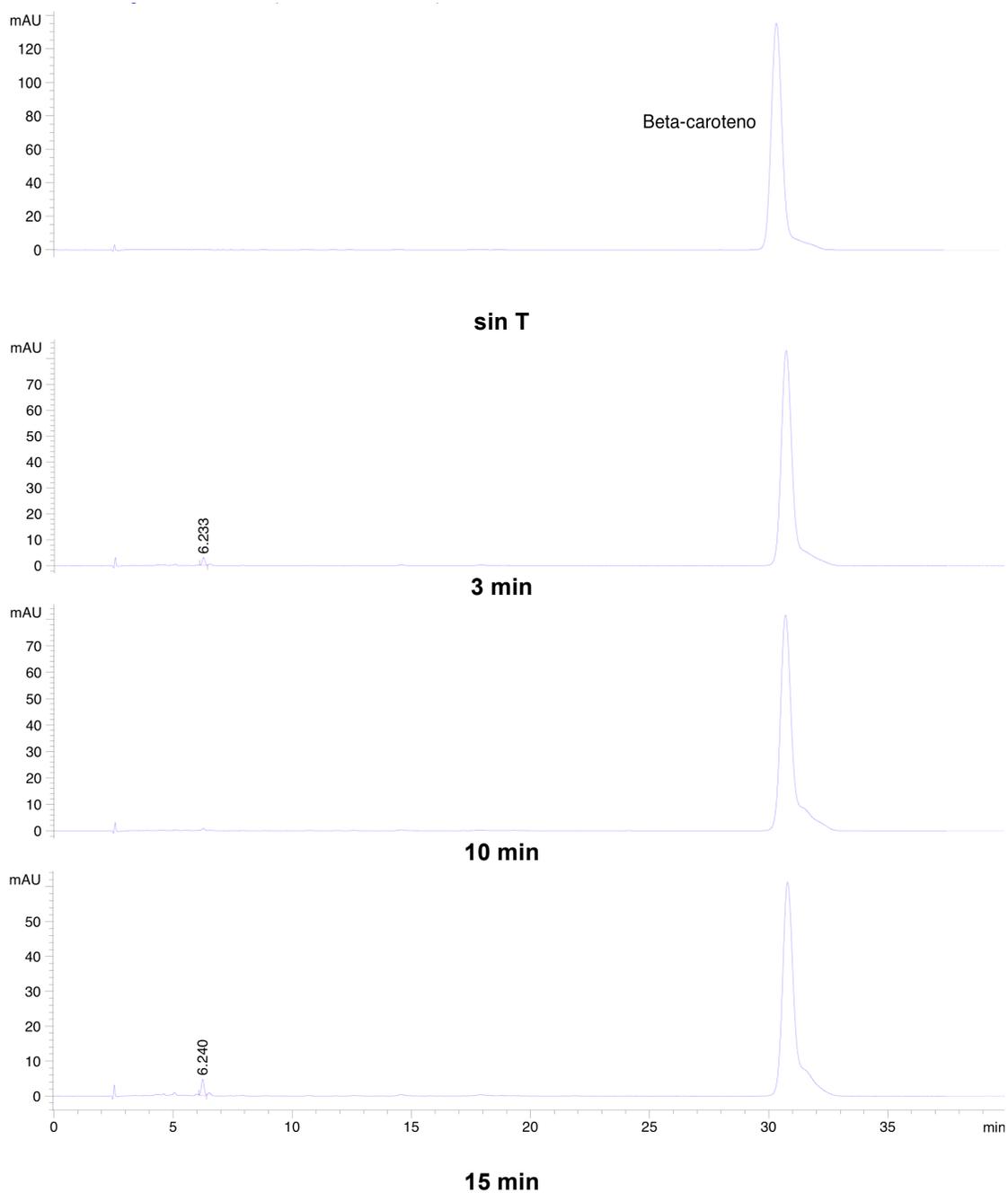


Figura 16. Cromatogramas de estándar de β -caroteno tratado con CE, ensayo 2 (450 nm).

En la figura anterior se observa disminución del tamaño del pico de β -caroteno a medida que aumenta el tiempo de tratamiento, así como el surgimiento de un nuevo pico al minuto 6.2, el cual no aparece en la muestra sin tratar. El análisis de esta vitamina se llevó a cabo en fase inversa, por lo que los picos con tiempo de

retención menor al de la vitamina corresponden a compuestos que tienen la característica de ser más polares que el β -caroteno, tales compuestos pueden ser isómeros o bien otros productos de degradación como fragmentos de la molécula, **(Fenema, 1985, Marty y Berset, 1990)**. También se observa la aparición de un hombro a partir de los 10 minutos de tratamiento. Se han reportado estudios para la identificación de isómeros geométricos de β -caroteno por fase reversa, en los cuales se demuestra que isómeros como el 13,15-di-*cis* o 9-*cis*- β -caroteno presentan tiempos de retención ligeramente mayores al β -caroteno, o bien el pico del compuesto *cis* está unido al pico *trans*, **(Rodríguez-Amaya y Kimura, 2004, Azevedo-Meleiro y col., 2004, Davey y col., 2006, Qiu y col., 2009)**. Por la posición del hombro que emerge junto al pico de β -caroteno en las muestras tratadas con CE, es posible que tal hombro se deba a la generación de isómeros *cis* de la vitamina, por ejemplo 9 *cis*- β -caroteno. También cabe recordar que cuando se realizó el análisis de muestras tratadas con CE por espectroscopía UV/visible, se registró algo similar a lo que sucede en este caso. Además, en la literatura se menciona la formación de isómeros *cis* de carotenos cuando se trató una mezcla de jugo de naranja y zanahoria con CEP de alta intensidad, donde se utilizaron tiempos de tratamiento entre 30 y 340 μ s, y fuerza de campo a 25, 30, 35 y 40 kV/cm, la temperatura fue menor a los 65° C. En este trabajo se observó que la degradación de β -caroteno, β -criptoxantina y α -caroteno incrementó con la intensidad del campo eléctrico, aunque las pérdidas fueron menores que cuando se aplicó un tratamiento térmico de 1 minuto a 95° C. Sin embargo, la formación de 13-*cis*-caroteno fue mas alta después de un tratamiento de 40 kV/cm que cuando el jugo fue pasteurizado, **(Martín-Belloso y col., 2005)**.

Para evaluar el efecto ejercido por el campo eléctrico sobre las muestras de estándares de vitaminas tratadas, se realizó la cuantificación de muestras antes y después de los tratamientos. La cantidad de vitamina detectada después de los tratamientos se denomina “vitamina residual”. En este caso, en el primer ensayo se observó que después de 10 minutos de tratamiento se obtuvo un 12.63 % de β -caroteno residual, mientras que para el tratamiento de 20 minutos se obtuvo el

9.84%, lo que sugiere que el CE afectó de manera severa a esta vitamina. Sin embargo, el efecto visto en el primer ensayo no fue ejercido solamente por el CE. En la siguiente figura se presentan los porcentajes de β -caroteno residual de muestras tratadas y muestras que se colocaron en la cámara de tratamiento sin aplicar campo eléctrico (testigos), obtenidos en el segundo ensayo.

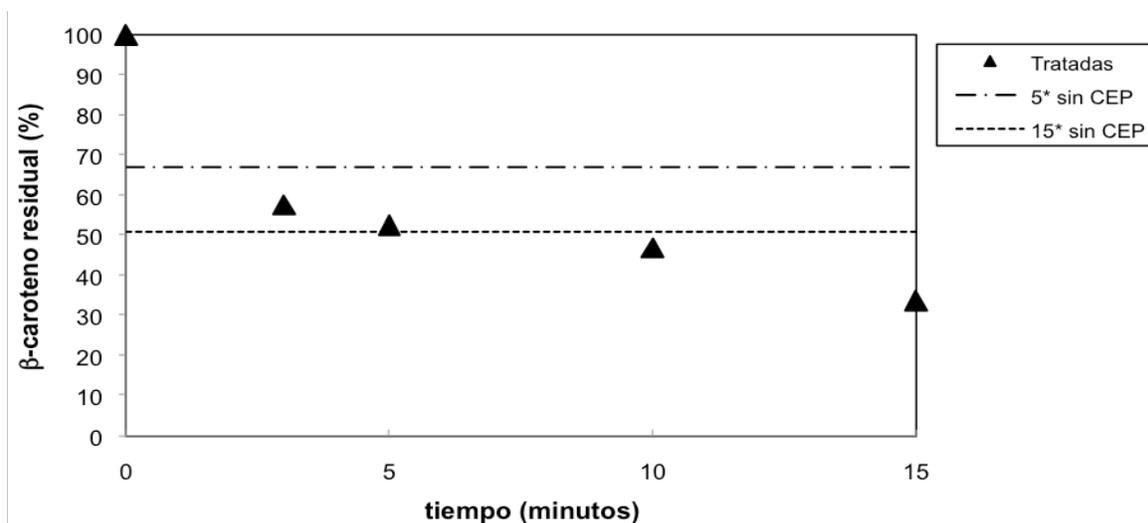


Figura 17. Porcentaje de β -caroteno residual de muestras tratadas con CE (ensayo 2)

En la **Figura 17** se observa que el hecho de haber colocado muestras en la cámara de tratamiento sin aplicar campo eléctrico durante 5 y 15 minutos, fue suficiente para provocar la pérdida de alrededor del 30% de la vitamina en el caso de 5 minutos y casi de 50% en lo que respecta a 15 minutos, lo que habla de la baja estabilidad del β -caroteno analizado en las condiciones ambientales presentes. Por otro lado, si bien hay reducción importante a partir de 3 minutos de tratamiento (57%), se puede decir que el 44% se debe al ambiente y sólo 13% se debe al efecto del campo eléctrico; esto sugiere que el efecto del CE fue menor al efecto ejercido por las condiciones ambientales a las cuales es sensible esta vitamina. Ahora bien, si se hace la comparación entre las muestras de 15 minutos, con y sin tratamiento, se observa una diferencia del 17.2% de vitamina residual, lo que indica que ésta reducción se debe propiamente al efecto del CE, ya que la parte restante es debida a la propia naturaleza lábil de la vitamina. Este segundo

ensayo fue muy importante, debido a que se pudo observar que la drástica reducción de vitamina observada en el primer ensayo se debió en gran parte a las condiciones ambientales presentes durante el ensayo y no solamente al efecto del CE.

Además, se encontró que si se lleva a cabo un ajuste exponencial de los porcentajes residuales de cada tratamiento, se obtiene que las muestras tratadas presentan una relación inversa con respecto al tiempo de tratamiento (**Figura 18**).

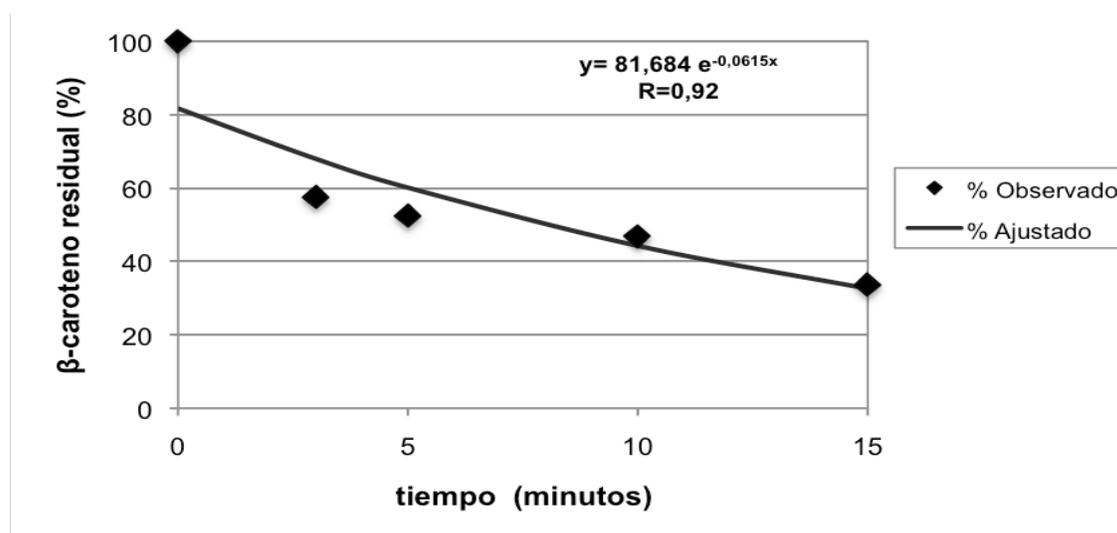


Figura 18. Comportamiento de las muestras de β -caroteno tratadas.

En la **Figura 18** se observa que los datos se ajustan a un modelo exponencial con un $R = 0.92$ y la velocidad de degradación de β -caroteno es de $0.061 \text{ minutos}^{-1}$. Los resultados del análisis de varianza mostraron que existe diferencia significativa entre las muestras control y los tiempos de tratamiento en este ensayo ($p < 0.05$), lo que hace evidente que el tratamiento con CE provoca la degradación de esta vitamina de manera significativa, en estas condiciones. Sin embargo, hay que recordar que el propio ambiente de trabajo durante los tratamientos ocasionó porcentajes de pérdida mayores, además, cabe mencionar que el tiempo de tratamiento de 15 minutos es excesivo, considerando los tiempos de tratamiento de los equipos comerciales. También es necesario mencionar que se está usando un compuesto puro, (estándar), anteriormente se indicó que los carotenoides son

más resistentes al deterioro cuando se encuentran dentro del alimento, debido al efecto protector que ejercen los polímeros, las proteínas, los hidratos de carbono, la vitamina E y otros antioxidantes que pueden estar presentes, (**Badui, 1999, Ball, 1992**).

5.1.4 Tratamientos de CE a pulpa de aguacate

En la siguiente figura se muestran los cromatogramas de muestras de aguacate liofilizado con estándar interno de β -caroteno sin tratar, y con 10 minutos de tratamiento con CE.

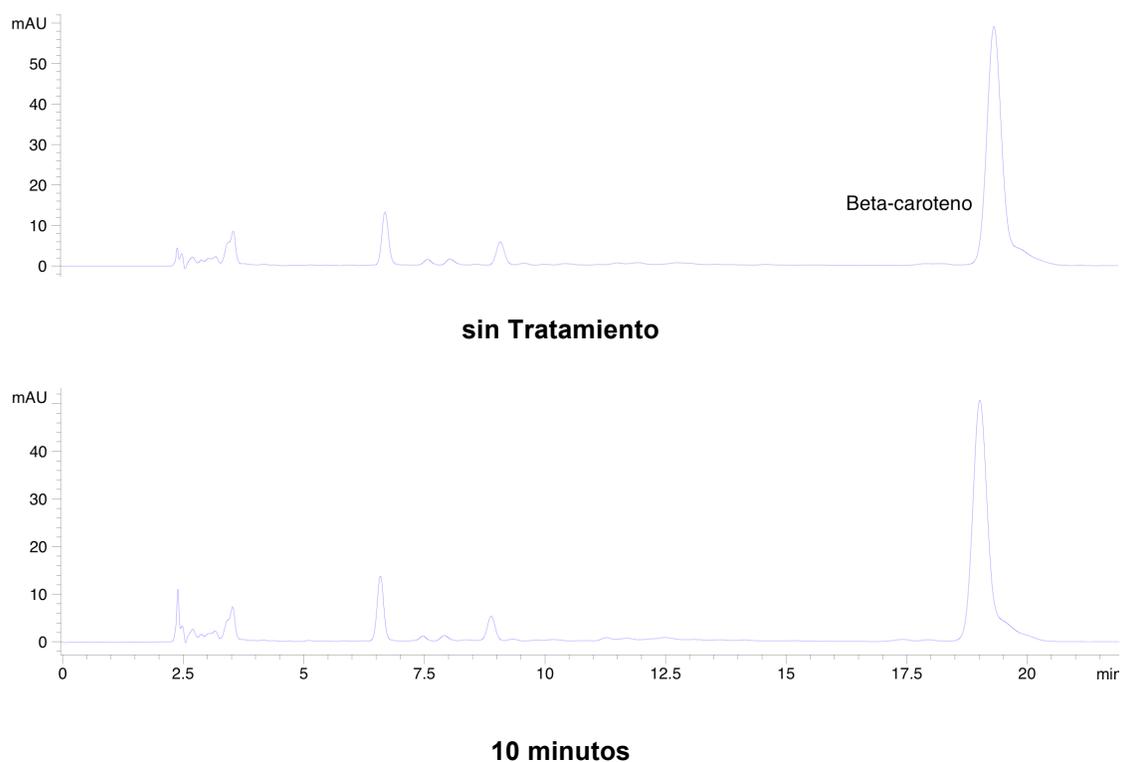


Figura 19. Cromatogramas de muestras de aguacate con adición de estándar interno de β -caroteno, tratadas con CE.

En la **Figura 19** se observa que no existen diferencias en los cromatogramas de muestras sin tratar y muestras tratadas, durante 10 minutos. En general, en todos

los tratamientos de este ensayo sólo se observaron ligeras variaciones de absorbancia entre las muestras tratadas y sin tratar. En la **Figura 20** se presentan las absorbancias a 450 nm de las muestras tratadas, sin tratar y la muestra colocada en la cámara de tratamiento sin aplicar voltaje durante 10 minutos (control).

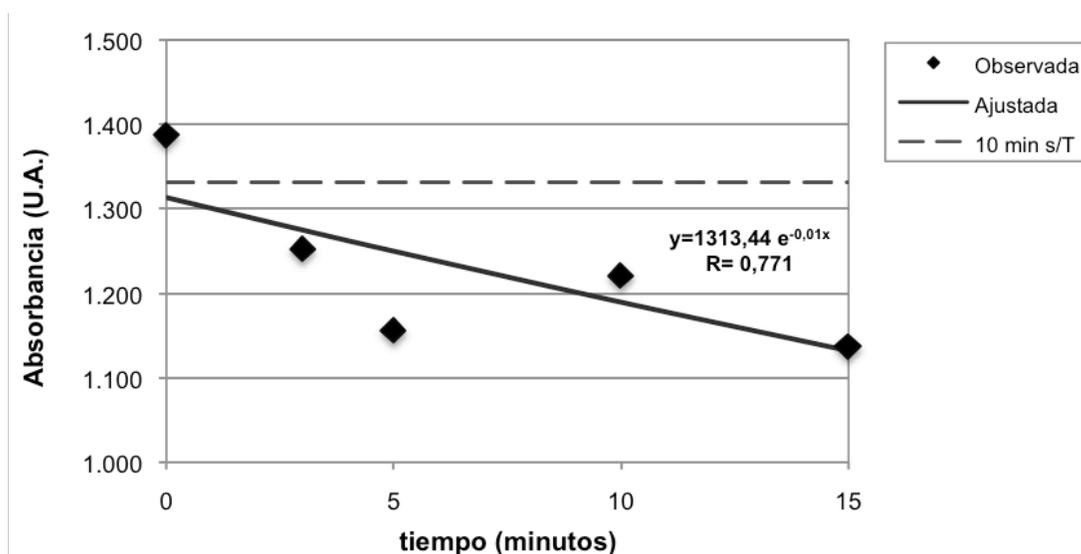


Figura 20. Dependencia de la absorbancia de β -caroteno residual en pasta de aguacate tratada con CE (450 nm).

La absorbancia de la muestra sin tratamiento que es de 1387 mUA (por sus siglas en inglés: mili unidades de absorbancia) y la del control que es de 1331.5, es casi la misma, por lo que se puede decir que el ambiente no influyó en la estabilidad de la vitamina. En cuanto a las muestras tratadas, se observa un comportamiento muy similar entre ellas, todas se encuentran en un rango de absorción entre 1250 y 1100 mili-unidades de absorbancia, con un ligero decremento inicial de 100 miliunidades, y se observa que su comportamiento se ajusta a un modelo exponencial, con un R de 0.771, donde la velocidad de degradación del β -caroteno es de $0.01 \text{ minutos}^{-1}$; en este caso la velocidad de degradación es menor que cuando se trató al estándar solo ($0.061 \text{ minutos}^{-1}$).

Cuando se trató el estándar sólo, la vitamina presentó baja estabilidad, con respecto al medio ambiente y se observó disminución del porcentaje de vitamina

residual a tiempos de tratamiento mayores, en el caso de la pulpa de aguacate se observan diferencias menores entre muestras tratadas y sin tratar. Además, según los resultados del análisis estadístico, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los tratamientos en pasta de aguacate, lo que sugiere que el campo eléctrico no provoca pérdida significativa del β -caroteno cuando este se encuentra en la pasta de aguacate.

Se han reportado algunos estudios sobre el efecto de Campos Electromagnéticos Pulsados (CEP) en la retención de *carotenoides* cuando se trata un alimento y en tales casos las disminuciones son pequeñas o bien el tratamiento mejora la extracción de estos compuestos, (**Torregrosa y col., 2005, Cortés y col., 2006**). Por otro lado, **Odrizola-Serrano** y colaboradores reportaron en el año **2009** un estudio sobre el contenido carotenoide de jugo de tomate procesado con CEP. Ellos observaron que con un tratamiento de 35 kV/cm por 1500 μ s, con duración de pulso de 4 μ s a 100 Hz, el contenido de β -caroteno aumentó de 0.29 mg/100 ml de jugo que fue el contenido de la muestra sin tratar, a 0.40 mg/ 100 ml de jugo obtenido con la muestra tratada. No obstante el contenido de caroteno disminuyó a medida que aumentó el tiempo de almacenamiento a 4° C, hasta quedar en 0.25 mg/100 ml de jugo durante 56 días de almacenamiento. Al mismo tiempo, el contenido de γ -caroteno disminuyó, una explicación que proponen los autores para este fenómeno, es que el γ -caroteno puede producir β -caroteno a partir de reacciones de ciclización.

Este y otros ejemplos se dan en una matriz alimentaria, por lo que se sugiere que, dado que la matriz del aguacate es muy compleja, esta “protege” de alguna manera al β -caroteno, evitando que se descomponga, razón por la cual puede deberse la diferencia entre los resultados de la vitamina sola y en pulpa de aguacate.

5.2. Ácido ascórbico

5.2.2. Tratamientos de CE a estándar de ácido L-ascórbico

En la **Figura 21** se presenta la curva de calibración del ácido ascórbico.

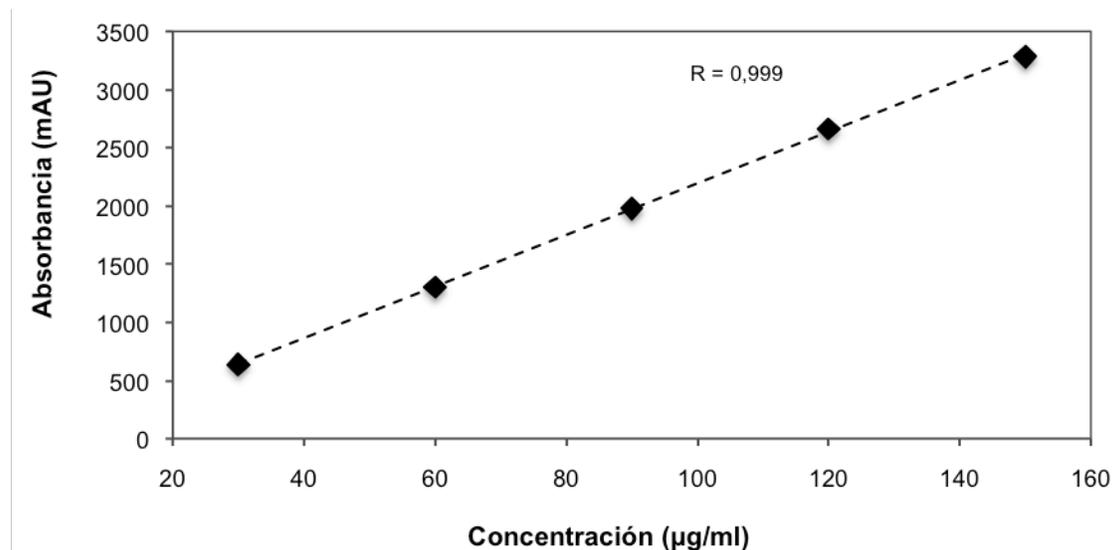
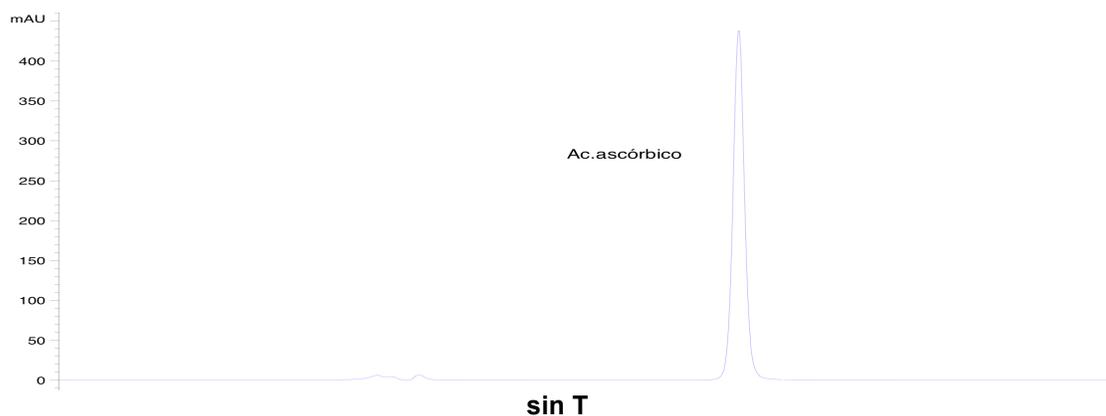


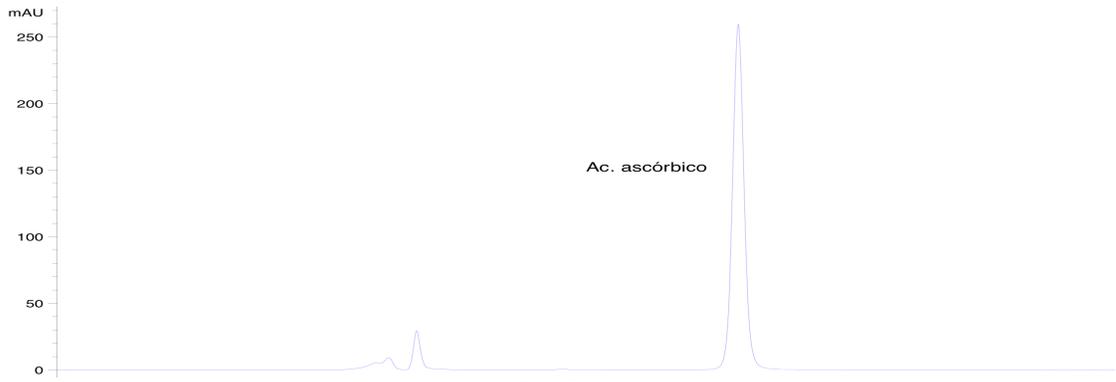
Figura 21. Curva de calibración del estándar de ácido L-ascórbico.

En la figura anterior se observa un buen ajuste lineal, con un coeficiente $R=0.9994$ por lo que con la ecuación resultante se llevó a cabo la cuantificación de las muestras. En la siguiente figura se presentan los cromatogramas obtenidos al analizar las muestras de ácido ascórbico tratadas con CE, donde se observa que el tiempo de retención del ácido ascórbico fue de 6.5 minutos.

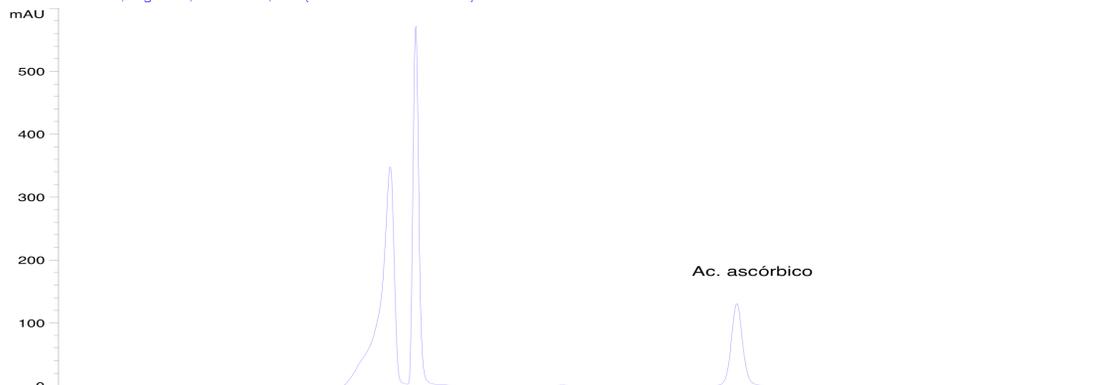




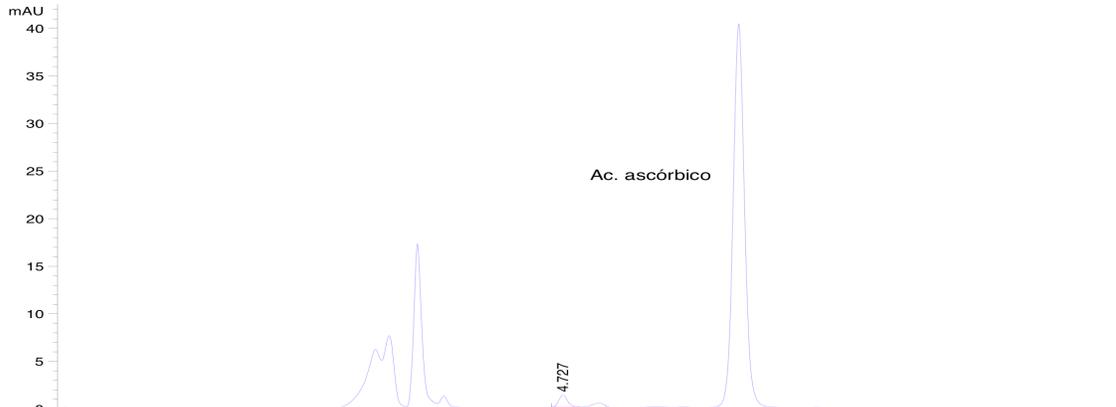
10 min sin T



3 min



10 min



15 min

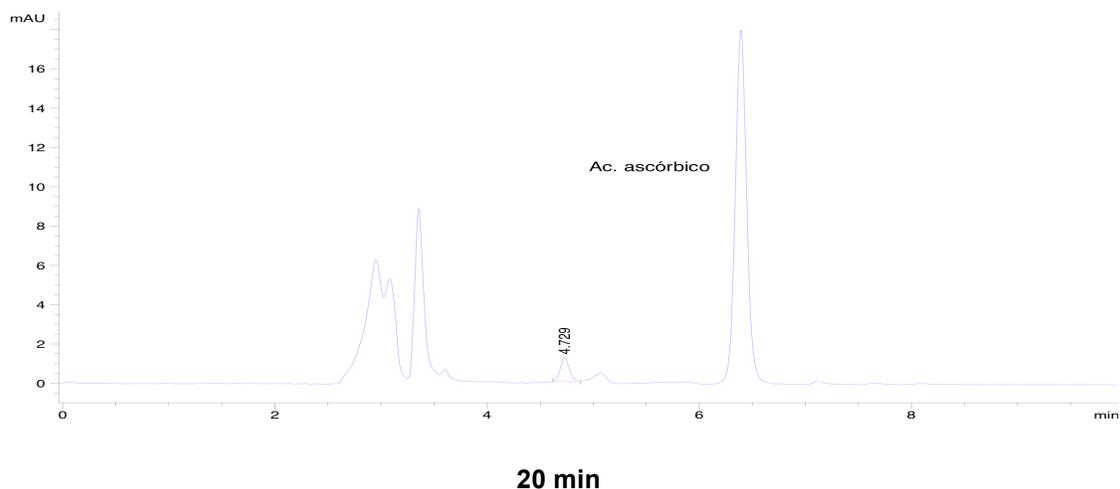


Figura 22. Cromatogramas de estándar de ácido L-ascórbico sin tratar y tratado con CE (245 nm).

En la **Figura 22**, se observa que el cromatograma de la muestra sin tratar y el de aquella que se colocó dentro de la cámara de tratamiento sin aplicar CE durante 10 minutos, son iguales. Sin embargo, las muestras tratadas presentan una disminución del área del pico de ácido ascórbico a medida que aumenta el tiempo de tratamiento, además de la detección de un nuevo pico que aparece a los 4.7 minutos en las muestras tratadas con tiempos más largos (15 y 20 min), asimismo, dicho pico incrementa con el tratamiento de 20 minutos. Esto quiere decir que el campo eléctrico provocó la degradación de una parte del ácido ascórbico, dando como resultado la generación de un pico cuyo tiempo de retención es de 4.7 minutos, el cual es más polar que la vitamina, en base al orden de elución. La magnitud del daño ejercido por el CE se presenta en la **Figura 23**, en la cual se indican los porcentajes de ácido ascórbico residual de las muestras tratadas y sin tratar.

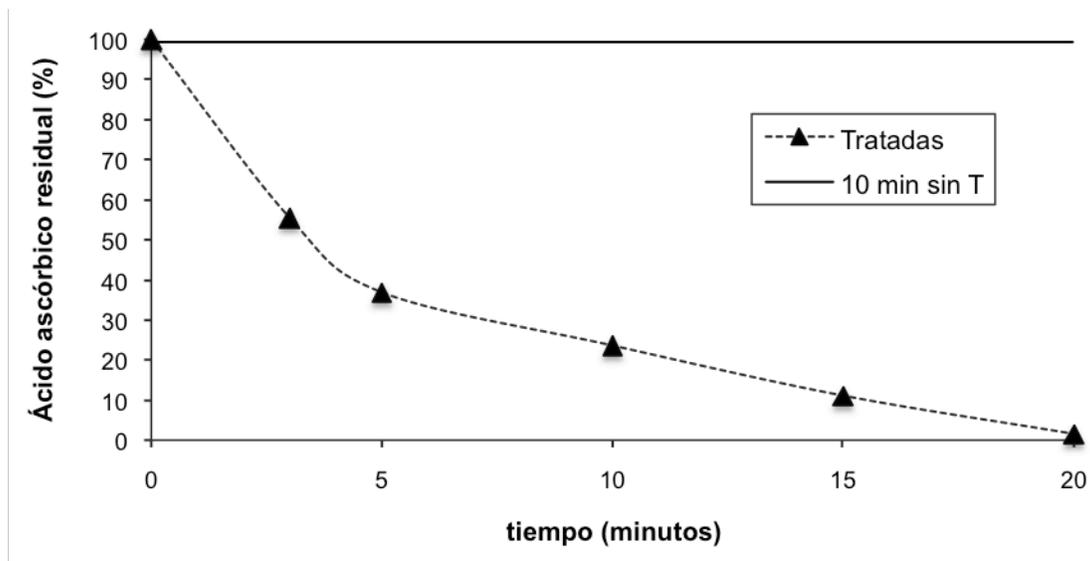


Figura 23. Porcentaje de ácido ascórbico residual de muestras tratadas con CE (245 nm).

En esta figura se observa que el control de 10 minutos sin aplicar CE mantiene la misma cantidad inicial de vitamina, lo que quiere decir que esta vitamina fue estable en las condiciones de trabajo. En cuanto a las muestras tratadas, se puede observar un comportamiento distinto, pues la cantidad de vitamina descende a medida que aumenta el tiempo de tratamiento. El campo eléctrico ocasiona la disminución de la cantidad inicial de vitamina a partir del tiempo de tratamiento más corto que fue de 3 minutos, el cual presenta el 55.5% de ácido ascórbico residual, mientras que después del tiempo más largo (20 minutos) solo se alcanzó a detectar el 1.5% de ácido ascórbico residual. El efecto del CE sobre esta vitamina es similar al ejercido sobre estándar de β -caroteno, sin embargo en este caso el efecto es más severo. El comportamiento de los datos obtenidos se asemeja a un modelo exponencial, en la **Figura 24** se muestran los datos ajustados.

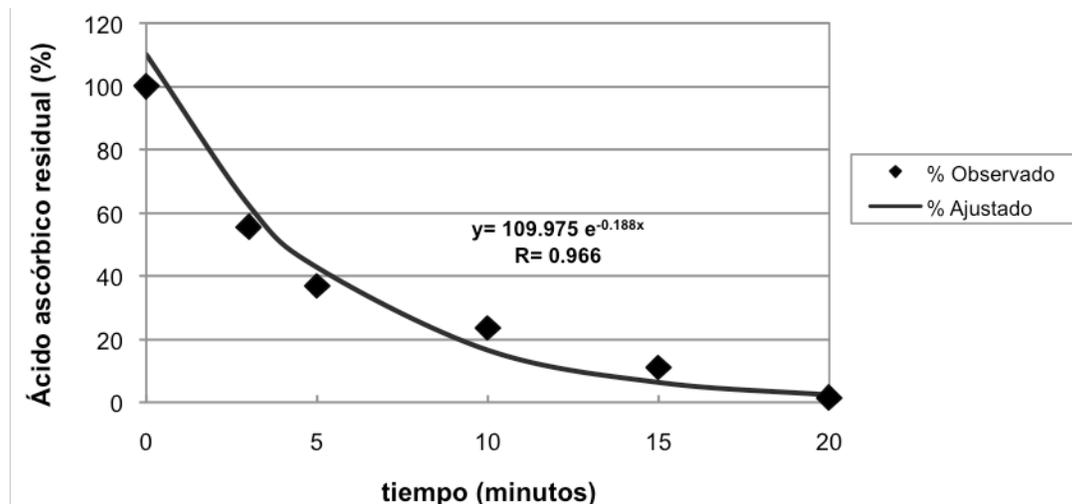


Figura 24. Ajuste del porcentaje de ácido ascórbico residual de muestras tratadas.

Los porcentajes residuales de ácido ascórbico de las muestras tratadas se ajustan a un modelo exponencial con un $R= 0.95$, donde la velocidad de degradación del ácido ascórbico por acción del campo eléctrico es igual a 0.21 min^{-1} .

5.2.3. Tratamientos a pulpa de aguacate

En la **Figura 25** se presenta la absorbancia de muestras tratadas y sin tratar de pasta de aguacate del primer ensayo.

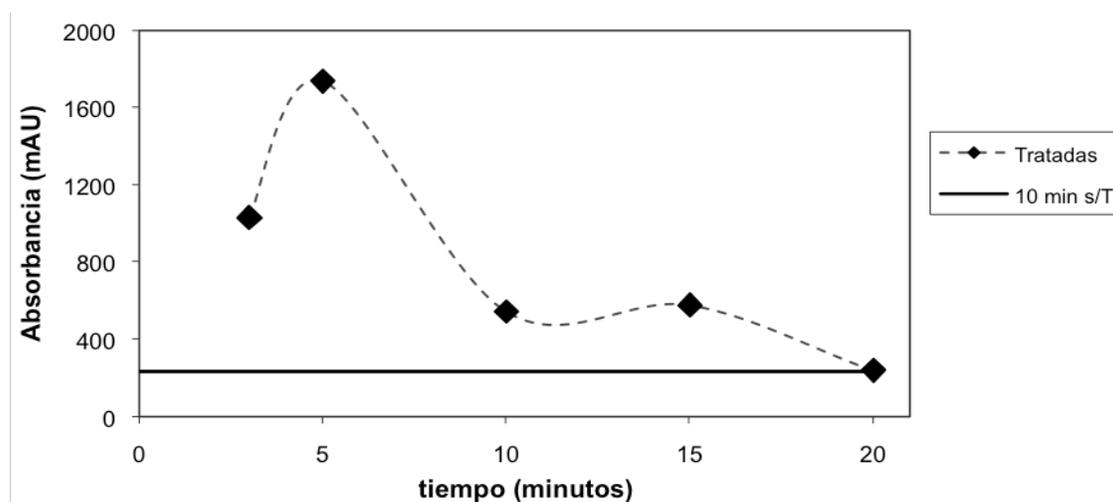


Figura 25. Dependencia de la absorbancia de ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 1) (245 nm).

En la figura anterior se observa una gran variación del área del pico de ácido ascórbico entre las muestras tratadas y también es raro ver que el control muestra un área menor, puesto que no se sometió a ningún tratamiento. Este comportamiento puede deberse a que no se distribuyó de manera homogénea la vitamina, por lo que se generaron gradientes de concentración, o bien esta quedó desprotegida y el campo eléctrico la afectó. Dado que no se realizaron duplicados de los dos primeros ensayos, se realizaron otras pruebas. En la **Figura 26** se observa un comportamiento similar al de las muestras del ensayo 1.

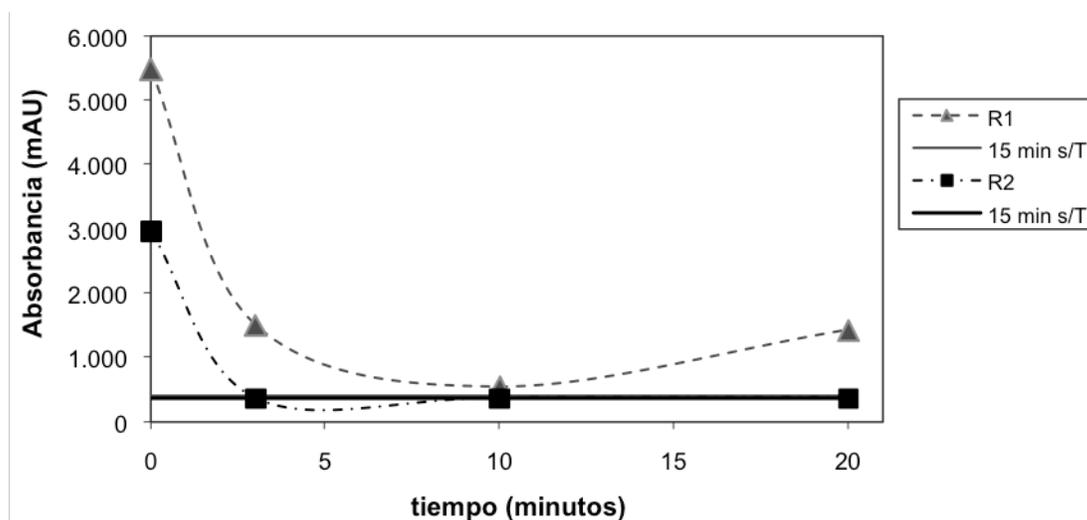


Figura 26. Dependencia de la absorbancia del ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 4 mezclado **manual**).

En esta gráfica la muestra sin tratamiento también tiene menor absorbancia que las tratadas y el blanco. Existe una escasa repetividad entre las réplicas de los tratamientos (R1 y R2), no obstante los blancos son idénticos. En base a estos resultados se pudo concluir que la mejor manera de incorporar los componentes de las muestras (pulpa liofilizada, agua y vitamina en solución) era utilizando un homogenizador eléctrico. En la **Figura 27** se presentan las lecturas del área bajo la curva de muestras mezcladas con el homogenizador eléctrico.

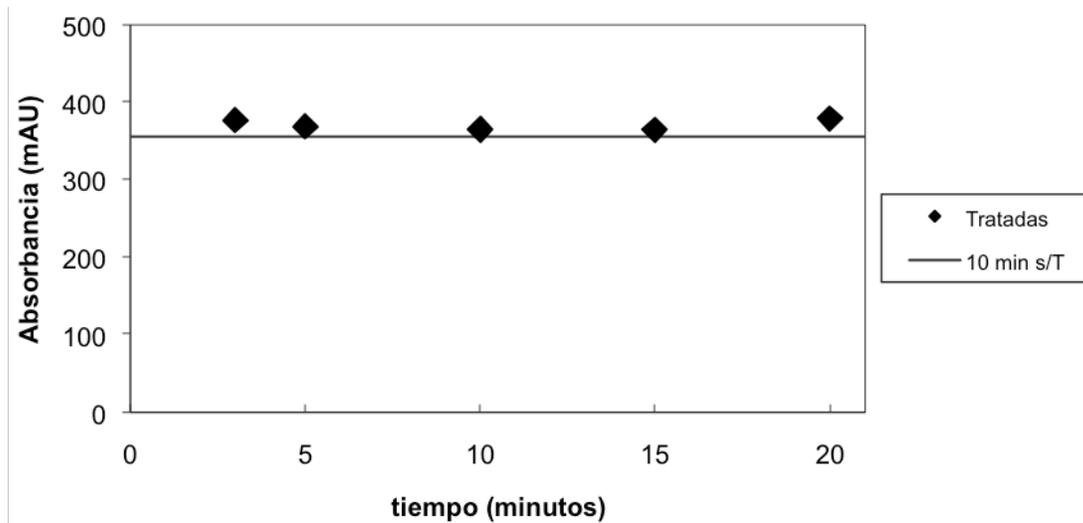


Figura 27. Dependencia de la absorbancia de ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 2) (245 nm).

En esta figura se observa un comportamiento diferente, pues las absorbancias de cada muestra se mantienen casi iguales, esto sugiere que el campo eléctrico no ejerce efecto alguno, y cabe recordar que la única diferencia entre el primer y segundo ensayo es la manera de preparar las muestras. En la **Figura 28** se muestran las absorciones resultantes del tercer ensayo

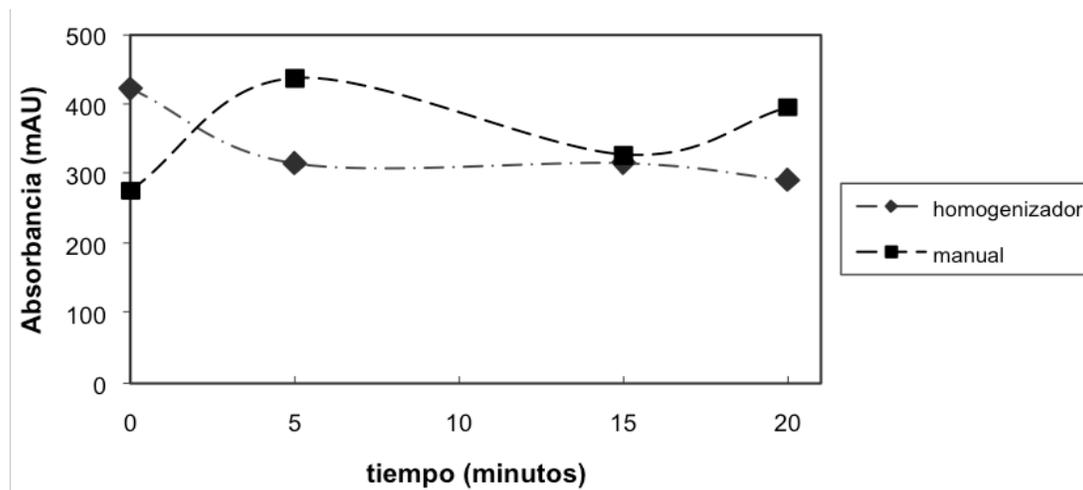


Figura 28. Dependencia de la absorbancia del ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (ensayo 3).

Cabe recordar que en este ensayo se prepararon dos lotes de muestra cuya única diferencia fue la manera de mezclar los componentes, mezclado manual y con homogenizador eléctrico. Aquí se observa que hay un comportamiento más consistente cuando las muestras se mezclan con el homogenizador, y que además es similar al de las muestras de estándar de ácido ascórbico en solución, donde la cantidad de vitamina disminuye a medida que aumenta el tiempo de tratamiento, no obstante, hay que resaltar que, en este caso, si bien se observan decrementos de vitamina en las muestras tratadas, estos no son tan drásticos comparados a aquellos de la vitamina en solución.

Los tratamientos del ensayo 2 no se realizaron por duplicado, por lo que se realizó el ensayo 4 en este si se llevaron a cabo duplicados de los tratamientos. En la siguiente figura se presentan los promedios de las absorbancias de los duplicados.

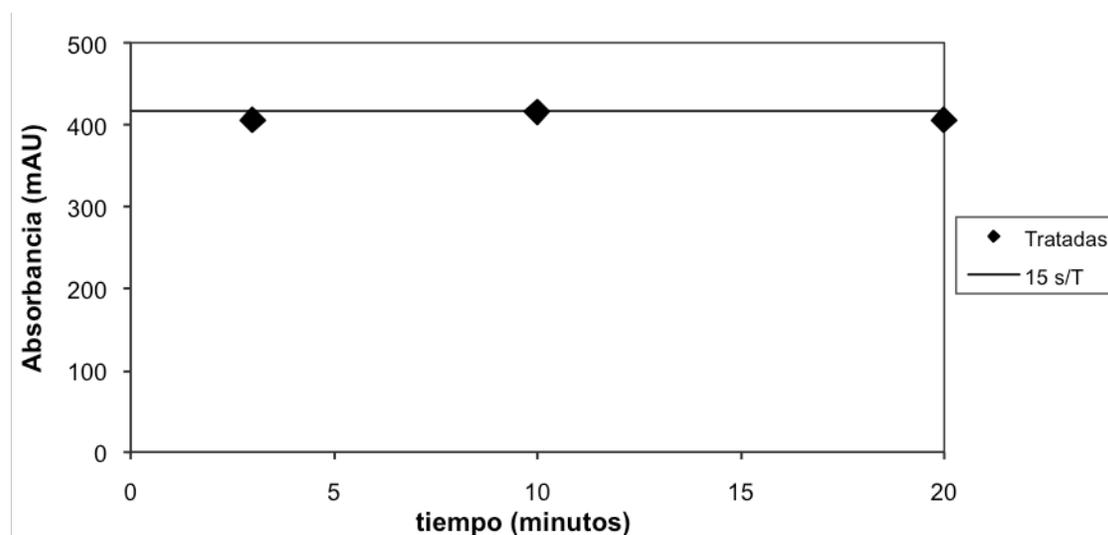


Figura 29. Dependencia de la absorbancia del ácido ascórbico residual en pasta de aguacate tratada con CE (245 nm).

Estos resultados muestran un comportamiento similar al de las muestras del ensayo 2, donde las absorbancias se mantenían constantes y casi iguales a la muestra sin tratar.

Con los datos obtenidos en los diferentes experimentos se observa que el tratamiento con campo eléctrico tiene poco o ningún efecto deteriorativo sobre la vitamina C cuando se encuentra dentro de la pulpa de aguacate, siendo el daño mayor sobre estándar de la vitamina disuelta en ácido metafosfórico, este comportamiento fue similar al observado cuando se trató β -caroteno.

Diferentes estudios mencionan ligeras pérdidas de ácido ascórbico en alimentos tratados con CEP. Por ejemplo, **Bendicho** y colaboradores (2002), mencionan que al tratar leche, esta retuvo el 93.4 % de ácido ascórbico después del tratamiento con CEP con duración de pulsos de 400 μ s y 22.6 kV/cm. Además, existen varios reportes en los que se mencionan niveles de retención de vitamina C en rangos del 97% al 75% en jugos de frutas tratados con CEP (**Elez-Martínez y Martín-Belloso, 2007, Odriozola-Serrano y col., 2008, Morales-de la Peña y col, 2010**). Sin embargo, **Oms-Oliu** y colaboradores (2009) reportaron pérdidas de vitamina C de jugo de sandía, mayores al 50% con tratamientos de 35 kV/cm, 2050 μ s y 250 Hz, lo que señala que la estabilidad de esta vitamina al CE depende de la naturaleza de la matriz alimentaria donde se encuentra. Por otro lado se ha demostrado que el medio en el que se encuentra una enzima tiene efecto en la magnitud de la inactivación de su actividad por CEP (**Martín-Belloso y Elez-Martínez, 2005**). Además, **Jaeger** y colaboradores reportaron en el año 2009 un estudio donde encuentran que componentes de la leche, tales como proteínas protegen a *Lb. Rhamnosus* ya que limitan su inactivación con CEP.

5.3 α -Tocoferol

5.4.2 Tratamientos con CE y análisis en IR

En la **Figura 30**, se presenta el espectro típico de absorción del estándar de α -tocoferol obtenido en el infrarrojo medio.

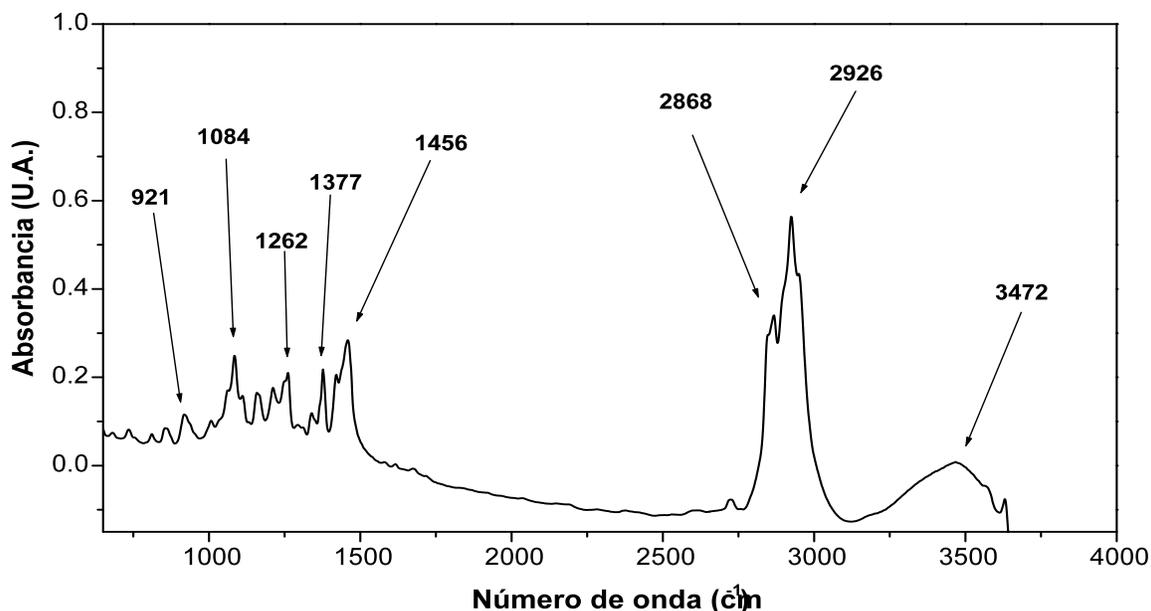


Figura 30. Espectro de absorción de infrarrojo de estándar de α -tocoferol.

En la figura anterior se presenta el espectro IR del α -tocoferol, **Che Man** y colaboradores (2005), mencionan que la banda de absorción que aparece a los 3472 cm^{-1} , representa los enlaces OH, a 2926 y 2868 cm^{-1} aparecen las vibraciones de estiramiento asimétrico y simétrico del CH_2 y CH_3 , a los 1377 cm^{-1} se encuentra la flexión asimétrica del grupo metil, la banda de los 1262 cm^{-1} representa el enlace $-\text{CH}_2$, a los 1084 cm^{-1} aparece la vibración de flexión del fenil y a los 921 cm^{-1} el estiramiento del CH_2 *trans*. El estiramiento se refiere a la frecuencia de vibración de los átomos enlazados a lo largo del eje de enlace, mientras que la deformación por flexión implica movimiento de los átomos fuera del eje de enlace, (**Pasto y Johnson, 1981**).

En la **Figura 31** se presentan los espectros de absorción de α -tocoferol sin tratar y los ocho tratamientos junto con sus repeticiones.

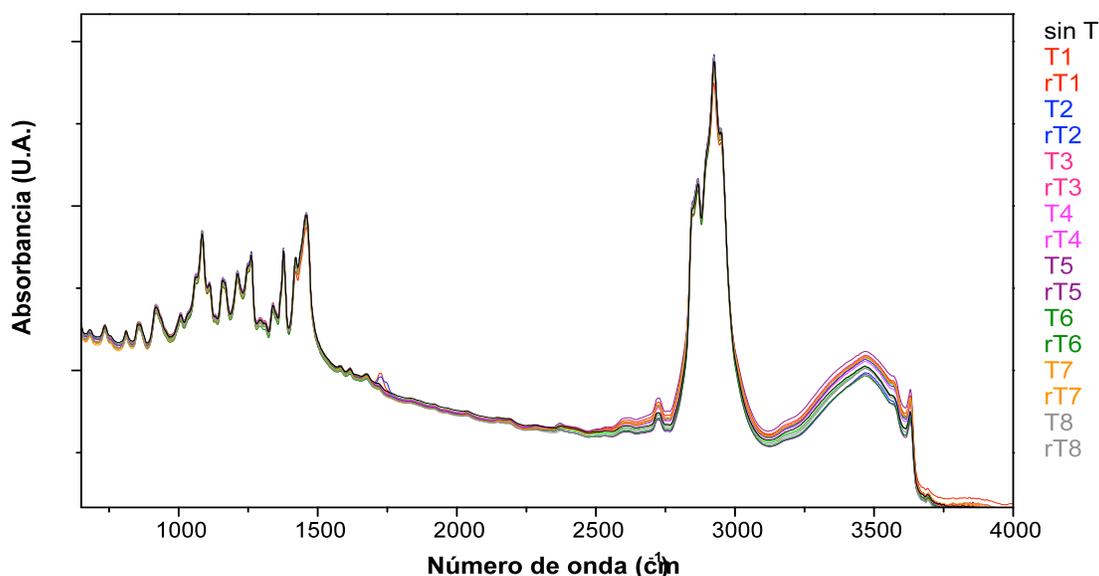


Figura 31. Espectros de infrarrojo medio de α -tocoferol sin tratar y tratado con CE

En este ensayo se puede observar, que tanto los espectros del estándar sin tratar como aquellos de los tratamientos son idénticos, salvo la aparición de un pequeño pico delante de los 1500 cm^{-1} en el tratamiento 7, el cual no aparece en la réplica, por lo que pudo deberse a algún error durante el experimento. Esto indica que el tratamiento con CE no provoca efecto sobre tocoferol, o bien si hay algún efecto, no puede ser detectado por medio de esta técnica.

5.3.3 Tratamientos de CE a estándar de α -tocoferol

En la **Figura 32** se observa la curva de calibración para las muestras de α -tocoferol, donde se obtuvo un R igual a 0.976, mientras que en la **Figura 33** se presenta el comportamiento del porcentaje de tocoferol residual (vitamina no dañada), de las muestras tratadas con CE, con respecto a una muestra de estándar colocada en la celda de tratamiento sin tratar.

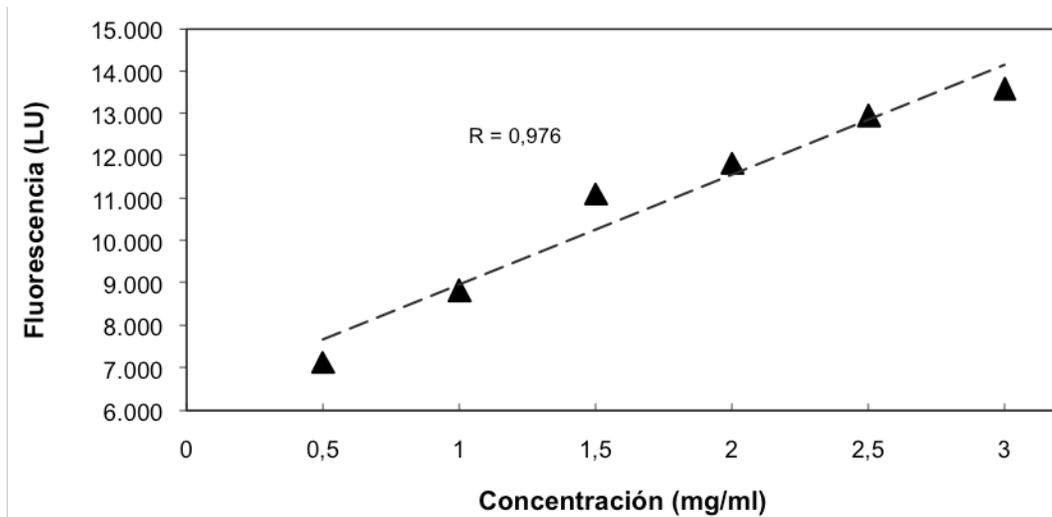


Figura 32. Curva de calibración del estándar de α -tocoferol

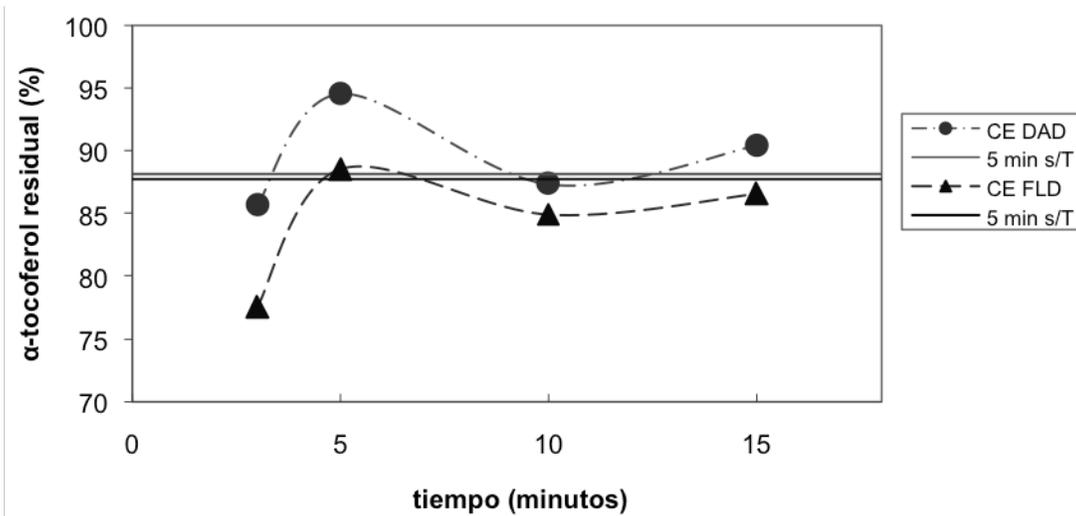


Figura 33. Porcentaje de α -tocoferol residual de muestras tratadas con CE con DAD (298 nm) y FLD (Ex= 290, Em= 330 nm).

En la **Figura 33** se observa que la muestra sin tratamiento presenta disminución de poco más del 10% de tocoferol, lo que sugiere que las condiciones ambientales ejercieron algún efecto sobre la vitamina, aunque mucho menor al observado en β -caroteno. El tratamiento de tiempo corto (3 minutos) muestra un porcentaje de vitamina residual más bajo (75%) con respecto a los tratamientos a tiempos mayores, ya que con los demás tiempos se presentaron pérdidas no mayores al 15%. Por otro lado, se observan comportamientos muy parecidos entre las

muestras con ambos detectores. En la siguiente figura se observa el comportamiento de las muestras.

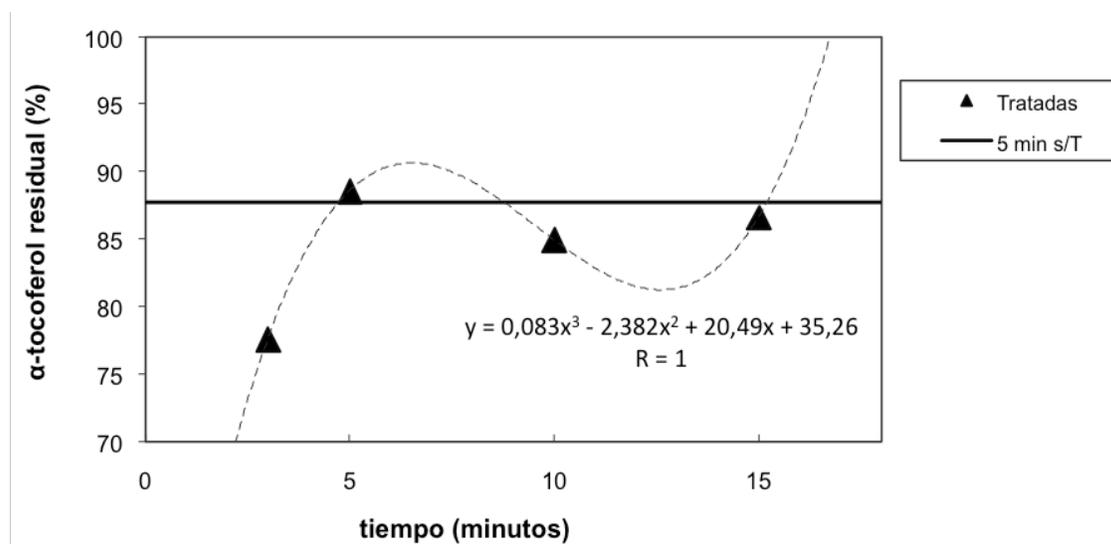
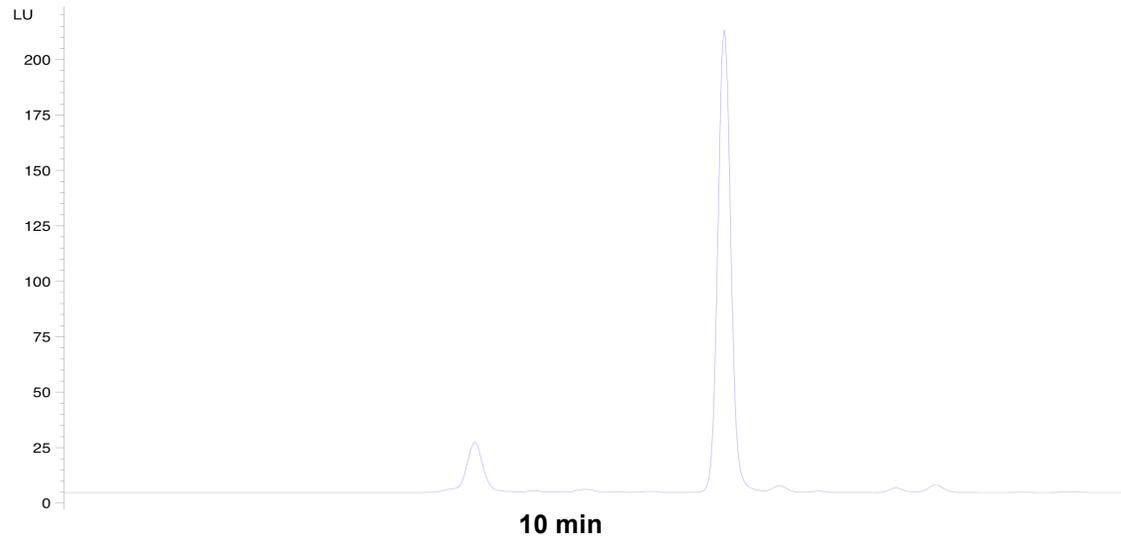
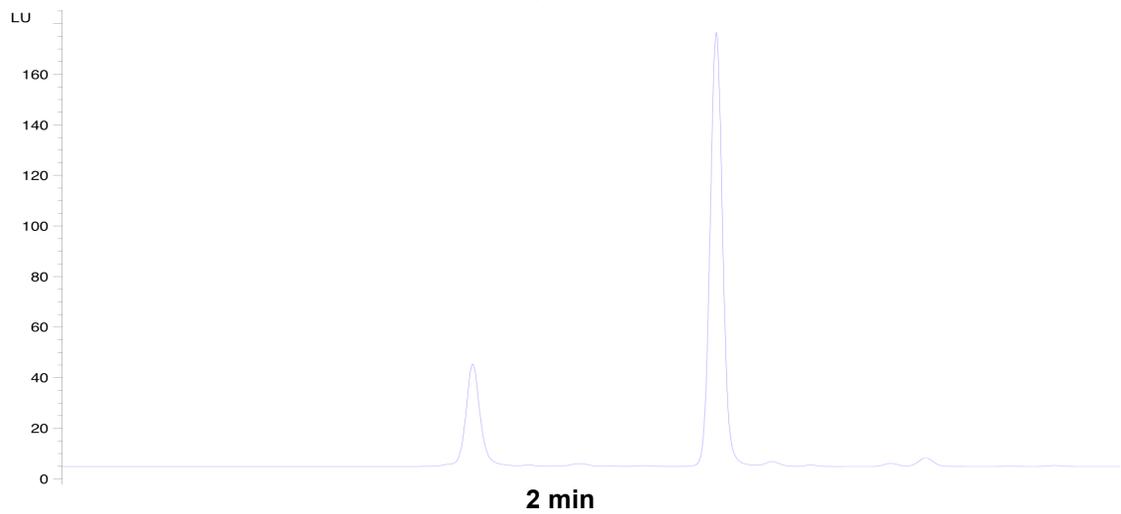
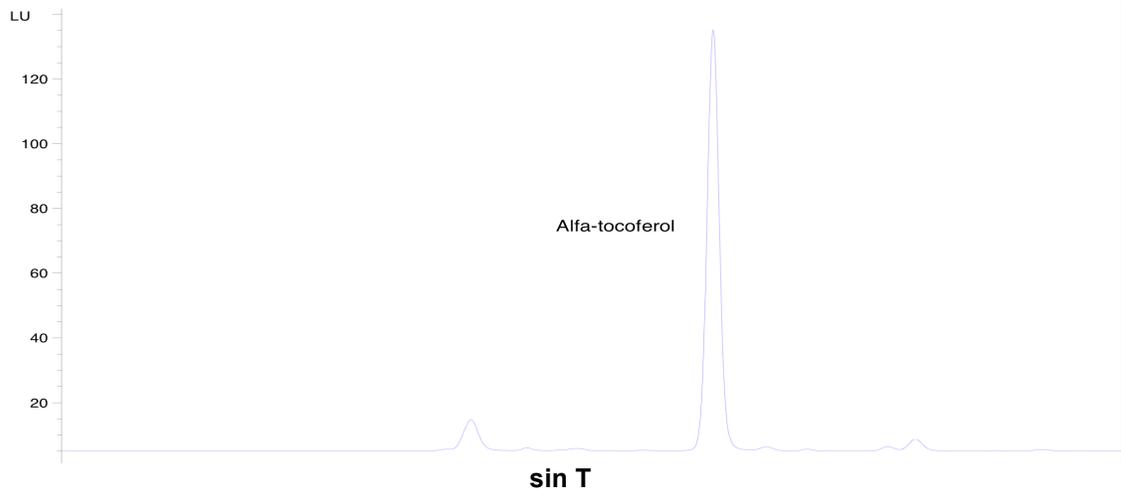


Figura 34. Porcentajes de α -tocoferol residual de las muestras tratadas con CE.

Las muestras tratadas presentaron un comportamiento polinómico de tercer grado (con ambos detectores) en la **Figura 34** se observa que con los datos del FLD, se obtiene una R de 1. Este comportamiento indica que el efecto del campo eléctrico no es consistente con el tiempo de tratamiento en comparación a las demás vitaminas. Al realizarse el análisis estadístico de las muestras, se observó que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ($p > 0.05$), por lo que el campo eléctrico no tuvo efecto sobre esta vitamina bajo las condiciones de análisis. Esto sugiere que el campo eléctrico no ejerce un efecto deteriorativo sobre estándar de α -tocoferol, a diferencia del β -caroteno y ácido ascórbico, los cuales resultan severamente afectados.

5.3.4 Tratamientos a pulpa de aguacate

En la siguiente figura se observan los cromatogramas de muestras de aguacate adicionado de estándar interno de α -tocoferol sin tratar y tratado con CE.



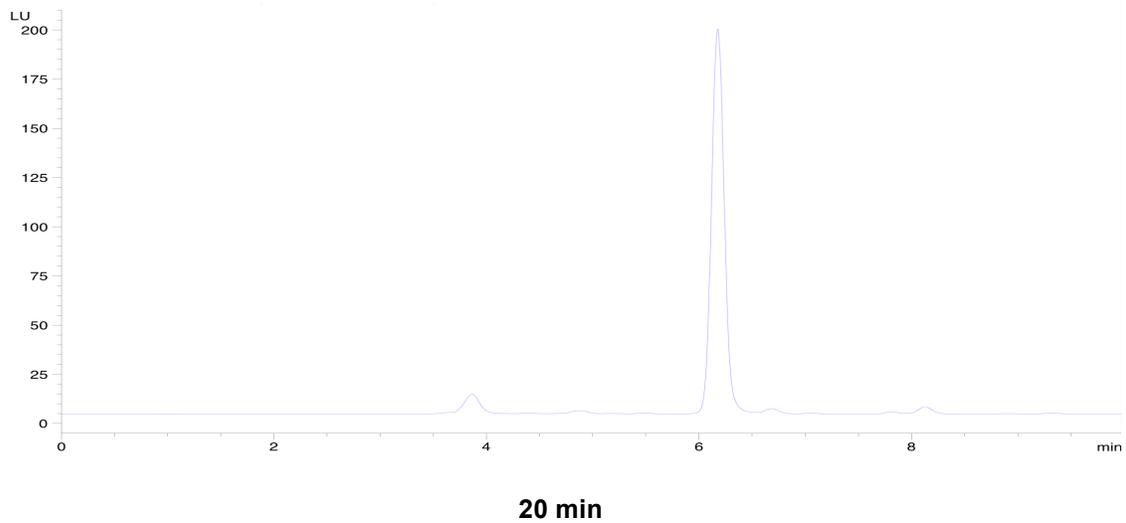


Figura 35. Cromatogramas de muestras de aguacate sin tratar y tratado con CE (FLD, Ex=290, Em=330 nm)

En general, los cromatogramas solamente presentaron diferencias en el área bajo la curva del pico del tocoferol, pues prácticamente aparecen los mismos picos en todos los cromatogramas. Los promedios de la fluorescencia de las muestras se presentan en la **Figura 36**.

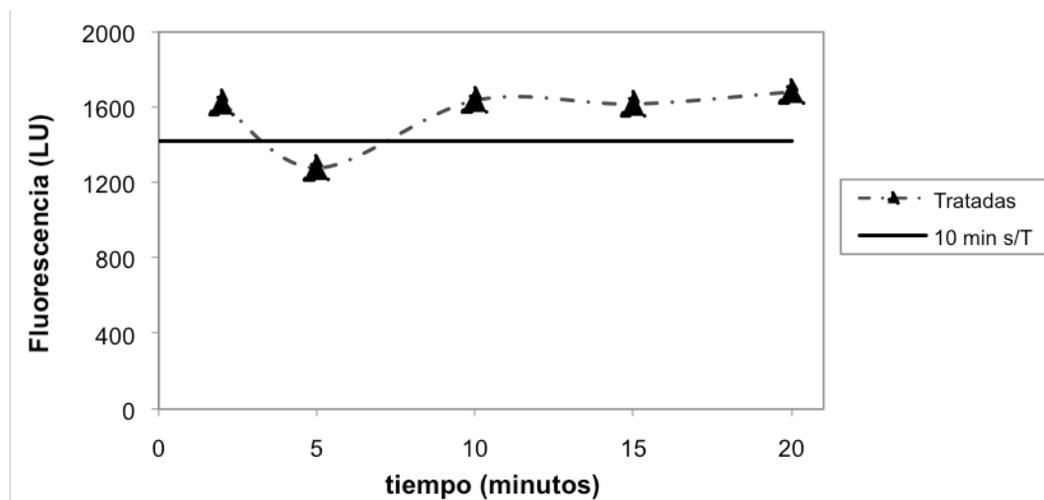


Figura 36. Dependencia de la fluorescencia del α -tocoferol residual en pasta de aguacate tratada con CE (FLD, Ex=290, Em=330 nm).

En la figura anterior se observa un comportamiento cíclico alrededor del control, encontrándose el menor valor del área del pico con 5 minutos de tratamiento, mientras que hay una tendencia a estabilizarse a tiempos de tratamiento mayores, pues las muestras tratadas durante 10, 15 y 20 minutos presentan valores mayores a los del control. Existe la posibilidad incluso, de que aquellas variaciones se deban a la manipulación de las muestras, o bien el campo eléctrico pudo mejorar la extracción del tocoferol, como ha sido reportado para otras vitaminas, **(Odrizola-Serrano y col., 2009)**

En general en este ensayo se observa un comportamiento similar al de las muestras de estándar tratado con CE. En este caso también se realizó un análisis de varianza, encontrando que no hay diferencia significativa entre los tratamientos ($p>0.05$). Este comportamiento es similar al reportado por **Bendicho** y colaboradores **(2002)**, quienes mencionan que en el caso de leche, el contenido de tocoferol no fue modificado al tratar leche con CEP con pulsos mayores a 400 μs , y fuerza de campo de 18.3 a 27.1 kV/cm. También **Riener** y colaboradores **(2008)** reportaron que no hubo diferencia significativa ($p>0.05$) en el contenido de α -tocopherol de leche cruda con tratamientos de 15 a 35 kV/cm, a 12.5, 25, 37.5, 50 y 75 μs .

VI. CONCLUSIONES

El análisis por espectroscopia UV/visible se tomó como una alternativa al análisis por HPLC, por medio de ésta técnica se observó un efecto del campo eléctrico sobre estándar de β -caroteno, ya que se registró la disminución de la absorbancia a 450 nm, mientras que hubo un ligero incremento a 340 nm; lo anterior sugiere la formación de isómeros geométricos.

Los CEP ejercen efecto significativo sobre ($p < 0.05$) estándar de β -caroteno a tiempos largos de aplicación. El efecto producido es la formación de compuestos de mayor polaridad que el caroteno. Sin embargo, parte de la disminución en los porcentajes de β -caroteno residual se debió principalmente al ambiente. No sucede lo mismo cuando el β -caroteno se encuentra inmerso en la matriz del aguacate, ya que en este caso se observan diferencias menores que en el estándar como tal, aunque con tendencia a la disminución también a tiempos mayores.

Los CE ejercen un efecto negativo sobre estándar de ácido L-ascórbico, ya que esta vitamina se degradó a medida que aumenta el tiempo de tratamiento. Mientras que en la matriz del aguacate, la vitamina C se mantiene después los tratamientos, o bien, se observan disminuciones menores con respecto a las de la vitamina sola.

Los CEP no ejercen efectos significativos sobre estándar de α -tocoferol en solución ni cuando se encuentra en aguacate, a 720 Hz y 9 kV/cm, si bien, se observaron variaciones en los porcentajes de tocoferol residual, debidas a la manipulación de las muestras, principalmente, no siendo significativas ($p > 0.05$).

VII. BIBLIOGRAFIA

- Adrian J., Potus J., Poiffait A., Dauvillier P. 2006. Análisis nutricional de los alimentos. Acribia, S. A. Zaragoza, España.
- Arriola-Guevara E., García-Herrera T., Guatemala-Morales G. M., Nungaray-Arellano J., González-Reynoso O. y Ruíz-Gómez J.C. 2006. Comportamiento del aguacate Hass liofilizado durante la operación de rehidratación. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* vol. 5, 1: 51-56.
- Azevedo-Meleiro C., Rodriguez-Amaya D. 2004. Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS. *Journal of Food Composition and Analysis* 17: 385–396.
- Badui S. 1999. *Química de los alimentos*. Addison Wesley Longman de México, S. A. de C. V. México.
- Ball, G. F. M. 1992. The fat-soluble vitamins. In *Food analysis by HPLC* edited by Leo M. L. Nollet. Marcel Dekker, Inc. United States of América.
- Bendicho S., Barbosa-Cánovas G., and Martín O. 2002. Milk processing by high intensity pulsed electric fields. *Trends in Food Science & Technology* 13 195–204.
- Bergh B. 1992. The Avocado and Human Nutrition. I. Some Human Health Aspects of the Avocado. *Proc. of Second World Avocado Congress* 25-35.
- Brody Tom. 1998. *Nutritional Biochemistry*. Second Edition. Academic Press.
- Castorena H. 2007. Estudio del efecto de los campos electromagnéticos pulsantes sobre la actividad de la polifenoloxidasas del aguacate con fines de conservación. Exámen predoctoral. CIBA-IPN Tlaxcala.
- Che Man Y.B., Ammawath W., Mirghani M.E.S. 2005. Determining α -tocopherol in refined bleached and deodorized palm olein by Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chemistry* 90: 323 –327.
- Chow C. K. 2001. Vitamin E. En *Handbook of vitamins* edited by Rucker R., Suttie J., McCormick D. y Machlin L. Marcel Dekker, Inc. Estados Unidos de América.
- Cortés C., Esteve M.J., Rodrigo D., Torregrosa F., Frígola A. 2006. Changes of colour and carotenoids contents during high intensity pulsed electric field treatment in orange juices. *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 44, 11: 1932-1939.

- Crane J., Balerdi C., Maguire I. 2005. Cultivo de aguacate en los jardines de Florida. University of Florida.
- Davey M., Keulemans J., Swennen R. 2006. Methods for the efficient quantification of fruit provitamin A contents. *Journal of Chromatography A*, 1136: 176–184.
- Davies M., Austin J., Partridge D. 1991. Vitamin C. Its Chemistry and Biochemistry. The Royal Society of Chemistry Paperbacks.
- Elez-Martínez P., Soliva-Fortuny R., Gorinstein S., Martín-Belloso O. 2005. Natural Antioxidants Preserve the Lipid Oxidative Stability of Minimally Processed Avocado Purée. *Journal of Food Science*, Vol. 70, Nr. 5.
- Elez-Martínez P., Martín-Belloso O. 2007. Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and gazpacho, a cold vegetable soup. *Food Chemistry* 102: 201–209.
- Fennema O. R. 1985. In *Food Chemistry* (2a ed.). Marcel Dekker Inc., New York, USA.
- Fincan, M., DeVit, F., Dejmek, P. 2004. Pulsed electric field treatment for solid–liquid extraction of red beetroot pigment. *Journal of Food Engineering* 64 381–388.
- Guzmán-Gerónimo R., López M., and Dorantes-Alvarez L. 2008. Microwave processing of avocado: Volatile flavor profiling and olfactometry *Innovative Food Science & Emerging Technologies* Vol. 9, 4:501-506
- Hogan E., Kelly A., and Sun D. 2005. High Pressure Processing of Foods: An Overview. In *Emerging Technologies for Food Processing* edited by Da-Wen Sun. ACADEMIC PRESS, 792 páginas.
- Jaeger H., Schulz A., Karapetkov N., and Knorr D. 2009. Protective effect of milk constituents and sublethal injuries limiting process effectiveness during PEF inactivation of *Lb. rhamnosus* International. *Journal of Food Microbiology* 134: 154–161.
- Johnston C., Steinberg F., Rucker R. 2001. Ascorbic Acid. In *Handbook of vitamins* 3^a. Ed. Edited by Rucker, Suttie, McCormick and Machlin. Marcel Dekker, Inc. U. S. A.
- Kamal-Eldin A. and Appelqvist L. 1996. The Chemistry and Antioxidant Properties of Tocopherols and Tocotrienols. *Lipids*, Vol. 31, no. 7: 671-701.
- Lu Q., Arteaga J. R., Zhang Q., Huerta S., Go V. L. W., Heber D. 2005. Inhibition of prostate cancer cell growth by an avocado extract: role of lipid-soluble bioactive substances. *Journal of Nutritional Biochemistry* 16: 23–30.

- Marty C., and Berset C. 1990. Factors Affecting the Thermal Degradation of all-trans- β -Carotene. *J. Agric. Food Chem.*, 38 (4).
- Martín-Belloso, O. and Elez-Martínez, P. 2005. Enzymatic Inactivation by Pulsed Electric Fields. In *Emerging Technologies for Food Processing* edited by Da-Wen Sun. ACADEMIC PRESS.
- Martín-Belloso O., Bendicho S., Elez-Martínez P., and Barbosa-Cánovas G. V. 2005. Does High-Intensity Pulsed Electric Fields Induce Changes in Enzymatic Activity, Protein Conformation, and Vitamin and Flavor Stability? In *Novel Food Processing Technologies* edited by Gustavo V. Barbosa-Cánovas, María S. Tapia, M. Pilar Cano. CRC PRESS, United States of América.
- Mayer A. M. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry* 67: 2318–2331.
- Mezadri T., Villaño D., Fernández-Pachón M.S., García-Parrilla M.C., Troncoso A.M. 2008. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. *Journal of Food Composition and Analysis* 21: 282– 290.
- Min S., Jin Z. T., Min S. K., Yeom H., & Zhang Q. H. 2003. Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. *Journal of Food Science*, 68: 1265–1271.
- Morales-de la Peña M., Salvia-Trujillo L., Rojas-Graü M.A., Martín-Belloso O. 2010. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice–soymilk beverage in chilled storage. *LWT - Food Science and Technology* 43: 872–881
- Odriozola-Serrano I., Soliva-Fortuny R., Gimeno-Añó V., Martín-Belloso O. 2008. Modeling changes in health-related compounds of tomato juice treated by high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering* 89: 210–216.
- Odriozola-Serrano I., Soliva-Fortuny R., Hernández-Jover T., Martín-Belloso O. 2009. Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments. *Food Chemistry* 112: 258–266.
- Olaeta, J. 2003. Industrialización del aguacate: estado actual y perspectivas futuras. *Actas V Congreso Mundial del Aguacate*, 749-754.
- Oms-Oliu G., Odriozola-Serrano I., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O. 2009. Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. *Food Chemistry* 115: 1312–1319.

- Ornela J., Yahia E. 2002. El aguacate en México. *Horticultura Internacional*, 38-noviembre.
- Ortega M. A. 2003. Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate Hass. *Actas V Congreso Mundial del Aguacate*, pp. 741-748.
- Ortiz A., Mora R., Santiago T., Dorantes L. 2003. Obtención de una pasta de aguacate mediante tratamiento térmico. *Actas V Congreso Mundial del Aguacate* pp. 761-768.
- Ortíz A., Dorantes L., Galindez C. 2010. Desarrollo de un proceso para la obtención de aceite de aguacate de alta calidad empleando una tecnología emergente. Premio nacional en ciencia y tecnología de los alimentos.
- Olson J. 2001. Vitamin A. In *Handbook of vitamins* edited by Rucker R., Suttie J., McCormick D. y Machlin L. Marcel Dekker, Inc. Estados Unidos de América.
- Pasto D. J., Johnson C. R. 1981. *Determinación de estructuras orgánicas*. Reverté, España.
- Pizzichemi M. 2007. Application of Pulsed Electric Fields to food treatment *Nuclear Physics B (Proc. Suppl.)* 172: 314–316
- Player M. E., Kim H. J., Lee H. O., and Min D. B. 2006. Stability of α -, γ -, o δ -Tocopherol during soybean Oil Oxidation. *Journal of Food Science-* Vol. 71, Nr. 8.
- Qiu D., Chen Z., Li H. 2009. Effect of heating on solid β -carotene. *Food Chemistry* 112: 344–349 .
- Riener, J., Noci, F., Cronin, D., Morgan, D., and Lyng, J. 2008. Effect of high intensity pulsed electric fields on enzymes and vitamins in bovine raw milk. *International Journal of Dairy Technilogy*, vol 62, 1: 1-6.
- Robles M. R. 2008. Estudio del efecto de campos electromagnéticos sobre *Listeria innocua*. Tesis. Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala.
- Rodríguez-Amaya D. B. 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. OMNI Research. United States of America.
- Rodríguez-Amaya D. B., and Kimura M. 2004. HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis. HarvestPlus Technical Monograph 2. United States of America.
- Rodríguez J.J., Barbosa-Cánovas G.V., Gutiérrez-López G.F., Dorantes A.L., Hye-Won Y. and Howard Z.Q. 2003. An update on some key alternative food processing technologies: Microwave, Pulsed Electric Field, High Hydrostatic Pressure, Irradiation and Ultrasound. In: *Food Science and Food*

Biotechnology Gutiérrez-López G.F. and Barbosa-Cánovas G.V., Edited by CRC Press, Florida, U. S. A.

- Ryynänen M., Lampi A.-M., Salo-Väänänen P., Ollilainen V., Piironen V. 2004. A small-scale sample preparation method with HPLC analysis for determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *Journal of Food Composition and Analysis* 17: 749–765.
- Sale A., Hamilton W. 1967. Effect of high electric fields on microorganisms. I. Killing of bacteria and yeast. II. Mechanism of action of the lethal effect. *Biochimica Biophysica Acta*, 148: 781–800.
- Sale A., Hamilton W. 1968. Effects of high electric fields on microorganisms. III. Lysis of erythrocytes and protoplasts. *Biochimica Biophysica Acta*, 163: 37–43.
- Sánchez S., Mijares Oviedo, P., López López, L., Barrientos Priego, A. F. 1998. *Historia del aguacate en México*. (http://www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX_1998-2001/CICTAMEX_1998-2001_PG_171-187.pdf)
- Schwartz M., Olaeta J.A., Undurraga P. y Sepúlveda M. 2007a. Obtención y almacenamiento de palta (aguacate) en polvo. *Actas VI Congreso Mundial del Aguacate*.
- Schwartz M., Olaeta J., Undurraga P., Sepúlveda M. y Tepper P. 2007b. Nuevo producto de palta /aguacate (*Persea americana* Mill): pasta y trozos obtenidos por secado osmótico. *Actas VI Congreso Mundial del Aguacate*.
- Serway R. 1999. *Electricidad y magnetismo*. Tercera edición. McGraw-Hill.
- Singh J., Upadhyay A.K., Prasad K., Bahadur A., Rai M. 2007. Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis* 20: 106–112.
- Soliva R., Elez P., Sebastián M., and Martín O. 2000. Evaluation of browning effect on avocado purée preserved by combined methods. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Vol. 1, 4: 261-268.
- Soliva-Fortuny R., Elez-Martínez P., Sebastián-Calderón M., and Martín-Belloso O. 2002. Kinetics of polyphenol oxidase activity inhibition and browning of avocado purée preserved by combined methods *Journal of Food Engineering*, Vol. 55, 2: 131-137.
- Toepfl, S., Heinz, V. and Knorr D. 2005. Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food. In *Emerging Technologies for Food Processing* edited by Da-Wen Sun. ACADEMIC PRESS, 792 páginas.

- Toepfl, S., Heinz, V., Knorr, D. 2007. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical Engineering and Processing* 46: 537–546.
- Torregrosa F., Cortés C., Esteve M., and Frígola A. 2005. Effect of High-Intensity Pulsed Electric Fields Processing and Conventional Heat Treatment on Orange–Carrot Juice Carotenoids. *J. Agric. Food Chem.* 53: 9519–9525.
- Yoruk, R., and Marshall, M. 2003. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: A review. *Journal of Food Biochemistry* 27: 361-422.
- Zarazúa-Escobar J. A., Martínez-Damián Ma. T., Colinas-León Ma. T., Barrientos-Priego A. F., Aguilar-Melchor J. J. 2005. Frigoconservación y atmósferas modificadas en frutos de aguacate mínimamente procesado. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 11(1): 143-148.

www.siap.gob.mx

ANEXO I. ESTUDIO DE MERCADO DE AGUACATE

I. Introducción

México es el principal productor, exportador y consumidor de aguacate en el mundo, (**FAO, SIAP, 2009**). Asimismo, este fruto tiene su origen en este país, debido a lo cual ha estado presente en la dieta de los pobladores desde tiempos precolombinos. Con la llegada de los españoles, el aguacate se dio a conocer en España, a partir de entonces, el cultivo de este se extendió por el mundo (**Sánchez S., y col, 1998**). Actualmente, el aguacate es un cultivo importante de las zonas tropicales de América y se cultiva comercialmente también en varios países del mundo, (**Crane y Balerdi, 2005**).

En nuestro país cada año se incorporan nuevas extensiones de tierra con el fin de incrementar la producción debido a la creciente demanda de este fruto con fines de exportación, (**SIAP, 2009**). Lo anterior tendrá como consecuencia el aumento de los volúmenes de aguacates de bajo calibre, que son aquellos que no cumplen con las especificaciones para ser exportados, y que se comercializan a precios menores en los mercados nacionales. Una alternativa para otorgar un valor agregado a este producto, es la industrialización. A partir de aguacate se pueden obtener derivados tales como pulpa, guacamole, mitades procesados por liofilización, congelado o adicionado de conservadores, o bien aceite. Sin embargo, los consumidores tienden a demandar alimentos que se asemejen lo mejor posible al producto en su estado fresco, con un uso mínimo de conservadores, (**Olaeta, 2005**). Estos productos tienen mayor demanda en Estados Unidos, algunos países de Europa y Asia, pues las cantidades de estos productos que se elaboran en nuestro país, se exportan en su mayoría, destinando un porcentaje pequeño al mercado nacional, (**SIAP, www.inforural.mx, 2008**).

El aguacate es un alimento con características sensoriales ampliamente apreciadas, y además contiene nutrientes tales como carbohidratos, proteínas,

lípidos, vitaminas y minerales. De los anteriores, el aceite está compuesto en su mayoría por ácidos grasos insaturados, los cuales otorgan efectos benéficos al organismo humano. Por otro lado, este fruto contiene vitaminas que también funcionan como antioxidantes, por lo que el aguacate es un alimento saludable, **(Ortega, 2003)**.

Aunque este fruto se consume principalmente en fresco, actualmente existen algunos productos de aguacate procesado por liofilización, congelado o adicionado de conservadores. Los tratamientos térmicos son perjudiciales para la calidad de la pulpa del aguacate, debido a que inducen varias reacciones indeseables que producen oscurecimiento, dañan el sabor y/o se producen pérdidas nutricionales, **(Elez-Martínez, 2005)**. Existen diversos trabajos de investigación encaminados a la conservación de la pulpa de aguacate en forma de puré o como guacamole, entre los métodos propuestos se encuentra el uso de tecnologías emergentes y métodos combinados, estas tecnologías garantizan productos con características sensoriales similares a los productos frescos, por que hacen un uso más eficiente de la energía y los incrementos de temperatura son mínimos. Tales tecnologías presentan una alternativa a los métodos tradicionales como el uso del calor, conservando nutrientes y las propiedades organolépticas de los productos, **(Dorantes-Álvarez, y col., 1998, Soliva-Fortuny, y col., 2004)**.

En este trabajo se propone la conversión de aguacate en uno de sus derivados, pulpa tratada con campos eléctricos y empacada al vacío, para comercializarla en nuestro país. El producto va dirigido a hogares que se encuentran en zonas metropolitanas del centro y norte del país, que es donde se encuentra una cantidad importante de la población. El método consiste en primer instancia, en dar a conocer el producto pulpa de aguacate en las zonas mencionadas, para posteriormente, comercializarla en todo el país, esto con el fin de ofrecer un producto saludable y listo para consumirse. De esta manera puede incrementarse el consumo per cápita de aguacate a nivel nacional, además de aprovechar el aguacate que no se exporta, dándole un valor agregado al mismo.

II. Descripción del producto

La pulpa de aguacate **Nutriaguacate** se obtiene al deshuesar y quitarle la piel a aguacates maduros, previamente desinfectados con cloro. Posteriormente la pulpa se muele y homogeniza junto con un antioxidante como ácido ascórbico. La pasta es sometida a un tratamiento con Campos Eléctricos y, posteriormente se empaqueta al vacío. Para conservar este alimento durante más tiempo, debe permanecer en refrigeración. Este producto se puede utilizar para preparar guacamole o para acompañar otros platillos como carnes o ensaladas, para *dips*, para untar y también se puede utilizar para la elaboración de bebidas y helados.

Este producto es un alimento nutritivo, ya que contiene vitaminas y minerales en cantidades importantes y, a pesar de contener grasa, en su mayoría es insaturada, por lo que es un producto sano y puede ayudar a reducir el colesterol malo. Los beneficios que se pueden obtener del aguacate, pueden ser suministrados por nuestro producto denominado pulpa de aguacate **Nutriaguacate**.

La presentación del producto será en envases de plástico color verde cuyo peso neto es de 0.5 y 1 kg, cada caja contiene 15 envases de 0.5 kg y 10 envases de 1 kg.

2.1 Características

Color: verde

Sabor: característico del aguacate

Aroma: característico del aguacate

Consistencia: puré

Etiquetado: pulpa de aguacate **Nutriaguacate**

2.2 Normas de calidad

Los productores de aguacate tienen que seguir la norma mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006, la cual establece:

- a) Requisitos mínimos generales: los frutos deben haber alcanzado al menos 21.5% de materia seca en la pulpa, ser cortados con gancho con red, pedúnculo cortado al ras y evitar contacto con el suelo; que se transporten del huerto a la empacadora en cajas limpias y en camiones cubiertos con lona;
- b) Calidad del fruto (Suprema, Calidad I y Calidad II), de acuerdo a la tolerancia en la presencia de daños visibles en la epidermis causados por roña, viruela o clavo, trips, granizo, rozaduras, quemadura de sol, heladas y daño mecánico o causado por larvas;
- c) Calibre del fruto: Súper extra (> 266 g), Extra (211-265 g), Primera (171-210 g), Mediano (136-170 g), Comercial (85-135 g) y Canica (< 85 g), y
- d) Etiquetado y envase, (**Salazar-García y col., 2005**)

Calidad total y aseguramiento

Con la incursión al mercado de los Estados Unidos, México implementó un sistema de verificación y certificación de calidad para todo el aguacate que se exporte. Las normas internacionales de calidad que se siguen son el *Codex Alimentarius* y las propuestas de calidad de la Organización de Cooperación para el Desarrollo Económico (OCDE), así como en las normas mexicanas NOM-128-SCFI-1998 y la NMX-FF-016-SCFI-2002, (**Salazar-García y Col., 2005**). Ahora bien, para la elaboración de la pulpa de aguacate, es necesario seguir la norma oficial mexicana NOM-120-SSA1-1994, dado que en esta se especifican las prácticas de higiene y sanidad a seguir para el proceso de alimentos, y, la norma

NOM-050-SCFI-2004 contiene las indicaciones para el etiquetado del producto, (www.economia.gob).

2.3 Densidad económica

Para conservar por más tiempo el producto, este debe ser transportado en refrigeración, por lo que aumenta el costo de transporte. Sin embargo, el peso y volumen son pequeños, lo cual permite transportar cantidades grandes del producto. Debido a ello, el producto presenta una densidad económica media, por lo que se tratarán de instalar plantas de producción en lugares donde se encuentra nuestro mercado meta.

III. Análisis de la demanda

3.1 Perfil del consumidor

El aguacate es un alimento tradicional en la dieta mexicana. Nuestro producto esta dirigido a la población en general, pero sobre todo a familias mexicanas que requieren productos cuya preparación sea rápida o estén listos para consumirse.

3.2 Demanda potencial

En el año 2007, el consumo per cápita de aguacate en México fue de 7.96 kg (**SNIIM**). En el ENIGH del año 2008, (**INEGI**) se dice que el número de integrantes promedio por hogar era de 4, por lo que se puede decir que el consumo de aguacate por hogar aquel año fue de 31.36 kg, aproximadamente.

Según el **INEGI**, en el año **2008** existían un total de 26,732,594 hogares en nuestro país, los cuales tienen un promedio de 4 integrantes, tomando en cuenta

que 31.36 kg al año es la demanda por hogar, entonces la demanda del total de hogares en aquel año fue de 838,334.148 Ton de aguacate.

3.2.1 Demanda potencial por regiones

Según el **INEGI**, 34.9% de la población nacional reside en zonas metropolitanas que concentran más de un millón de habitantes cada una. Nuestro nicho de mercado se ubica en zonas metropolitanas de la República Mexicana, tomando en cuenta el ritmo de vida en tales ciudades, pues nuestro producto se puede consumir inmediatamente después de ser abierto, ya que no requiere necesariamente una preparación extra. Las zonas metropolitanas del país que se han seleccionado son el Distrito Federal, Guadalajara, Monterrey, Tijuana y Ciudad Juárez, ya que tienen una alta densidad de población. Los municipios mencionados cuentan con más de un millón de habitantes.

La zona metropolitana del Valle de México cuenta con 19 231 829 habitantes, mientras que en Guadalajara viven 4 095 853; 3 664 331 en Monterrey; 1 484 005 habitantes en Tijuana y; por último, 1 313 338 habitantes en Juárez, (**Perfil socio demográfico de los Estados Unidos Mexicanos, 2008**). Si el número de integrantes promedio de los hogares mexicanos es de 4, se obtiene que, en la zona metropolitana del Valle de México existen 4,807,957 hogares, 1,023,963.25 en la zona metropolitana de Guadalajara, 916,082.75 en la zona de Monterrey, 371,001.25 en la zona de Tijuana y 328,334.5 en la zona metropolitana de Juárez.

Ahora bien, sumando el número de hogares de las 5 regiones mencionadas, se obtiene un total de 7,447,339 hogares, en el apartado anterior se definió que la demanda por hogar es de 31.36 kg al año; por lo tanto la demanda total estimada en las 5 zonas elegidas es de 233,548.551 Ton anuales.

3.2.2 Análisis de la demanda por estratos de ingresos

Nuestro objetivo es vender el producto a un precio cuya diferencia con respecto al mismo en su estado fresco no sea tan elevada, sin embargo, existe mayor probabilidad de que nuestro producto sea demandado por hogares cuyo ingreso mensual sea mayor o igual a 2 salarios mínimos. El **INEGI** clasifica, en la Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos de los Hogares, (**ENIGH, 2008**), a los hogares mexicanos de acuerdo a su ingreso corriente total promedio trimestral, en deciles; el primer decil contiene el número de hogares cuyo ingreso promedio trimestral es de hasta \$6,410.00, el segundo decil comprende hogares con ingresos de hasta \$10,738.00 trimestral, mientras que el tercer decil comprende hogares con ingreso de hasta \$14,435.00. Además, divide el comportamiento en localidades cuyo número de habitantes es menor de 2,500 y de 2,500 a más habitantes. Las cinco zonas metropolitanas elegidas se encuentran en las zonas A y B de la clasificación de salarios mínimos, en el año 2008 el valor del salario mínimo de la zona A era de \$52.59 y de la zona B de \$50.96. En promedio el salario mínimo de ambas zonas era de \$51.775, tomando en cuenta este dato, un hogar que recibe un ingreso trimestral de un salario mínimo en alguna de estas zonas equivaldría a \$4,659.75; si un hogar percibe 2 salarios mínimos, recibiría \$9,319.5 trimestrales, y si recibe 3 salarios mínimos su ingreso trimestral sería de \$13,979.25. Ahora bien, en el **ENIGH (2008)**, en los dos primeros deciles del ingreso corriente total promedio trimestral de los hogares de localidades con 2,500 y más habitantes, se encuentran aquellos hogares cuyo ingreso trimestral llega hasta los \$10,738.00, lo cual equivaldría a recibir 2 salarios mínimos aproximadamente en las zonas A y B de la clasificación del valor del salario mínimo de nuestro país (\$9,319.50), aproximadamente. Por otro lado, con datos del ENIGH 2008, se ha calculado que, de 21,210 281 hogares que se encuentran en localidades con 2,500 y más habitantes, el 13% de estos se encuentran en los deciles I y II, es decir perciben trimestralmente hasta \$10,738.00. Con estos datos se puede realizar el calculo de la demanda potencial, evitando aquellos hogares que perciban ingresos menores a 2 salarios mínimos aproximadamente, al contar

dentro de la demanda solo a los hogares que perciban más de \$10,738.00 trimestrales.

Del total de hogares de las cinco zonas metropolitanas elegidas que es de 7,447,339 hogares se sugiere que el 13% perciben trimestralmente hasta 2 salarios mínimos, es decir, 968,154 hogares, restándolos al total de hogares se obtienen 6,479,184 hogares que equivalen a nuestra demanda potencial.

3.2.3 Proyección de la demanda

Anteriormente se mencionó que el consumo de aguacate por hogar en el año 2007 fue de 31.36 kg, aproximadamente. Tomando en cuenta este dato, en la siguiente **Tabla** se presenta la demanda del mercado potencial de nuestro producto hasta el año 2015.

Tabla 1. Proyecciones de la demanda potencial, año 2010-2015.

AÑO	HOGARES	DEMANDA (Ton)
2005	6,479,185	203,187
2010	6,892,692	219,463
2011	6,975,394	222,097
2012	7,058,095	224,730
2013	7,140,797	227,363
2014	7,223,498	229,996
2015	7,306,200	232,629

Elaboración propia con datos del SNIIM, INEGI (Perfil Socio demográfico de los Estados Unidos Mexicanos, 2008) y CONAPO (www.conapo.gob.mx/publicaciones/dzm2000/02.pdf).

En las siguientes figuras se presentan los datos anteriores en forma gráfica, donde se puede observar de manera más clara el comportamiento de los datos.

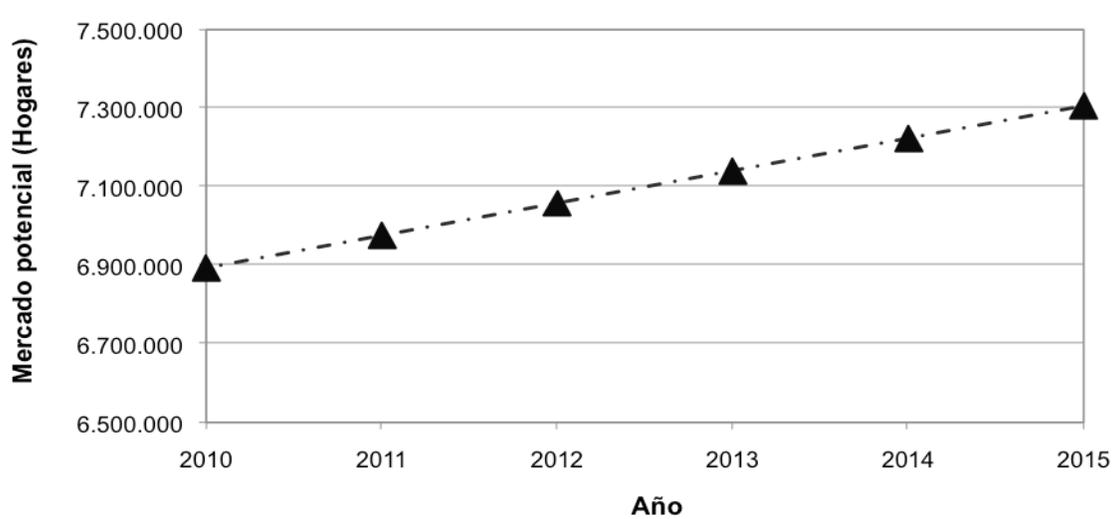


Figura 1. Proyección del mercado potencial de las zonas metropolitanas estudiadas.

Elaboración propia con datos del INEGI, CONAPO y SEMARNAT

En la **Figura 1** se observa un crecimiento constante en el número de hogares que integran nuestro mercado potencial, a causa del crecimiento poblacional en todas las ciudades elegidas, por lo cual la producción del producto propuesto debe incrementar de la misma manera para satisfacer la demanda creciente que se espera. El comportamiento de la demanda se presenta a continuación.

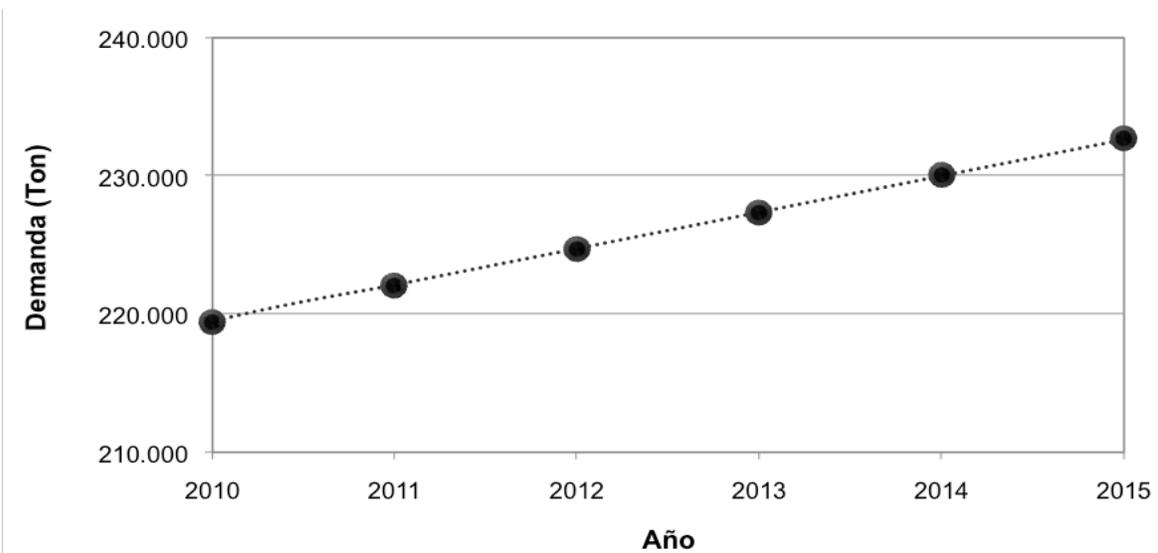


Figura 2. Proyección de la demanda de aguacate en las zonas metropolitanas estudiadas.

Elaboración propia con datos del INEGI, CONAPO y SNIIM.

Debido al incremento de la población, se estima el aumento en el consumo de aguacate. Aunque, el incremento de la demanda crecerá de manera más lenta que el número de hogares consumidores del producto.

IV. Análisis de la oferta.

4.1 Nacional

En México el aguacate es uno de los cultivos perennes más importantes en cuanto a producción, ocupando el octavo lugar después de otros cultivos como caña de azúcar y café cereza. El aguacate posee más de 400 variedades, sin embargo, la variedad *Hass* es la que más se consume en el mundo, asimismo es la que más se produce a nivel nacional y mundial, (www.aguacate.gob.mx).

México ocupa el primer lugar en cultivo y exportación de aguacate a escala mundial, con una participación de 1,140,000 Ton producidas en el año 2007, cuyo valor ascendió a los \$12,019,378,000 pesos (**Tabla 2**), (**FAO, SIAP, 2009**).

Tabla 2. Resumen nacional de la producción de aguacate en México.

AÑO	SUPERFICIE SEMBRADA	PRODUCCIÓN (Ton)	RENDIMIENTO (Ton/Ha)
1999	93,466	879,083	9.486
2000	94,905	907,439	9.643
2001	94,477	940,229	9.987
2002	97,621	901,075	9.602
2003	97,787	905,041	9.487
2004	101,882	987,323	9.861
2005	112,251	1,021,515	9.906
2006	114,842	1,134,250	10.753
2007	117,312	1,142,892	10.354
2008	122,349	1,162,428	10.335

Perennes, temporal+riego.
Fuente: SIAP.gob

En la siguientes Figuras se observa el comportamiento de los datos de producción de aguacate.

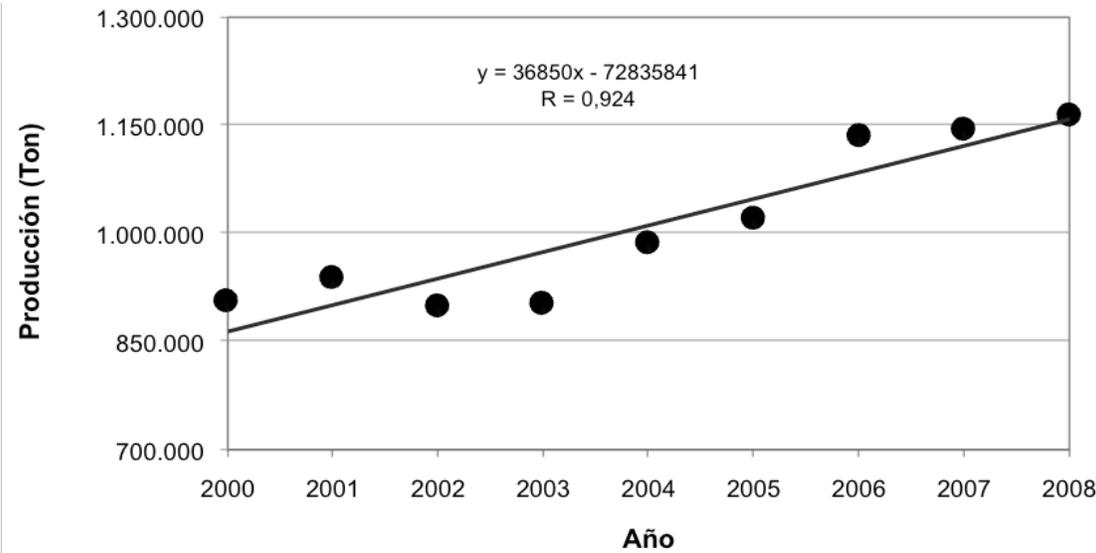


Figura 3. Resumen de la producción de aguacate en México.
Elaboración propia con datos del SIAP

En la gráfica anterior se observa una tendencia, de la producción de aguacate en nuestro país, en constante crecimiento, con un decremento en el año 2002, a pesar que ese año se destinaron alrededor de 3000 hectárea más para el cultivo de este fruto, pues el rendimiento fue menor que los años anteriores. Para el año 2003 se destinaron 66 hectáreas más que en el 2002, observándose un ligero incremento en la producción, pues aquel año el rendimiento fue aun más bajo que aquel del año 2002. Sin embargo, para el año 2004, con 4095 hectáreas mas, la producción se recupera de manera importante, pues incrementa 82,000 Ton aproximadamente en un año, esto debido al aumento de la superficie cultivada y al rendimiento. En años posteriores, con la incorporación de más tierras para este cultivo, así como mayores rendimientos la producción se recupera y se mantiene en constante crecimiento. Por otro lado, comportamiento del valor de la producción de aguacate se presenta en la siguiente figura.

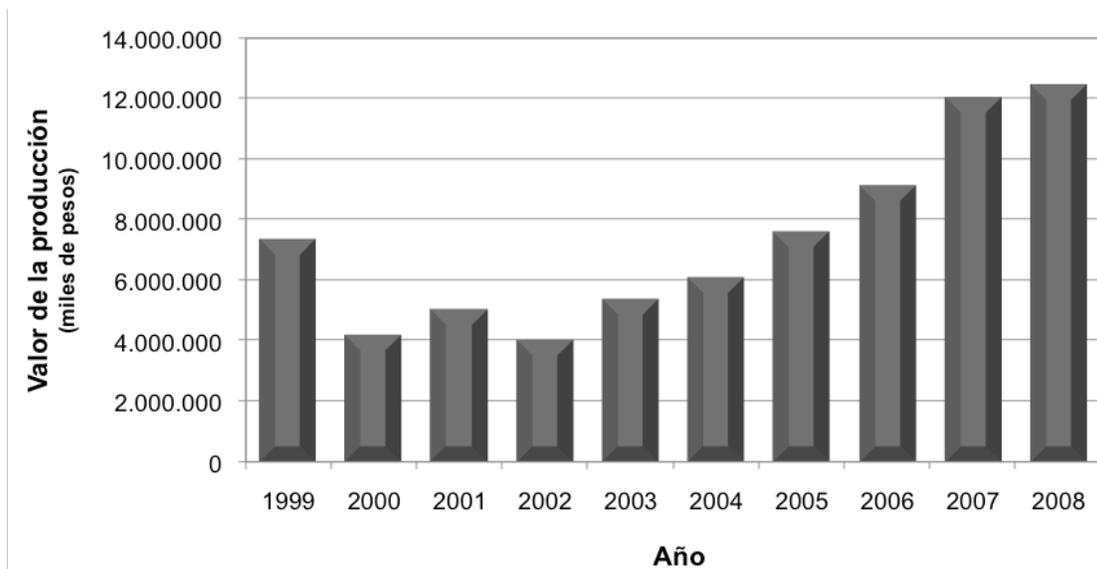


Figura 4. Valor de la producción de aguacate en México.

Elaboración propia con datos del SIAP

En la figura anterior se observa que, si bien en el año 1999 se produjo una menor cantidad de aguacate, en años posteriores el valor de la producción fue menor al de 1999, esto sucedió hasta el año 2004. El valor de la producción se recuperó hasta el año 2005, donde se produjeron arriba de 100,000 Ton más que en el año 1999. Aunque el valor de la producción no ha sido constante con respecto a la cantidad producida, el valor ha tenido un aumento sostenido a partir del año 2002, lo que representa una actividad económica importante en nuestro país.

4.1.1 Características de los principales oferentes

En México, los estados de Michoacán, Morelos, Nayarit, México y Puebla destacan como principales productores de aguacate. Michoacán es el estado con mayor producción de este fruto en nuestro país, lo que constituye su principal actividad económica. A continuación se presenta el porcentaje aportado de los cinco principales estados productores de aguacate en nuestro país.

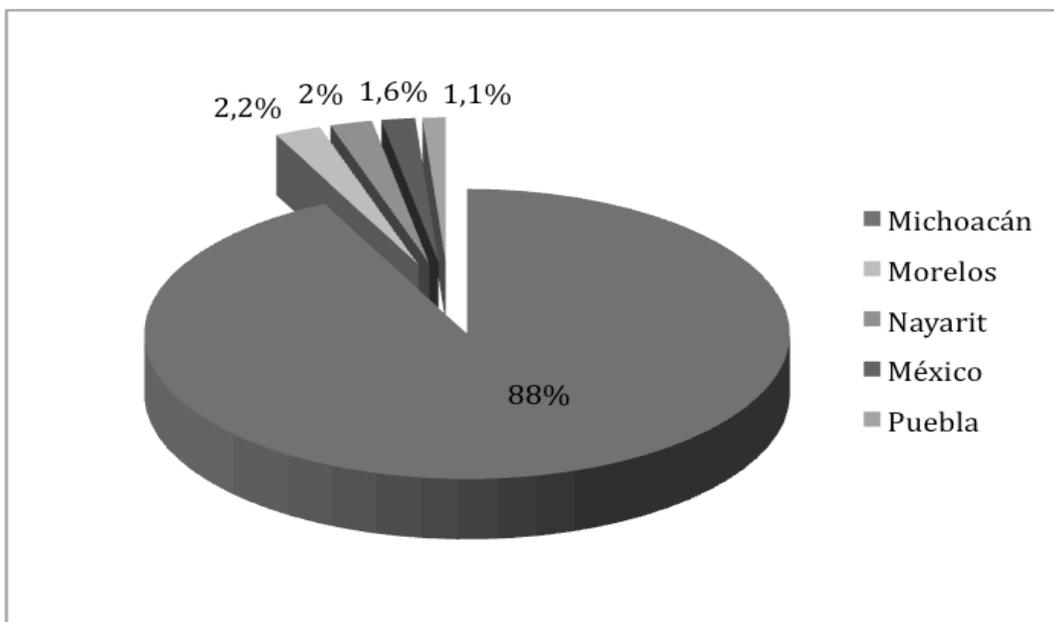


Figura 5. Principales estados productores de aguacate en México, año 2007.
Elaboración propia con datos del SIAP

En 2007 Michoacán aportó el 88% de la producción de aguacate a nivel nacional, como se observa en la figura anterior, mientras que los estados de Morelos, Nayarit, México y Puebla contribuyeron con el 7% de la producción. Cabe mencionar que Puebla y Nayarit producen aguacate criollo, (**SIAP, 2008**). Por otro lado, Michoacán es el único estado de nuestro país que exporta aguacate, pues es el único estado que cumple con las especificaciones necesarias para dicha actividad.

4.1.2 Volumen de producción

En el año 2007, México aportó 1,142,892 Toneladas de aguacate, de las cuales, como se observa en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Producción nacional de aguacate por Estados.

ESTADO	SUPERFICIE SEMBRADA (Ha)	VOLUMEN DE PRODUCCIÓN (Ton)	VALOR DE LA PRODUCCIÓN (MILES DE PESOS)
Aguascalientes	6	96	624
Baja california	48	71	672
Baja california sur	103	592	5,058
Campeche	56	433	927
Chiapas	526	1,682	5,774
Colima	96	961	6,078
Durango	943	3,186	31,329
Guanajuato	214	2,141	7,406
Guerrero	1,809	12,671	104,302
Hidalgo	431	2,249	11,679
Jalisco	2,168	10,208	101,403
México	1,947	18,085	165,510
Michoacán	98,463	1,006,059	11,025,767
Morelos	2,514	25,390	277,282
Nayarit	2,689	22,711	84,488
Nuevo León	752	3,847	31,746
Oaxaca	817	2,775	16,679
Puebla	2,483	13,291	79,156
Querétaro	95	350	2,270
Quintana Roo	17	248	302
San Luis Potosí	13	50	320
Sinaloa	22	242	1,439
Sonora	23	276	828
Tabasco	108	530	1,980
Tamaulipas	46	386	889
Veracruz	271	3,238	25,819
Yucatán	563	1,0726	27,788
Zacatecas	93	402	1862

Datos del SIAP

Como se observa en la tabla anterior, Michoacán participó con 1,006,059 Ton, lo equivalente al 88% de la producción nacional, en una superficie de 98,463 Ha, cuyo valor de la producción fue de \$11,025,767,000.00. Mientras que Morelos aportó 25,390 Ton sembradas en 2,514 Ha con un valor de \$277,282.00. Por otro lado, Nayarit dedicó 2,689 Ha para producir 22,711 Ton con valor de \$84,488,000.00 (**Tabla 3**).

La mayor parte del aguacate producido se consume en fresco en nuestro país, pero, este fruto presenta la posibilidad de ser procesado para elaborar productos

como pulpas refrigeradas o congeladas, mitades congeladas y aceite, (Olaeta, 2003). En nuestro país existen empresas que procesan aguacate, produciendo derivados como pulpas, guacamole o mitades de aguacate, a continuación se mencionan algunas de ellas.

Aguacates Michoacanos S. A. de C. V.

Actividades: Exportador de aguacate en pulpa congelada
Dirección: Calle Delicias no. 100, Colonia Jicalan
Tel. y Fax: 01 (452) 52 3 32 91, Fax: 52 4 77 77
Ciudad: Uruapan
Estado: Michoacán
E-mail: sekoquintero@mexgrow.com

Avomex International S. A. de C. V.

Actividades: Empresa maquiladora de aguacate
Dirección: Carr. Sabinas-Rosita km 1 s/n, Col. Fundadores C.P. 26740
Tel. y Fax: (861) 613-0082
Ciudad: Sabinas
Estado: Coahuila
E-mail:

Calavo de México, S. A. De C. V.

Actividades: Agricultor, expedidor de aguacate y papaya, procesador de guacamole
Dirección: Libramiento Ote. No.2650 Quirindávvara C.P. 60180
Tel. y Fax: +52 (452)523 3038, Fax:+52 (452)523 3051
Ciudad: Uruapan
Estado: Michoacán
E-mail: dionisioo@calavo.com, www.calavo.com

Congeladora y empaedora Nacional, S. A. de C. V

Actividades: Producción de guacamole, mitades de aguacate, mango, aguacate, material de empaque, ingredientes.
Dirección: Calzada la huerta 714, Morelos 58030
Tel. y Fax: (443) 3 264545, 3 26 44 69 3 264469
Ciudad: Morelia
Estado: Michoacan
E-mail:

Empacadora de aguacates San Lorenzo S. A. De C. V.

Actividades: Aguacate, maquila de aguacate
Dirección: Carretera Uruapan-San Juan Nuevo, km 2.5 s/n C.P. 60090
Tel. y Fax: (452) 5275080, 5246840
Ciudad: Jicalán, Uruapan
Estado: Michoacán
E-mail: amorales@aguacate.com.mx

ESCOSA - Ernesto Ibarra y Cia., S.A. de C.V

Actividades: Condimentos, especias, sazónadores, dulces, salsas y guacamole.
Dirección: Carlos B. Zetina No. 52, 11800,
Tel. y Fax: (+55) 5516-0701 5277-3822 / Fax: (+55) 5515-7614
Ciudad: México
Estado: Distrito Federal
E-mail: mcamhi@ernestoibarraescosa.com

Frozavo S. A. de C. V.

Actividades: Comercializador de aguacate fresco y procesadora de pulpa de aguacate y guacamole congelados.
Dirección: Carretera Jacona-Los Reyes, km 38, C.P. 59980
Tel. y Fax: (354)551.33.63, (354) 551.33.64. Fax. (354) 551.33.65
Ciudad: Tingüindín
Estado: Michoacán
E-mail: avocado@frozavo.com

Frutas Finas Gertrudis S. A. de C. V.

Actividades: Exportador de aguacate congelado
Dirección: Km. 4.5 Camino Jucutacato-Cutzato
Tel. y Fax: 045 452 100 0236
Ciudad: Uruapan
Estado : Michoacán
E-mail: ffertrudis@intermatsa.com.mx

Grupo Freza S. A. de C. V.

Actividades: Procesadora exportadora de alimentos: fresas congeladas, fresa conservada provisionalmente, guacamole y mango congelado.
Dirección: Carretera Libramiento Norte Km. 10.5 Col. Romero de Terreros C.P. 59640
Tel. y Fax: (351)5170396 fax: 5177639
Ciudad: Zamora
Estado: Michoacán
E-mail: gpofreza@prodigy.net.mx

Procesadora de aguacate y frutas S. A. de C. V.

Actividades: Salsas congeladas y guacamole
Dirección: Calle Agustín Arriaga Rivera 674, Guadalupe Victoria 60120
Tel. y Fax: (452) 5280085, 4525282125
Ciudad: Uruapan
Estado : Michoacán
E-mail: cardopaf@avoking.com

Sociedad Cooperativa Cupanda

Actividades: Produccion de pasta de aguacate, como base para guacamole
Dirección: Km. 2.5 carr. Tacambaro-Patzcuaro C.P. 61650
Tel. y Fax: 01-452-52-32095
Ciudad: Tacámbaro
Estado : Michoacán
E-mail: asesorestatal@yahoo.com.mx

Fuentes: <http://www.mexicoagricola.com/vendedores/congelados.html>
<http://dzwjyjs.aqsic.gov.cn/fwdh/qymd/zwqymd/gwqymd/200805/P020080519347370677020.pdf>
www.bancomext.gob

De la producción nacional, 69% se destina al consumo en fresco, 12% a las exportaciones y 19% se va a la industria, (**SIAP, 2004**). Entonces, si en el 2008 se tuvo una producción de 1,162,484.25 Ton de aguacate, 802,114.13 Ton se consumieron en fresco, mientras que 139,498.11 se exportaron en fresco y 220,872 Ton se industrializaron. De la cantidad industrializada, se obtiene pulpa, guacamole y aceite. Si se exportó el 25% de la producción nacional de aguacate y el porcentaje de exportación en fresco y el de aguacate industrializado suman 31%, entonces el 6% restante que equivale a 71,738 Ton, las cuales se estima fueron utilizadas en nuestro país para elaborar derivados del aguacate, es decir, pasta, guacamole y aceite de aguacate (elaboración propia con datos del **SIAP y SNIIM**). No se tienen datos de la producción de pulpa de aguacate de las empresas procesadoras que existen en el país, pero una de ellas, llamada Frozavo, produce 3,500 Ton anuales de derivados del aguacate, de las cuales solo el 10% es pulpa, y estos productos son vendidos a gran parte de la República Mexicana, EU y otros lugares como París y Alemania, (**www.inforural.mx, 2008**). Al igual que la empresa mencionada, las demás procesadoras de aguacate

exportan la totalidad de sus productos, o bien, destinan una pequeña parte al mercado nacional.

4.2 Internacional

La participación de nuestro país en el cultivo de aguacate es muy importante en el panorama internacional, ya que en el año 2006, México, aportó el 32.7% de la producción mundial de este fruto. Otros países que sobresalen en la producción de aguacate son los Estados Unidos de América, Indonesia, Colombia y Chile, entre otros, como se presenta en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Producción de aguacate en otros países.

PAÍS	PRODUCCIÓN (Ton)			
	2004	2005	2006	2007
México	987,000	1,021,515	1,134,250	1,142,892
Chile	160,000	190,000	220,000	250,000
Indonesia	221,774	227,577	239,463	201,635
Colombia	170,985	171,603	191,710	193,996
Dominicana, Rep.	218,790	113,621	216,378	183,468
Estad Unidos	162,749	283,405	247,000	175,177
Brasil	170,534	169,335	164,441	154,096
Perú	108,460	103,417	113,259	121,720
España	76,297	74,994	79,824	120,000
Guatemala	58,910	58,967	95,066	96,525
Kenya	80,000	90,000	103,935	93,639
China	100,000	125,000	90,000	92,000
Israel	73,160	85,640	84,909	85,913
Venezuela	52,428	63,109	58,663	83,304
Sudáfrica	61,790	105,931	61,442	65,203
Congo, R. Dem.	56,869	62,630	63,480	62,000
Haití	47,000	54,000	54,000	58,000
Camerún	53,000	53,000	55,000	55,000
Etiopía	65,000	65,000	34,845	55,000
Australia	41,897		34,452	47,238

Datos: faostat.org

En la **Tabla** anterior se observa que la producción tiende a aumentar a medida que avanza el tiempo, por ejemplo, Chile produjo 160,000 Ton de aguacate en el 2004 y 250,000 Ton en el año 2007; mientras que Colombia incrementó su

producción en 2007 con 23,000 Ton más con respecto al año 2004; a su vez España pasó de producir 76,297 Ton en 2004 a 120,000 Ton en 2007. En la **Figura 6** se presenta el gráfico correspondiente a los datos mencionados.

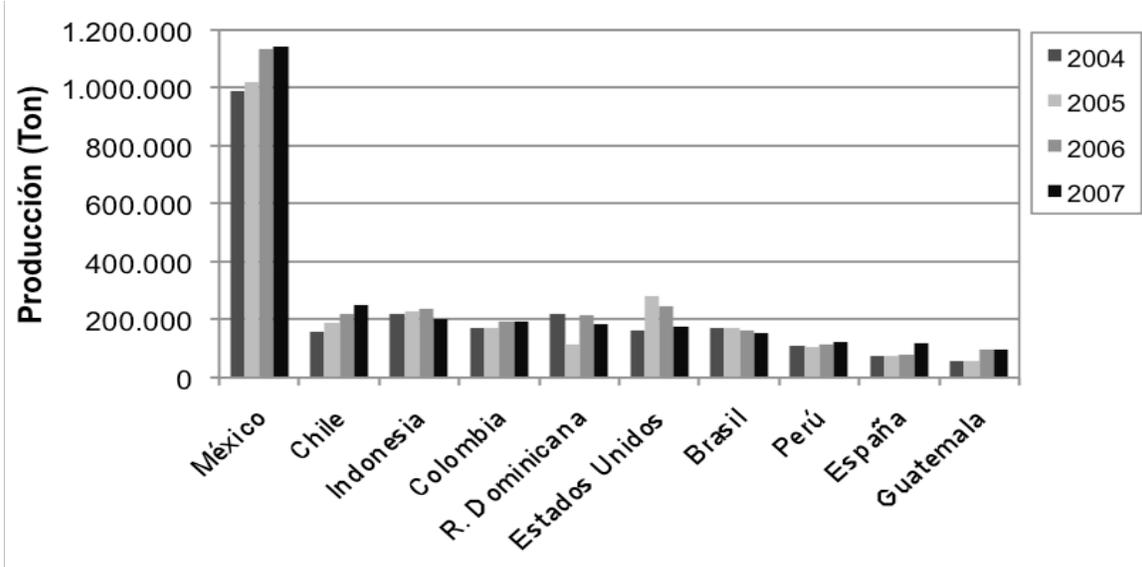


Figura 6. Principales países productores de aguacate.

Elaboración propia con datos de Faostat

En la gráfica anterior (**Figura 6**) se observa una clara diferencia entre las cantidades de aguacate que se producen en nuestro país, en comparación con aquellas aportadas por otros países productores importantes. Mientras que los demás países no han logrado alcanzar las 300,000 Ton producidas, México ha rebasado el millón de toneladas desde el año 2005. Además se observa que en nuestro país el incremento en la producción es más alta con respecto a la de otros países.

4.2.1 Volúmen y valor de las exportaciones

México también es el principal exportador de aguacate a nivel mundial, ya que, de 663,000 Ton de aguacate con el arancel 08044001, que se destinaron a la exportación, en el año 2005, México aportó 224,000 Ton, (**SIAP**) lo cual representó el 34% del total en el mundo, como se observan en la siguiente Figura.

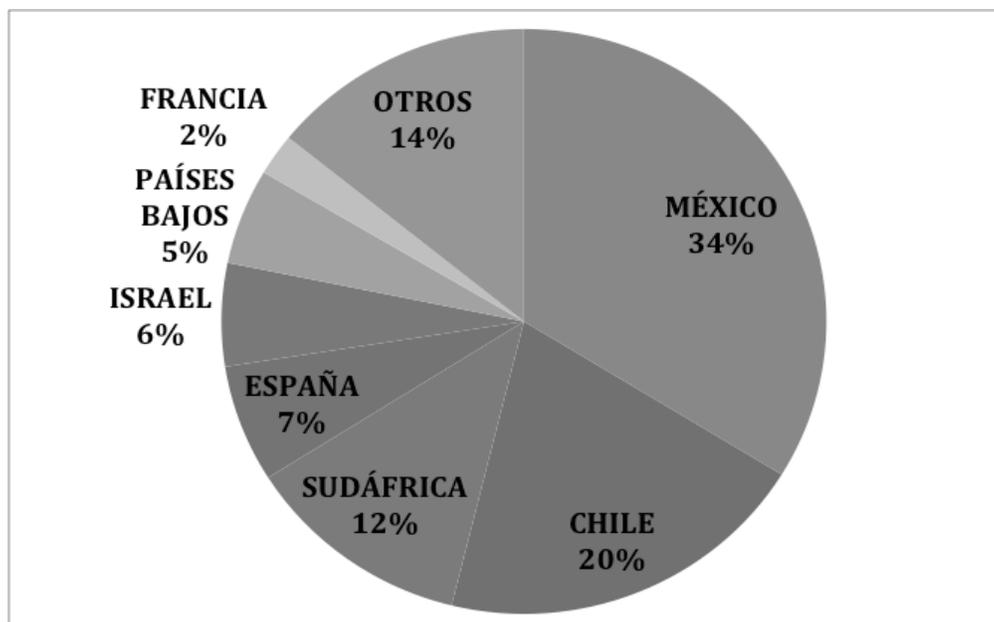


Figura 7. Principales países exportadores de aguacate (2005).

Fuente: elaboración propia con datos del SIAP

En la **Figura 7** se observa que otros países exportadores de aguacate importantes como Chile y Sudáfrica participaron con el 20 y 12%, respectivamente. Desde hace años, México ha destacado como el principal exportador de aguacate a nivel mundial y la mayor parte es adquirida por los Estados Unidos de América, que en 2008 importó el 74.6% de las ventas de aguacates mexicanos en el extranjero, después sigue Japón con 10.5% y Canadá con 6.4%. Las ventas de la exportación de aguacates por parte de nuestro país, en el 2007, alcanzaron casi los 530 millones de dólares; mientras que en el 2008 llegaron a 608 millones de dólares, (www.aguacate.gob.mx/index.php?portal=aguacate).

En el 2008 México exportó 288,632 Ton de aguacate, mientras que la producción nacional fue de 1,162,429 Ton. No existen datos específicos de la cantidad de aguacate que no cumple con las especificaciones para exportación, pero presumimos que fueran 868,318 Ton, de los cuales un porcentaje se destina para consumo nacional y otro porcentaje para la industria, ya que a partir de este fruto se obtienen otros productos como pulpas, guacamole, mitades o bien aceite, los cuales se exportan en su mayoría.

4.2.3 Proyecciones de la oferta.

La producción de aguacate en nuestro país ha mantenido un crecimiento sostenido a partir del año 2002, como se observa en la **Figura 8**.

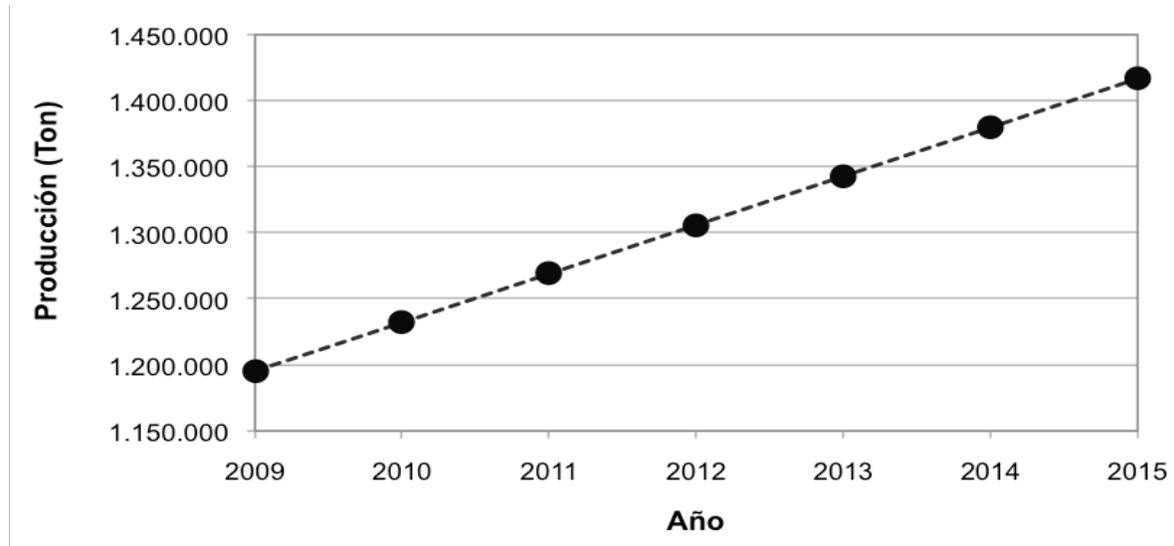


Figura 8. Proyección de la producción nacional de aguacate.

Elaboración propia con datos del SIAP

En la **Figura 8** se observa una tendencia a la alza, de la producción nacional de aguacate, con un $R= 0.924$. Por medio de este ajuste se prevé que para el año 2010 nuestro país producirá 1,232,461 Ton de aguacate, mientras que para el final de la proyección, que corresponde al año 2015, la producción alcanzará 1,416,710 Toneladas, en total habrá un incremento de casi 200 000 Toneladas en un lapso de 5 años, lo que indica un crecimiento importante. De igual manera, la tendencia de la producción de aguacate destinada a la exportación seguirá en aumento, como se observa en la **Figura 9**.

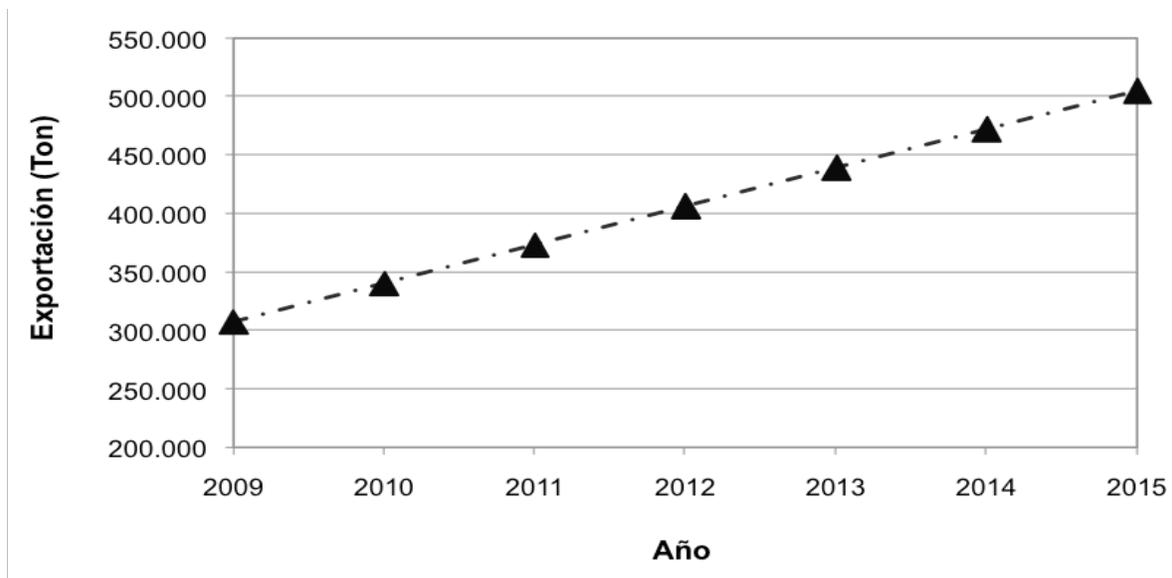


Figura 9. Proyección de las exportaciones de aguacate de México

Elaboración propia con datos del SIAP

En la **Figura** anterior se estima que para el año 2010 se exportarán 340,474 Ton, es decir, 65,901 Ton más que en el 2007, con un $R= 0.959$. Mientras tanto, en el año 2012 se destinarán 406,317 Ton, es decir, cada año se espera un aumento de 32,000 Ton aproximadamente que serán consumidas fuera de nuestro país, lo que va a generar el aumento de la cantidad de aguacate de bajo calibre, que son aquellos aguacates que no cumplen con las características para ser exportados y que se vende en mercados locales a precios menores.

Una alternativa para el aprovechamiento de aquellos volúmenes de aguacate de bajo calibre y que puede brindar un valor agregado al producto, es la industrialización de este fruto, del cual se pueden obtener diversos productos, por ejemplo, pulpa, guacamole, rebanadas o bien aceite.

4.2.4 Mercado para el proyecto.

Se busca vender el producto en zonas metropolitanas de México, donde existen 6,479,184 hogares que pueden adquirirlo, por lo tanto el mercado de nuestro

producto es de 203,187.21 Ton y nuestros clientes se ubican en la zona metropolitana del Valle de México, Guadalajara, Monterrey, Tijuana y Juárez.

V. Análisis de precios y comercialización

5.1 Precios

Los precios del aguacate se comportan en función de la estacionalidad de las cosechas de esta fruta, se divide en temporada alta y baja, la primera va de octubre a febrero y la segunda corresponde al resto del año. El precio más alto se registra principalmente en julio y agosto, cuando la oferta de la fruta se encuentra contraída, mientras que el precio más bajo se da entre diciembre y marzo mes en que se incrementa la oferta de aguacate en el mercado. La variación en el índice de precios del aguacate obedece a la estacionalidad de producción de la fruta, en la temporada baja de julio a septiembre es cuando el índice se dispara, (SIAP). En la **Figura 10** se presenta una síntesis histórica de los precios de aguacate Hass en nuestro país.

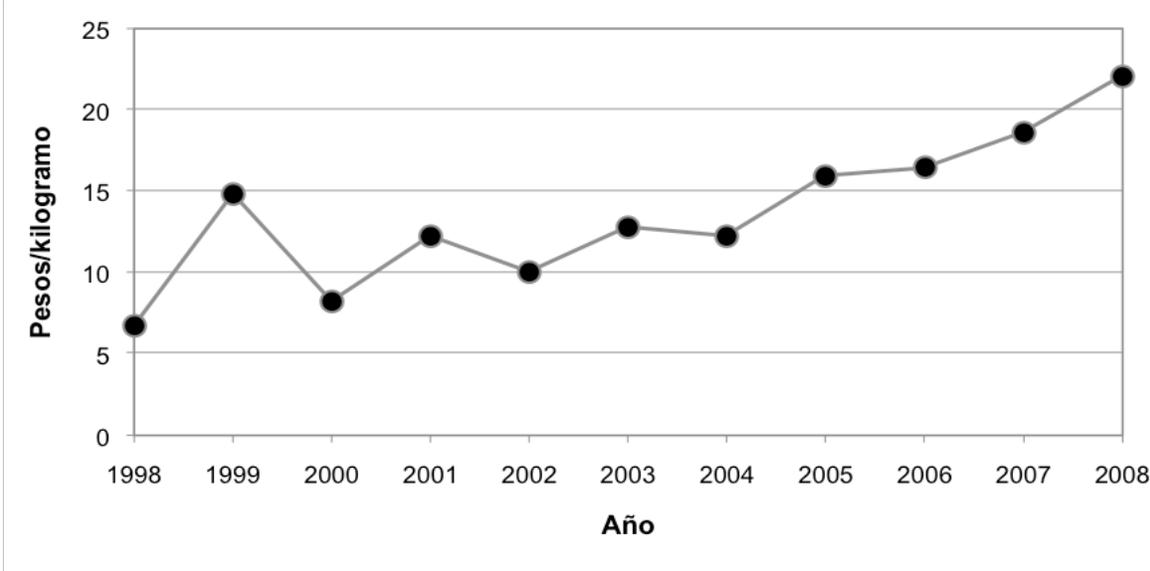


Figura 10. Síntesis histórica nacional de los precios de aguacate de primera.

Elaboración propia con datos del SNIIM: <http://www.economia-sniim.gob.mx/2010/CuadroAnualFRUanCons.asp?prod=133&uni=1&ori=T&pres=T&dest=T&x=38&y=11>

En la **Figura 10** se observa que, históricamente, el precio de aguacate ha incrementado, los precios más altos se encuentran a partir del año 2005, en el año 2008 el precio promedio de aguacate a nivel nacional aumentó 15.27 pesos por kilogramo en comparación del precio de este fruto en 1998, se puede ver un incremento en el precio de poco más del triple en un lapso de tiempo de 10 años. Al observar esta gráfica, se explica el hecho de que en el año de 1999 el valor de la producción de aguacate haya sido más alta en comparación de años posteriores, a pesar de haber sido menor en volumen, pues aquí se ve claramente que el precio fue mayor que varios años después; también se observa que el precio se recuperó hasta el año 2005, rebasando el existente en el 99, lo cual explica la recuperación del valor de la producción de aguacate ese mismo año.

En la Tabla 3 se presenta un cuadro comparativo de los precios promedio de los meses transcurridos en este año 2009, donde se observa el comportamiento de los precios de aguacate, debidos a la estacionalidad del fruto.

Tabla 5. Cuadro comparativo anual nacional de precios de aguacate.

Mes	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov
Precio	17.72	17.58	18.66	21.83	25.32	28.47	34.67	31.53	24.99	20.5	19.27

Aguacate Hass primera. Registros del año 2009. Precios por Unidad (kilogramo/pieza) (calculado)
 Datos: <http://www.economia->

sniim.gob.mx/2010/CuadroAnualCons.asp?prod=133&uni=1&ori=T&pres=T&dest=T&anio=2009

Como se observó en la **Tabla 5**, los precios más bajos se presentaron durante los dos primeros meses, el precio más alto se encontró en Julio pero comenzó a disminuir mes con mes, hasta llegar al precio de Noviembre, el cual es de 19.27 pesos.

Ahora bien, con los datos que se muestran aquí se obtiene el precio promedio de aguacate Hass a nivel nacional hasta el mes de noviembre de este año, el cual es de 24.21 pesos que esta por encima del obtenido en el año 2008.

Ya se observó que el precio de nuestra materia prima que es el aguacate, varia dependiendo de la temporada, pero el aguacate procesado comercial en presentación de guacamole tiene un costo de entre 30 y 35 pesos la libra. Nuestro producto tendrá un costo de 25 pesos la presentación de ½ kg, la cual es una aproximación, pues el valor real será obtenido al realizar el estudio financiero del producto.

5.2 Comercialización

Nuestro producto se dará a conocer a los consumidores por diferentes medios. Uno de ellos es la participación en congresos, ferias en el área de los alimentos, además de venderse en la propia planta. Otro medio es la distribución de nuestro producto en centrales de abasto, por medio de las cuales nuestro producto puede llegar al consumidor final.

VI. CONCLUSIONES

México ocupa el primer lugar en producción, exportación y consumo de aguacate a nivel mundial. En el año 2008 nuestro país tuvo una producción de 1,162,484.25 Ton de aguacate, de las cuales 802,114.13 Ton se consumieron en fresco, mientras que 139,498.11 se exportaron en fresco y 220,872 Ton se industrializaron; 71,738 Ton se estima fueron utilizadas en nuestro país para fabricar productos derivados del aguacate, es decir, pasta, guacamole y aceite, de los cuales una pequeña parte se comercializan en nuestro país, pues la mayor parte de la producción de pulpa y guacamole son exportados a Estados Unidos y Europa. El mercado potencial de nuestro producto, pulpa de aguacate, tiene como mercado potencial 6,479,184 hogares, los cuales se ubican en las zonas metropolitanas del Valle de México, Guadalajara, Monterrey, Tijuana y Juárez.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- CONAPO: Proyecciones de la población (www.conapo.gob.mx).
- Crane, J., and Balerdi, C. 2005. El aguacate en Florida. Universidad de la Florida.
- Dorantes-Alvarez, L., L. Parada-Dorantes, A. Ortiz-Moreno, T. Santiago-Pineda, A. Chiralt-Boix and G.V. Barbosa-Cánovas. 1998. "Efecto de compuestos Anti-oscurecimiento sobre la calidad de aguacates mínimamente procesados". *Food Science and Technology International* 4:107-113.
- Elez-Martínez, P., Soliva-Fortuny, R., Gorinstein, S., Martín-Belloso, O. 2005. Natural Antioxidants Preserve the Lipid Oxidative Stability of Minimally Processed Avocado Purée. *Journal of Food Science*, Vol. 70, Nr. 5.
- INEGI: Censo de población y vivienda, 2005 (www.inegi.gob.mx)
- INEGI: Encuesta Nacional de Ingreso y Gasto de los Hogares (ENIGH), 2008.
- INEGI: Perfil sociodemográfico de los Estados Unidos Mexicanos, 2008
- Soliva-Fortuny R., Elez-Martínez P., Sebastián-Calderón M., and Martín-Belloso O. 2004. Effect of combined methods of preservation on the naturally occurring microflora of avocado purée. *Food Control* 15, 1:11-17.
- Olaeta, J. 2003. Industrialización del aguacate: estado actual y perspectivas futuras. *Proceedings V World Avocado Congreso (Actas V Congreso Mundial del Aguacate)*. 749-754.
- Ortega M. A. (2003). Valor nutrimental de la pulpa fresca de aguacate Hass. *Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate)*. pp. 741-748.
- Salazar-García, S., Zamora-Cuevas, L., Vega-López, R. 2005. Actualización sobre la Industria del Aguacate en Michoacán, México. *California Avocado Society 2004-05 Yearbook* 87: 45-54.
- Sánchez S., Mijares Oviedo, P., López López, L., Barrientos Priego, A. F., *Historia del aguacate en México*. (http://www.avocadosource.com/Journals/CICTAMEX/CICTAMEX_1998-2001/CICTAMEX_1998-2001_PG_171-187.pdf).
- SNIIM: www.economia-sniim.gob.mx

www.aguacate.gob.mx

www.economia-sniim.gob.mx/2010/CuadroAnualCons.asp?prod=133&uni=1&ori=T&pres=T&dest=T&anio=2009

www.economia-sniim.gob.mx/2010/CuadroAnualFRUanCons.asp?prod=133&uni=1&ori=T&pres=T&dest=T&x=38&y=11

www.faostat.fao.org

www.inforural.mx

www.siap.gob.mx

http://app1.semarnat.gob.mx/dgeia/informe_04/01_poblacion/cap1_1.html