

**DETERMINACIÓN DEL LARGO DE VIDA DE PASTELITOS DE CALABAZA
(*CUCURBITA MOSCHATA*) HORNEADOS Y EMPACADOS EN ATMÓSFERA
MODIFICADA, MEDIANTE EL ESTUDIO DE SUS CARACTERÍSTICAS
FÍSICO-QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS**

Por

Ariana Méndez Alonso

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

EN

CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
Recinto Universitario de Mayagüez
Facultad de Ciencias Agrícolas
2013

Aprobada por

Lynette E. Orellana, Ph. D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

Edna Negrón, Ph. D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Ernesto Riquelme, Ph. D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Bryan Brunner, Ph. D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Edna Negrón, Ph. D.
Coordinadora del Programa

Fecha

Derechos de Autor Reservados ©
Ariana Méndez Alonso
2013

A mi Dios porque cada paso que doy es porque Él así lo dispone
A mi familia porque es por ustedes y por mí que realizo este esfuerzo
A mi novio, porque me has hecho ver la vida diferente, conocer el amor y soñar con un
futuro mejor
A mis amigos y profesores por los consejos, compañía, ayuda y fortaleza para siempre
continuar

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecerle a Dios que es mi fortaleza y mi apoyo, por permitirme llegar hasta aquí y darme el valor para superar las pruebas del camino.

Agradezco a mi familia porque aún sin entender bien lo que hago en la Universidad han confiado en mí y sus buenos deseos me dan fuerza para continuar y su amor incondicional también. En especial a mis padres Ana María Alonso Hernández y José Antonio Méndez Hernández.

Quiero agradecer a mi novio Eduardo J. Díaz por su amor y comprensión. Tu compañía en el laboratorio y fuera, además tus consejos permitieron que este camino fuera más sencillo. Eres mi amigo y mi gran amor.

A mi directora de tesis, la Doctora Lynette Orellana por su guía, cada vez que llegué a su oficina sin saber que hacer o como comenzar. Su apoyo y su fe en mí fueron de gran ayuda en alcanzar esta meta.

A la Doctora Edna Negrón, directora del Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos porque cuando estuve más desesperada encontró la manera de ayudarme para continuar con mi tesis.

Al Doctor Ernesto Riquelme por su apoyo en los detalles estadísticos de mi tesis.

Al Doctor Fernando Pérez por estar disponible para mí aún sin poder. Nunca me dijo que no y creyó muchísimo en mí. Usted es una persona maravillosa.

A la Dra. Rosa Chávez y la Dra. María Plaza por su gran apoyo y por permitirme utilizar los laboratorios y sus equipos.

A la Dra. Linda Wessel Beaver por donarme las calabazas que utilicé, sin su ayuda hubiese sido imposible realizar este proyecto.

A mi querida amiga y coordinadora Magaly Zapata, eres un ángel y que alegre fue compartir contigo.

Al personal administrativo del Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Gloria, Lani, Jaime, Don Rupert y Lilliam quienes me ayudaron siempre con tanta disposición.

A mis queridos amigos de Ciencia y Tecnología de Alimentos, hemos vivido muchas cosas juntos y crecí junto a ustedes, espero que todos puedan alcanzar esta meta.

A mis amigos de siempre, que como dicen son la familia que escogí.

A Luis en Preparaciones por suplirme de reactivos que no podía conseguir.

ABSTRACT

The shelf life of baked pumpkin ('Taína Dorada') cakes packed under modified packaging conditions was evaluated. The baked pumpkin cakes were packed in a nitrogen modified atmosphere and it was compared against a control group (packed in air). After packaging, the product was refrigerated at 4.0 °C for two months. The shelf life of the final product was evaluated every week with microbiological analysis for the detection of yeast and molds, coliform and anaerobic bacteria. Chemical and physical characteristics of the product were also measured including: carotenoid content, pH, oxidation-reduction potential, color, water activity and texture. The microbial growth of coliforms was not detected. Initial anaerobic bacteria present were 1.65 log CFU/g and finished being undetectable at day 56 in the product packed using nitrogen. A higher count of microorganisms was detected in the control group. Microbial growth of yeast and molds was similar for the product packed with either nitrogen or air. Total carotene content decreased through storage time and no significant differences were found between the control group and the treatment, but a higher concentration was found on the treatment. The pH slightly decreased with storage time. The oxidation-reduction potential increased with storage time for the pumpkin cakes packed with nitrogen and air. The color of the samples was also tested and no significant changes were found in the parameters L*, a* or b*, but those parameters presented a reduction at the end of the sampling. The water activity of the baked cakes showed no significant changes during storage for the two groups, while the texture analysis presented significant differences in hardness and cohesivity. After these observations it was concluded that the baked pumpkin cakes have a shelf life of two months with both gas atmospheres. These cakes can be a new option for pumpkin consumption and also can provide added value to the crop, supporting local agriculture.

RESUMEN

Se evaluó el largo de vida útil de pastelitos horneados de calabaza ('Taína Dorada') empacados bajo atmósferas modificadas. Los pastelitos de calabaza horneados fueron empacados en una atmósfera modificada con nitrógeno y se compararon con un grupo testigo (empacado en aire). Después de empacarse el producto se refrigeró a 4.0 °C por dos meses. El largo de vida útil del producto se evaluó por medio de un análisis microbiológico para la detección de hongos y levaduras, coliformes totales y microorganismos anaeróbicos. Además se evaluaron atributos químicos y físicos del producto terminado incluyendo: contenido de carotenoides, pH, potencial de oxidación-reducción, color, actividad de agua y textura. Al realizar el análisis microbiológico no se encontraron coliformes en el producto. El recuento de microorganismos anaeróbicos fue de 1.65 log CFU/g al inicio del almacenamiento disminuyendo hasta no ser detectables al día 56 de almacenamiento en el producto empacado bajo condiciones de nitrógeno. Recuentos mayores de microorganismos fueron detectados en el lote almacenado bajo condiciones de aire. Los conteos de hongos y levaduras fueron similares para el producto almacenado bajo nitrógeno y aire. El contenido de carotenos totales disminuyó a través del tiempo de almacenamiento y no hubo diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento; se encontraron concentraciones mayores en el tratamiento. El pH disminuyó levemente a través del tiempo de almacenamiento. El potencial de oxidación-reducción aumentó a través del almacenamiento para el empaque con nitrógeno y con aire. En las pruebas de color no se encontraron diferencias significativas en los parámetros L^* , a^* ó b^* , sin embargo éstos disminuyeron con el almacenamiento. La actividad de agua no presentó cambios significativos durante el almacenamiento para los dos grupos evaluados mientras que la textura presentó diferencias en la dureza y la cohesividad. Después de estas observaciones se concluyó que los pastelitos horneados de calabaza tienen un largo de vida útil de dos meses con las atmósferas gaseosas utilizadas. Estos son una nueva alternativa para el consumo de la calabaza y a su vez le brindan valor agregado a este fruto, fortaleciendo la agricultura local.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	Justificación	1
1.2	Objetivos	4
2	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1	La calabaza.....	5
2.1.1	Variedad ‘Taína Dorada’	6
2.1.2	Importancia económica en la isla.....	6
2.1.3	Composición de la calabaza y beneficios a la salud	6
2.2	Productos elaborados a base de calabaza	9
2.3	Microbiología de productos horneados	11
2.3.1	Crecimiento de hongos en productos de repostería.....	11
2.3.2	Incidencia de coliformes en productos de repostería	12
2.3.3	Microorganismos anaeróbicos y anaeróbicos facultativos en productos horneados	14
2.4	Parámetros Físicos - Actividad de agua	15
2.5	Parámetros Físicos - Textura en alimentos	17
2.6	Contenido de carotenos en alimentos.....	19
2.7	Medición de pH en alimentos	21
2.8	Potencial de Oxidación - Reducción en alimentos.....	22
2.9	El color en los alimentos	24
2.10	Las tendencias de los alimentos	25
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1	Obtención de la materia prima	27
3.2	Preparación de la materia prima.....	27
3.2.1	Proceso de despulpar calabaza.....	27
3.2.2	Caracterización de la pulpa de calabaza	27
3.3	Elaboración de los pastelitos horneados de calabaza	28
3.3.1	Formulación de la mezcla a base de calabaza	28
3.3.2	Elaboración de pastelitos horneados de calabaza.....	29
3.3.3	Empaque de pastelitos horneados de calabaza	29
3.4	Análisis microbiológico de pastelitos horneados de calabaza	29
3.4.1	Recuento de coliformes totales	30
3.4.2	Recuento de microorganismos anaeróbicos.....	30
3.4.3	Recuento de hongos y levaduras.....	30
3.5	Análisis de atributos físicos	31
3.5.1	Medida de actividad de agua	31
3.5.2	Análisis de textura	31

3.6	Análisis proximal	31
3.6.1	Determinación de humedad	31
3.6.2	Determinación de cenizas	32
3.6.3	Determinación de proteína bruta.....	32
3.6.4	Determinación de grasa cruda.....	33
3.6.5	Determinación de carbohidratos	34
3.7	Análisis de atributos químicos	34
3.7.1	Extracción de carotenos	34
3.7.2	Medida de pH y potencial de oxidación-reducción	35
3.7.3	Determinación de color.....	35
3.8	Análisis estadístico.....	36
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1	Efecto del tiempo de almacenamiento en la microbiología del producto	37
4.1.1	Recuento de coliformes	37
4.1.2	Recuento de microorganismos anaeróbicos	39
4.1.3	Recuento de hongos y levaduras.....	41
4.2	Análisis de atributos físicos de los pastelitos horneados y el efecto del tiempo de almacenamiento	42
4.2.1	Comportamiento de la actividad de agua a través del tiempo de almacenamiento	42
4.2.2	Cambios en la textura del producto terminado a través del tiempo de almacenamiento	44
4.3	Análisis proximal de los pastelitos de calabaza horneados	49
4.4	Análisis de atributos químicos de los pastelitos horneados y el efecto del tiempo de almacenamiento	50
4.4.1	Cambios en la concentración de carotenos a través del tiempo de almacenamiento	50
4.4.2	Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el pH de los pastelitos horneados de calabaza	52
4.4.3	Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el potencial de oxidación-reducción de los pastelitos horneados.....	53
4.4.4	Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el color de la muestra, parámetros L*, a* y b*.....	55
5	CONCLUSIONES.....	59
6	RECOMENDACIONES	62
7	REFERENCIAS.....	63
8	APÉNDICES	75
8.1	Resultados estadísticos.....	75
8.2	Calendario de la abundancia del Departamento de Agricultura de Puerto Rico.	92
8.3	Curva de calibración: Determinación de carotenos totales	93
8.4	Fotografías generales del proyecto de tesis.....	94

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Contenido nutricional en 100 g de <i>Cucurbita moschata</i>	8
Tabla 2. Concentración de los carotenos principales en calabacines maduros y en calabaza (Azevedo, 2007).....	8
Tabla 3. Contenido de carotenos en puré de calabaza escaldado, sin escaldar y con tratamiento térmico a 60 °C.....	20
Tabla 4. Medidas de pH para las pulpas de calabaza utilizadas.....	28
Tabla 5. Medidas de grados Brix para las pulpas de calabaza utilizadas.....	28
Tabla 6. Medidas de humedad para las pulpas de calabaza utilizadas.....	28
Tabla 7. Resultados de análisis actividad de agua durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	43
Tabla 8. Resultados de la prueba de dureza durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	45
Tabla 9. Resultados de la prueba de adhesividad durante dos meses de almacenamiento para los distintos tratamientos.....	47
Tabla 10. Resultados de la prueba de cohesividad durante dos meses de almacenamiento para los distintos tratamientos.....	48
Tabla 11. Análisis proximal de pastelitos horneados empacados en atmósfera gaseosa de aire y en atmósfera modificada con nitrógeno.....	50
Tabla 12. Diferencia en el contenido de carotenos totales en los pastelitos horneados de calabaza a través del tiempo de almacenamiento.....	52
Tabla 13. Resultados del análisis de pH durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	53
Tabla 14. Comportamiento del potencial de oxidación-reducción durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	54
Tabla 15. Cambios en el parámetro L* durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	57
Tabla 16. Cambios en el parámetro a* durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	57

Tabla 17. Cambios en el parámetro b* durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	57
Tabla 18. Cambios en el parámetro de Hue durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	58
Tabla 19. Cambios en el parámetro de Chroma durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del beta caroteno.....	8
Figura 2. Propiedades físicas y químicas importantes de los carotenoides (Rodríguez, 1997).....	19
Figura 3. Comportamiento de coliformes durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	39
Figura 4. Comportamiento de microorganismos anaerobios durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.....	40
Figura 5. Comportamiento de hongos y levaduras durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.	42
Figura 6. Efecto del tiempo de almacenamiento en la actividad de agua de los pastelitos horneados.....	44
Figura 7. Efecto del tiempo de almacenamiento en la dureza de los pastelitos horneados	46
Figura 8. Efecto del tiempo de almacenamiento en la cohesividad de los pastelitos horneados.....	48
Figura 9. Cambios en el contenido de caroteno a través del tiempo de almacenamiento según tratamientos.....	53

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación

La calabaza es una fuente de vitamina A (Arima y colaboradores, 1990), la cual juega un rol importante en el crecimiento normal del individuo y ayuda al desarrollo y mantenimiento de una piel saludable. Además contribuye al buen funcionamiento de las mucosas, es importante para la visión y tiene propiedades antioxidantes, entre otros. La calabaza también contiene otras vitaminas como lo son las vitaminas C, E, B1, B3 y B6, además es una buena fuente de fibra, (De Escada y colaboradores, 2009^a) componente que provee sensación de saciedad y también regula positivamente el tránsito intestinal al suavizar las mucosas del tracto gastrointestinal. La calabaza se utiliza tradicionalmente en guisos, sopas, en las habichuelas y como vianda en Puerto Rico. Ésta es cultivada en diferentes zonas geográficas y posee un amplio uso culinario.

La introducción de la calabaza en forma de pastelitos horneados contribuiría a fortalecer la agricultura puertorriqueña proveyéndole valor agregado a este fruto, ya que de acuerdo con la oficina de Estadísticas Agrícolas (Departamento de Agricultura, 2009), para el año 2007-08 la calabaza tuvo un valor de producción de 666,243 mil dólares y ocupó el segundo lugar en importancia económica entre todas las hortalizas de la isla. Otra ventaja que ofrece el uso de este fruto es que se encuentra disponible todo el año. Además la *Cucurbita moschata* consigue su hábitat ideal en zonas con clima de cálido a tropical por lo que Puerto Rico cuenta con las condiciones ideales para sembrarla y cosecharla (Estación Experimental Agrícola, 1998).

Los adelantos en la industria alimentaria, la preocupación del consumidor en torno a la seguridad de los alimentos y el estilo de vida global han llevado a algunos sectores de la población a adoptar nuevas tendencias en su alimentación. Las tendencias de los alimentos para el año 2012 mostraron que las personas buscan reducir los niveles de grasa que causan obesidad. Otra tendencia creciente es el consumo de meriendas saludables. Según el Instituto de Tecnólogos de Alimentos, se espera que para el 2015 la venta de meriendas empacadas aumente de 64 billones de dólares en el 2010a 77 billones de dólares en el 2015 (Salzman, 2011).

En los consumidores también se ha observado una mayor preocupación en la selección de la comida, como por ejemplo, porciones adecuadas y alimentos saludables, considerando el estilo de vida de la población. Otra tendencia importante por parte de los consumidores es la búsqueda de alimentos con beneficios a la salud conocidos como los alimentos funcionales. Los alimentos funcionales son los que cumplen una función mejorando la salud y ayudando a reducir el riesgo de enfermedades. Éstos pueden contribuir previniendo ciertas enfermedades crónicas debido a la presencia de sustancias fitoquímicas. Los fitoquímicos son sustancias que se encuentran en alimentos de origen vegetal y tienen efectos positivos a la salud. Los pastelitos horneados de calabaza aportan con estas sustancias, orientándose a las tendencias mencionadas y proveen una alternativa diferente para consumir esta hortaliza.

El contenido de carotenos en la calabaza le provee un valor nutricional importante. Los carotenos, más allá de ser importantes como pigmentos en los alimentos, son precursores de la vitamina A. Según Simpson (1983), se estima que un 60% de la vitamina A diaria consumida mundialmente proviene de las provitaminas A. Rodríguez (1997) presenta que la provitamina A se convierte a vitamina A cuando es necesario para el cuerpo de forma tal que se puede evitar toxicidad por excesos de esta vitamina. Los carotenoides promueven el sistema inmunológico y disminuyen el riesgo de enfermedades degenerativas como por ejemplo el cáncer (Mathews-Roth, 1985). La capacidad antioxidante de estos pigmentos es la responsable de sus propiedades beneficiosas. Los carotenos pueden capturar el oxígeno y desactivar radicales libres (Burton, 1989; Krinsky 1989; Palozza y Krinsky, 1992).

Otra ventaja que presentan los pastelitos horneados de calabaza es que son elaborados de manera lista para el consumo. Este hecho favorece al consumidor que busca alimentos de poca preparación o alimentos listos para comer. Esto es una tendencia que se mantiene creciendo comercialmente, debido en gran parte al estilo de vida moderno y ajetreado. Con este producto el consumidor tendrá una nueva alternativa en postres, meriendas u otras actividades sociales de acuerdo a su preferencia ahorrándole tiempo y teniendo un producto con beneficios a la salud.

Para poder llevar al consumidor un producto inocuo y de alta calidad es muy importante poder determinar el largo de vida útil del mismo. Para calcular este período de

tiempo en el cual un producto permanece en mejor estado, se deben monitorear diferentes parámetros físico-químicos y microbiológicos tomando en consideración la temperatura de almacenamiento.

Además es importante estudiar el efecto del tipo de empaque tanto en los atributos sensoriales del producto como en sus características químicas y microbiológicas. El empaque con atmósferas modificadas puede presentar ventajas para los pastelitos de calabaza horneados. Estudios realizados a otros productos horneados sugieren que a mayor concentración inicial de oxígeno en el empaque se favorecen características como: mayor razón de oxidación para las grasas (Lu y Fang, 2010) y un mayor conteo de microorganismos aeróbicos, hongos y levaduras. Por tanto, al utilizar un empaque bajo atmósferas modificadas con un contenido reducido de oxígeno podría inhibir el crecimiento de microorganismos aeróbicos y no favorecerá la oxidación de grasas (Sanguinetti y colaboradores, 2008). Este tipo de empaque puede promover mayor calidad a un producto como los pastelitos horneados de calabaza y protección desde el punto de vista microbiológico.

Elaborar un producto apetecible, de alta calidad y seguro desde los puntos de vista físico-químico y microbiológico es muy importante. Por eso al determinar el efecto del empaque bajo atmósferas modificadas en el largo de vida útil de los pastelitos horneados de calabaza y en el estado físico, químico y microbiológico de éstos se puede asegurar que el consumidor tendrá un producto de alta calidad. Por otro lado se le puede añadir valor agregado a un producto de la agricultura local y se puede desarrollar una visión positiva con respecto a la elaboración de productos nuevos en el país.

1.2 Objetivos

El objetivo principal de este estudio es evaluar el efecto del almacenamiento bajo atmósferas modificadas sobre las características físico-químicas y microbiológicas de los pastelitos horneados de calabaza para poder determinar el largo de vida útil de este producto.

Objetivos específicos:

1. Medir el cambio en la actividad de agua, textura, pH, potencial de oxidación-reducción y color a través del tiempo de almacenamiento.
2. Realizar análisis microbiológico del producto a través del tiempo de almacenamiento, incluyendo recuento de coliformes, microorganismos anaeróbicos, hongos y levaduras.
3. Realizar análisis proximal al producto terminado.
4. Medir contenido de carotenos totales en el producto terminado.
5. Determinar la atmósfera gaseosa apropiada para el empaque del producto.
6. Determinar el largo de vida útil de los pastelitos horneados de calabaza en ambas atmósferas gaseosas.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 La calabaza

La calabaza pertenece al género *Cucurbita* de la familia de las cucurbitáceas. Sus especies son cultivadas por sus frutos, flores y semillas comestibles. El género *Cucurbita* incluye cuatro especies que tienen similitud en la morfología de la planta y del fruto. Estas especies son: *C. moschata*, *C. pepo*, *C. maxima* y *C. argyosperma*. La *Cucurbita moschata* predomina en zonas tropicales del Caribe y en Latinoamérica y está bien adaptada al clima de los trópicos húmedos (Valdez, 1991).

La calabaza es una hortaliza que se puede sembrar prácticamente en todo Puerto Rico y en cualquier época del año ya que el clima es adecuado para su producción tanto en las zonas montañosas como en las costas. Las diferencias en temperatura que pueden existir en la isla durante todo el año no son significativas así que no limitan la siembra de este cultivo (Estación Experimental Agrícola, 1998).

Las plantas de calabaza requieren una alta intensidad de luz por lo que es preferible que sean expuestas a pleno sol. Si se siembran de forma intercalada pueden tolerar algo de sombra aunque van a dominar otros cultivos en competencia por luz solar (Ferriol, 2006).

Las temperaturas óptimas para un mejor crecimiento de la planta y un fruto de mayor calidad son de 18.3-23.8 °C. A temperaturas menores de 7.2-10 °C se detiene la actividad vegetativa de la planta y ocurren lesiones en ésta y en el fruto ocasionadas por el frío (Valdez, 1991). Esta hortaliza requiere también que haya riego disponible y que su cosecha no coincida con épocas de mucha lluvia.

La calabaza posee la peculiaridad de que al almacenarse óptimamente puede mantenerse a temperatura ambiente durante bastante tiempo sin necesidad de refrigerarse. Esto contribuye a mejorar su color interno, sabor y consistencia (Beaver, 2009). La pulpa de la calabaza está formada principalmente por el mesocarpo que cuenta con un grosor entre 3.0 y 10 cm. Tiene una textura que puede ser de suave a firme y su color puede variar de amarillo a anaranjado intenso que se debe a la presencia de pigmentos carotenoides (Ferriol, 2006).

2.1.1 Variedad ‘Taína Dorada’

La *Cucurbita moschata* variedad ‘Taína Dorada’ es una variedad nueva desarrollada por la Estación Experimental Agrícola en los últimos años (Beaver, 2009). Los frutos de esta variedad pesan de 2.7 a 3.6 kg, aproximadamente y se mejoraron para que cuenten con una pulpa más gruesa y anaranjada. También presentan un contenido de materia seca y de sólidos solubles mayor que la variedad ‘Soler’. La doctora Linda Wessel Beaver recalca que estas nuevas variedades, derivadas de hibridaciones naturales, presentan varias ventajas al consumidor. Su tamaño de fruto es más apropiado para la venta en supermercados y la calidad de la pulpa es superior a la de la variedad ‘Soler’ (Beaver, 2009). Sin embargo, presenta la desventaja de ser menos productiva que la variedad ‘Soler’. Además es más susceptible a enfermedades que la variedad antes mencionada aunque si se maneja adecuadamente su rendimiento puede mejorar (Estación Experimental Agrícola, 2012)

2.1.2 Importancia económica en la isla

Según el Departamento de Agricultura de Puerto Rico (2009), 64.5% de la producción comercial de calabaza proviene de proyectos desarrollados en la Costa Sur de la isla; el 21.6% de producciones en Guánica y un 13.9% de proyectos privados en la isla.

Entre las hortalizas producidas en la isla, la calabaza *Cucurbita moschata* Duchesne ocupó el segundo lugar en importancia económica. De acuerdo con la oficina de Estadísticas Agrícolas (Departamento de Agricultura, 2009), para el año 2008-09 la calabaza representó un 16.4% del valor total por venta de hortalizas. Para el año mencionado se produjeron 8,500 toneladas métricas que en la finca tenían un valor de 672.28 dólares por tonelada. Esto genera un valor de producción de 5.75 millones de dólares.

2.1.3 Composición de la calabaza y beneficios a la salud

Datos adquiridos del Agricultural Research Service (USDA Agricultural Research Service, 2010), presentan que la calabaza *Cucurbita moschata* posee como componente

principal agua, con aproximadamente 88.72 gramos por cada 100 gramos de pulpa. Tiene bajos niveles de carbohidratos (8.80 g/100g pulpa) y de grasa (0.23g/100g pulpa). De forma tal que 100 gramos de calabaza tienen un aporte de 37 calorías aproximadamente, para una dieta de 2,000 calorías. El contenido elevado de agua en la calabaza y su bajo aporte calórico hacen que la calabaza sea un alimento ideal en dietas para perder peso. La Tabla 1 muestra el contenido nutricional en 100 gramos de calabaza *Cucurbita moschata*.

La calabaza provee vitaminas a la alimentación. Esta hortaliza se destaca principalmente por ser una fuente de carotenos. Algunos carotenos son precursores de la vitamina A, esencial en la dieta (Arima y colaboradores, 1990), confiriéndole capacidad antioxidante. Los principales carotenoides aislados de la calabaza son el beta caroteno, alfa caroteno y luteína, siendo el beta caroteno el más abundante. Los agentes antioxidantes, como los carotenos, permiten la neutralización de radicales libres, especies altamente oxidantes que se generan con el efecto de la reacción del oxígeno o de la luz en la grasa de los alimentos. Además los radicales libres producen degeneración celular. Desde el punto de vista nutricional el beta caroteno contribuye a prevenir ciertos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y degeneración macular (Gleiemmo, 2009). En la Tabla 2 se muestra la concentración de distintos carotenos en calabacín maduro y en calabaza. En la Figura 1 se presenta la estructura química del beta caroteno.

Tabla 1. Contenido nutricional en 100 g de *Cucurbita moschata*.

Componente	Cantidad
Calorías	37
Agua	88.72 g
Carbohidratos	8.80 g
Grasas	0.23 g
Proteínas	1.45 g
Fibra	1.50 g
Cenizas	0.80 g
Calcio	31.0 mg
Fósforo	32.0 mg
Potasio	350.0 mg
Magnesio	21.0 mg
Hierro	0.58 mg
Tiamina	0.097 mg

(USDA, ARS, 2010). Las cantidades se presentan en base húmeda

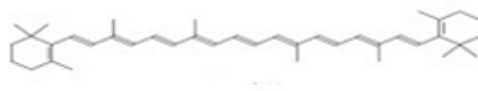


Figura 1. Estructura química del beta caroteno (Meléndez A.J., et al., 2007)

Tabla 2. Concentración de los carotenos principales en calabacines maduros y en calabaza (Azevedo, 2007).

Vegetal	Concentración ^a (µg/g)				
	β-caroteno	α-caroteno	luteína	violaxantina	neoxantina
<i>C. moschata</i> 'Menina brasileira'	66.7 ± 9.1	26.8 ± 5.1	17.4 ± 3.5	ND ^b	7.8 ± 2.1
<i>C. moschata</i> 'Goianinha'	56.7 ± 7.6	23.8 ± 3.3	18.3 ± 5.0	Tr ^c	6.3 ± 1.7
<i>C. maxima</i> 'Exposição'	15.4 ± 4.2	ND	10.7 ± 3.9	20.6 ± 3.3	9.8 ± 1.9
<i>C. maxima</i> x <i>C.</i> <i>moschata</i> hybrid 'Tetsukabuto'	30.5 ± 5.4	Tr	56.6 ± 9.7	21.9 ± 5.0	14.4 ± 3.0
<i>C. pepo</i> 'Mogango'	5.4 ± 1.6	ND	9.8 ± 2.9	6.9 ± 2.2	3.6 ± 1.4

^a Media y desviación estándar de 5 muestras recolectadas a diferentes tiempos para cada variedad. ^b No detectado. ^c Trazas (<0.2 µg/g)

La calabaza también aporta otras vitaminas como lo son las vitaminas C, E y algunas vitaminas del complejo B. Entre los minerales que este fruto aporta se encuentra el potasio, en mayor cantidad; aunque contiene otros como lo son: fósforo, magnesio, calcio, cobre, azufre y zinc (USDA, Agricultural Research Service, 2010). También se considera una buena fuente de hierro (De Escada y colaboradores, 2009^a.)

La cumarina es otro ingrediente que posee la calabaza con importante potencial antioxidante, así como el licopeno que se encuentra en la pulpa (Aziah y Noor, 2009). Este fruto se considera una fuente importante de aminoácidos como: alanina, arginina, glicina, histidina e isoleucina, siendo muchos de éstos aminoácidos indispensables por la importancia que tiene la ingesta de los mismos en la salud (Aziah y Noor, 2009). Un ejemplo de esto es la histidina; se ha demostrado que dietas bajas en este aminoácido producen una disminución en la hemoglobina (FAO/WHO/ONU, 1985).

2.2 Productos elaborados a base de calabaza

A pesar de que en Puerto Rico se acostumbra utilizar la calabaza principalmente como verdura, en guisos o hervida, De Escada y colaboradores, (2009^a) describieron el tejido del mesocarpo de la calabaza *Cucurbita moschata* como una matriz alimenticia rica en fibra y una buena fuente de hierro. La calabaza es también un material crudo prometedor para el desarrollo de alimentos nuevos y funcionales. Estudios realizados por De Escada y sus colaboradores (2009^a) mostraron además, la preferencia de la calabaza *Cucurbita moschata* por los consumidores. También les llamó la atención la ventaja que presenta esta hortaliza ya que puede ser utilizada para desarrollar productos alimenticios tanto salados como dulces, ampliando su utilidad.

La harina de calabaza es un producto procesado común en Latinoamérica que se obtiene de la pulpa de la fruta. La harina tiene la ventaja de poderse almacenar de manera fácil y se puede utilizar para la manufactura de diferentes formulaciones alimenticias (Que y Mao, 2008), como la elaboración de fideos o pasta, en panes y bizcochos. Esto le puede proporcionar varios nutrientes a estos alimentos y contribuye en el sabor. Noor y Komathi (2009) compararon harina de trigo comercial con harina a base de calabaza en

términos de atributos físico- químicos y propiedades funcionales. La harina de calabaza resultó ser más atractiva en términos de color y un mayor contenido de nutrientes que la harina comercial. La actividad de agua y contenido de humedad fueron menor que la harina convencional sugiriendo un mayor largo de vida útil. Por otra parte Pittchkina (1998) encontró que la adición de harina de calabaza a una formulación de pan con harina de trigo contribuyó a añadirle volumen al pan y a mejorar su calidad organoléptica.

De la pulpa de la calabaza se ha extraído pectina. La pectina es un polisacárido natural que constituye la pared celular de plantas superiores. Este polisacárido tiene varias propiedades funcionales, al ser combinado con agua y otras sustancias puede actuar como un espesante, agente gelificante, estabilizador, emulsionador y promueve la unión de cationes, entre otros (Bottger, 1990). Además la pectina extraída a partir de calabaza se puede utilizar para la producción de suplementos alimenticios y para preparaciones medicinales (Ptichkina y colaboradores, 2008)

Otro producto elaborado a base de calabaza es el puré. El puré de calabaza es un producto de humedad intermedia que se puede utilizar para la manufactura de jaleas, mermeladas, dulces y bebidas, entre otros (Dutta y colaboradores, 2006). En ocasiones este producto puede tener una textura muy blanda y su sabor puede ser inaceptable. Este puré se puede combinar con otros purés de frutas para mejorarle las características organolépticas y añadirle bioactividad (nutrientes biológicamente activos) (Nawirska y colaboradores, 2011). El puré de calabaza puede ser elaborado con la adición de ácido ascórbico y sorbato de potasio para preservar el color. Si esto se combina con un empaque adecuado y temperatura se pueden mejorar los atributos sensoriales y la calidad nutricional de este producto, (Gleiemmo y colaboradores, 2009). En el Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Puerto Rico en Mayagüez se elaboró una formulación a base de calabaza que se puede consumir frita u horneada de acuerdo a la preferencia del consumidor. Actualmente esta formulación se vende en supermercados (Navas y colaboradores, 2011).

En esta investigación se presentan los pastelitos horneados como una alternativa nueva para el consumo de esta hortaliza. Éstos consisten en una formulación a base de

calabaza *Cucurbita moschata*, variedad ‘Taína Dorada’ y otros ingredientes. Una vez horneada la mezcla está lista para consumirse.

2.3 Microbiología de productos horneados

Los productos de repostería y postres forman una parte importante de la dieta en nuestra sociedad. Hoy día los supermercados cuentan con una amplia variedad de éstos ya sea refrigerados, congelados o almacenados a temperatura ambiente. Algunos de estos productos no son necesariamente dulces como los panes y los panecillos. Entre los dulces se encuentran los muffins, panqueques, bizcochos, galletas y postres rellenos. Al igual que muchos alimentos procesados, los antes mencionados sufren de deterioro químico, físico y microbiológico.

En productos de repostería que poseen un contenido de humedad de bajo a intermedio el largo de vida útil está determinado principalmente por los factores químicos o físicos del alimento. Mientras que el deterioro microbiológico se observa principalmente en alimentos de humedad alta, como por ejemplo aquellos con una actividad de agua mayor de 0.85 (Smith y colaboradores, 2004). Diferentes productos de repostería se han visto implicados en brotes de patógenos transmitidos por alimentos. Algunos microorganismos implicados han sido: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp, *Bacillus cereus* y *Clostridium botulinum*. Este último se encuentra en productos de repostería con alta humedad y que sean empacados en atmósfera modificada libre de oxígeno.

2.3.1 Crecimiento de hongos en productos de repostería

Los bizcochos poseen características que los hacen susceptibles a crecimiento fúngico; tienen nutrientes abundantes, pH cercano al neutro y una actividad de agua adecuada (Fustier y colaboradores, 1998). Entre las estrategias utilizadas en diferentes estudios para prevenir este problema se encuentran la adición de preservativos y el control de otros factores que promueven el crecimiento de hongos. Algunos de ellos son actividad de agua, temperatura y la atmósfera gaseosa de este tipo de alimentos (Sofos y Busta 1981). Smith y colaboradores (1998) encontraron que en un bizcocho de esponja

español (“Spanish cake”) bajo una atmósfera modificada con CO₂ va a variar en su efecto como preservativo dependiendo principalmente de la concentración del gas, de la actividad de agua del alimento, del organismo y del período de incubación.

En un estudio realizado con bizcocho de esponja se encontró que un pH de 6.00, una actividad de agua de 0.80 y una atmósfera modificada de 100% nitrógeno fueron suficientes para prevenir el crecimiento de los hongos *Eurotium repens* y *Eurotium rubrum*. Sin embargo, para controlar el crecimiento de otras especies de este mismo género de hongos se necesitó añadir una concentración de 0.05% de sorbato de potasio. Encontraron también que a medida que la actividad de agua del producto incrementó en una atmósfera modificada, necesitaron aumentar la concentración de este preservativo para controlar el crecimiento fúngico. Se encontró, que al aumentar la actividad de agua algunos hongos fueron menos afectados por la atmósfera modificada de nitrógeno (Guynot y colaboradores, 2005)

Estudios realizados por Abellana y colaboradores (1997) en productos de repostería demostraron que la microflora típica causante de deterioro en estos productos consistía de especies xerofílicas de los géneros *Eurotium*, *Aspergillus* y *Penicillium*. Si el procesamiento de estos productos y la actividad de agua son controlados disminuye el riesgo de *Penicillium* y *Aspergillus*.

La mayoría de las esporas fungales son destruidas al aplicarle calor por inactivación térmica (Earle y Putt, 1984; Legan, 1993). Sin embargo, durante el procesamiento puede ocurrir contaminación post proceso por esporas de hongos que se encuentren en el medio ambiente o en las superficies de los equipos y utensilios utilizados. La contaminación puede ocurrir al enfriar, rebanar o empacar estos productos y es inevitable. En las superficies que se maneja este tipo de alimentos se puede encontrar una amplia variedad de hongos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Eurotium* (Ji y colaboradores, 2010).

2.3.2 Incidencia de coliformes en productos de repostería

El conteo de coliformes y *Escherichia coli* es ampliamente utilizado para evaluar las condiciones de salubridad de plantas procesadoras de alimentos ya que estos son organismos indicadores de contaminación fecal. Los coliformes pertenecen a la familia

Enterobacteriaceae y se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y en el tracto gastrointestinal de humanos y de animales. Este tipo de microorganismos puede ser eliminado con técnicas adecuadas de limpieza y desinfección y con tratamiento térmico.

En un estudio realizado en tartas de queso en Turquía se evaluó la presencia de coliformes en el producto terminado. Ya que las tartas fueron procesadas utilizando calor no se esperaba presencia de estos microorganismos en el muestreo, efectivamente encontraron que los conteos de coliformes y *Escherichia coli* fueron menores de 10 unidades formadoras de colonia por gramo (Aydin y colaboradores, 2009). Karaoglu y colaboradores (2005) realizaron un estudio a pan horneado a diferentes temperaturas y con preservativos donde determinaron la incidencia de coliformes. En su estudio encontraron que el uso del preservativo propionato de calcio disminuyó el conteo de estos microorganismos en el pan a 20 °C. El pan sin aditivos presentó recuento de coliformes de 8 Log UFC/g mientras que con aditivos el recuento fue de 2 Log UFC/g, presentando una disminución de 6 unidades logarítmicas en el conteo microbiológico. Al evaluar un pan re-horneado se encontraron conteos de coliformes de <2 Log UFC/g posterior al almacenamiento. El estudio relacionó al incremento en el tiempo de horneado del producto la disminución en el recuento de coliformes y otros microorganismos y panes re-horneados tuvieron conteos menores que aquellos que no pasaron por este proceso. En pan refrigerado y re- horneado estos microorganismos se encontraron en cantidades de 2 Log CFU/g. Los factores que incrementaron el largo de vida útil de este producto fueron la combinación del uso de preservativos con un tiempo adecuado de horneado o re-horneado y la temperatura de almacenamiento, lo que también contribuyó con una textura adecuada para este tipo de alimento.

En un estudio realizado en el Reino Unido se inocularon productos de repostería con tres cepas de *Escherichia coli*: O 157:H7, O 111: H-, O 26: H11, productores de verotoxina y se monitorearon por 12 meses almacenados a 10, 22 y 38 °C. En dicho estudio se encontró que estas bacterias pueden sobrevivir en productos con una actividad de agua menor de 0.90 y mientras menor la temperatura su supervivencia aumentó (Baylis y colaboradores, 2004). Este estudio se comparó con estudios anteriores realizados a *Salmonella* sp. en chocolate donde se encontró un patrón de supervivencia similar a este microorganismo estableciendo que los métodos utilizados para prevención de

Salmonella en la industria de confección de productos de repostería pueden ser utilizados para *Escherichia coli* incluyendo las especies enterotoxigénicas.

2.3.3 Microorganismos anaeróbicos y anaeróbicos facultativos en productos horneados

Muchos microorganismos son inactivados durante el horneado. Sin embargo, en el centro de estos productos puede haber supervivencia debido a que la temperatura puede no ser tan alta como en la superficie (Leuschener y colaboradores, 1997). Otro estudio realizado en pan por Leuschener y colaboradores (1999) reveló que pan parcialmente horneado con soda, empacado en atmósferas modificadas y refrigerado a 4 °C fue estable microbiológicamente por 13 semanas. El producto no presentó crecimiento de *Bacillus* sp. que es un microorganismo anaeróbico facultativo. Karaoglu y colaboradores (2005) encontraron que pan almacenado a 4 °C mostró un crecimiento microbiano menor que pan almacenado a temperatura ambiente.

Beattie y Williams (2002) estudiaron el crecimiento y la formación de enterotoxinas diarreicas de *Bacillus cereus* en postres con almidón y flanes. En el estudio se encontró que la formación de toxinas no se vio afectada por la tasa de crecimiento del microorganismo, pero si se afectó con una atmósfera modificada de nitrógeno y con valores extremos de pH. Un rango de pH entre 6 y 8 no previno la producción de la toxina y en condiciones anaeróbicas no hubo producción de enterotoxina. El estudio encontró además que con temperaturas de almacenamiento más bajas se restringió el crecimiento de cepas mesofílicas y sicrotróficas de *Bacillus cereus* en los postres examinados.

La contaminación de alimentos por *Clostridium botulinum* no es muy común a menos que alimentos derivados de la tierra sean manejados incorrectamente (Mead, 1992). Así que, postres elaborados con frutas o vegetales frescos están expuestos a contaminación con este patógeno. Para que este microorganismo, anaeróbico estricto, cause envenenamiento en alimentos necesita multiplicarse bajo condiciones favorables. Las clostridias más importantes asociadas a brotes en alimentos son: *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens* (Hatheway, 1992; Peck, 2002).

El Comité Asesor en la Inocuidad Microbiológica de los Alimentos (ACMSF, por sus siglas en inglés) recomienda diferentes estrategias para eliminar riesgos de *Clostridium botulinum* en alimentos listos para el consumo. Estas incluyen almacenamiento a una temperatura de 4 °C o menos, que se le confiera al alimento un tratamiento 12 D, como por ejemplo 90 °C por 10 minutos, dependiendo del alimento en cuestión, añadir preservativos y/o la combinación de los antes mencionados (Advisory Committee on the Microbiological Safety of Foods, 1992).

Del Torre y colaboradores (2004) inocularon *Clostridium botulinum* en un postre italiano conocido como “gnocchi”. El conteo de anaerobios totales de este producto fue alto antes de pasteurizar y hubo presencia de esporas. Luego de pasteurizarlo se observó una disminución en la flora microbiana, la cual no incrementó luego de un almacenamiento a 8 °C. Este producto mantuvo un largo de vida útil de 50 días con adición de sorbato de potasio como preservativo. Se encontró que en el postre control (sin adición de sorbato de potasio) hubo contaminación de anaerobios facultativos. En cinco muestras de este producto: dos que no estaban almacenadas a bajas temperaturas, dos muestras de los ingredientes para la receta y una de gnocchi almacenado a 8 °C por 50 días se encontraron bacilos Gram positivos, anaerobios obligados, catalasa positivos. Estos presentaron resultados negativos a *Clostridium botulinum*. Solo en muestreos realizados a ingredientes, previo a la pasteurización, se encontraron 18 muestras presuntivas de este patógeno de un total de 59 muestras y no se le realizaron estudios posteriores. El estudio concluye que se encontró esta clostridia en los ingredientes, pero en el producto almacenado a bajas temperaturas y con la adición de sorbato de potasio se inhibió su presencia durante 75 días de muestreo. Esto concuerda con las recomendaciones de la ACMSF en las guías para minimizar la incidencia de botulismo en alimentos.

2.4 Parámetros Físicos - Actividad de agua

La actividad de agua es un parámetro crítico que influencia la estabilidad de productos alimenticios. En términos microbiológicos afecta el crecimiento de

microorganismos y en términos de calidad interviene en reacciones que determinan la degradación de productos alimenticios. La actividad de agua se define como la presión de vapor del agua en el alimento sobre la presión de vapor del agua pura y su valor máximo es de 1. La actividad de agua también se define como el agua que se encuentra disponible para crecimiento microbiano. Como este parámetro afecta principalmente la movilidad molecular (relación directamente proporcional con el a_w), también puede contribuir a los cambios en las propiedades físicas de los alimentos como dureza, cristalización y viscosidad, entre otros (Rhaman y Labuza, 1999). Por lo tanto, la percepción de un alimento en términos de textura también es afectada por ésta.

La migración de agua de un alimento al medio ambiente o viceversa va a generar un producto con características organolépticas indeseables, como una dureza no apropiada y/o puede inducir al crecimiento de microorganismos con el incremento en la actividad de agua del producto (Brody y colaboradores, 2008).

Roca y colaboradores (2006) reportaron que en productos alimenticios la migración de agua se debe a diversos mecanismos de transporte de humedad presentes en éstos. Por ejemplo, se promueve por la complejidad de las matrices de los alimentos, como la porosidad y la composición (la manera en la que el agua interactúa con los diversos constituyentes) (Pernille y Risbo, 2007). Sin embargo, la difusión es el mecanismo principal para la migración de agua en un alimento (Roca y colaboradores, 2006). La difusión es un proceso que no requiere aporte energético en el cual un disolvente y otras partículas migran a favor del gradiente de concentración.

Estudios revelan que la difusibilidad efectiva aumenta con el contenido de humedad del alimento, de igual manera el contenido de grasa del alimento influye en este proceso. Cuando la grasa se encuentra dispersada en el alimento cohibe la migración del agua del producto sólido debido a sus características hidrofóbicas, disminuyendo la difusibilidad efectiva (Roca y colaboradores 2006).

Van Nieuwenhuijzen y colaboradores (2008) estudiaron como la actividad de agua y el contenido de humedad afectan la corteza crujiente de panes. Al realizar análisis sensorial y pruebas con el texturómetro encontraron que es principalmente el contenido de humedad el que tiene un efecto decisivo en el punto de transición cuando un producto alimenticio pierde sus características crujientes. En su estudio se buscaba relacionar el

crujiente percibido por panelistas y la fuerza necesaria para que el texturómetro rompiera las muestras. Ellos concluyeron que alimentos con un contenido de humedad alto tienen una distribución de agua menos homogénea y esto permite que el alimento tenga zonas más y menos crujientes, un alimento que tenga una actividad de agua mayor será menos crujiente.

La actividad de agua y la temperatura de almacenamiento son factores importantes que influyen el crecimiento de hongos en alimentos (Wheeler y colaboradores, 1988). La determinación de la actividad de agua se utiliza desde el punto de vista microbiológico para tener una idea de qué tipo de microorganismos pueden estar presentes en un producto. En conjunto con otros factores intrínsecos y extrínsecos de los alimentos, este atributo físico se utiliza como un indicador de posible propagación tanto de patógenos como de metabolitos producidos por éstos (Vytřasová y colaboradores, 2002). Hay que tomar en cuenta que la actividad de agua no es constante y sufre cambios durante el procesamiento y el almacenamiento de productos alimenticios.

Guynot y colaboradores (2005) evaluaron el crecimiento de hongos en bizcocho de esponja controlando diferentes factores físico-químicos. La actividad de agua se evaluó a 0.80, 0.85 y 0.90. Aunque este tipo de bizcochos tiene un a_w de 0.75-0.85 este valor puede incrementar si son empacados estando calientes aún, porque se genera condensación de agua dentro del paquete. Ellos encontraron que la actividad de agua es uno de los factores determinantes del crecimiento de microorganismos en productos de humedad intermedia, como el bizcocho de esponja. Abellana y colaboradores (1999) encontraron que la reducción de a_w en productos análogos disminuyó el deterioro a causa de crecimiento microbiano.

2.5 Parámetros Físicos - Textura en alimentos

Uno de los atributos más importantes de un pastel horneado es su frescura. La pérdida de frescura es un proceso bastante complejo que afecta la pérdida de sabor, cambios en la textura, pérdida de terneza y redistribución de la humedad, que puede causar sequedad en el producto (Sych y colaboradores, 1987). Los factores antes mencionados van a disminuir la aceptabilidad de los consumidores por un producto dado. Así que, el largo de vida útil de un producto horneado está determinado por las

características físicas que contribuyen a su textura y sus atributos sensoriales relacionados a la frescura (Guy, 1983). Entre éstos se encuentran: ternura, compresibilidad, fuerza, elasticidad y cohesividad, entre otros. Según Gelinas y colaboradores (1999) la textura de pasteles va a depender de la formulación del producto, la actividad de agua y las condiciones de almacenamiento.

El aumento de la firmeza de un pastel se asocia usualmente con el proceso de retrogradación. Sin embargo, ésta no es la única causa del incremento en la firmeza de estos productos. En la pérdida de frescura y el aumento de la firmeza de productos de repostería pueden ocurrir diferentes procesos como: transferencia de agua, solubilidad de coloides y degradación de componentes como proteínas y lípidos (Gómez y colaboradores, 2009).

En un estudio realizado para observar los cambios en la textura de bizcochos a través del almacenamiento se encontró que, en aquellos que tenían en su formulación grasa y polvo de hornear, la temperatura de almacenamiento no tuvo efecto significativo en el volumen, densidad y pérdida de agua y la textura fue similar a la medida inicialmente. En bizcochos con una formulación con niveles reducidos de grasa se observó que al ser almacenados a temperaturas más bajas se presentaron cambios en la firmeza y gomosidad. El contenido de fibra en pequeñas cantidades disminuyó el proceso de retrogradación, al igual que la adición de goma xanthan (Gómez y colaboradores, 2009).

Ying y colaboradores (2010) estudiaron el efecto de aditivos en la textura de bizcochos de arroz. Los aditivos añadidos fueron carboximetil celulosa (CMC), alfa amilasa, beta amilasa y goma xanthan, en bizcochos almacenados a temperatura ambiente. Se les realizó prueba de dureza y les midió la razón de retrogradación. El orden de aceptabilidad de los aditivos de mayor a menor fue beta amilasa, CMC y goma xanthan. La alfa amilasa no presentó mejoras en la textura del producto. Con excepción de esta última, la textura del bizcocho de arroz siempre mejoró con la adición de preservativos. Se encontró que el efecto de éstos en mantener la frescura de los bizcochos de arroz es debido a que retardan el proceso de retrogradación. La formulación de los alimentos, la temperatura de almacenamiento y factores físico-químicos tienen efecto en

la textura de éstos, así que el estudio de estos atributos puede ayudar a incrementar el largo de vida útil de los mismos.

2.6 Contenido de carotenos en alimentos

La deficiencia de vitamina A sigue siendo un problema serio en la salud pública en los países en desarrollo. Así que, las fuentes dietarias y la adecuación de las provitaminas A continúan siendo una preocupación principal. Por otra parte, el enfoque en el mundo desarrollado está girando en torno a los otros efectos de promoción de la salud de los carotenoides (Rodríguez, 1997).

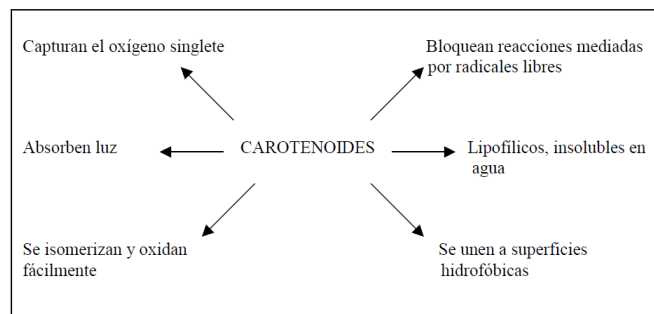


Figura 2. Propiedades físicas y químicas importantes de los carotenoides (Rodríguez, 1997).

Los alimentos que reciben algún procesamiento térmico en su elaboración pueden sufrir degradación en sus pigmentos y en el color. La calabaza posee beta- caroteno, que durante el procesamiento en altas temperaturas sufre un cambio de color. Entre los factores que intervienen en este proceso se encuentra la reacción de isomerización cis-trans que se promueve por el calor (Klaui y Bauernfeind, 1981), la oxidación de caroteno a epoxi carotenos y apocarotenal (Rodríguez, 1999) e inclusive se puede encontrar hidroxilación (Marty y Bersit, 1988). El estudio de la degradación visual del color en un alimento puede predecir cambios experimentales en su contenido de pigmentos (Ahmed y colaboradores, 2002).

Una de las características más importantes que los consumidores toman en cuenta al comprar un producto es la apariencia visual, de tal forma que muchos procesadores

utilizan el efecto psicológico del color para mercadear sus productos (Maskan, 2001.) Un alimento que sufra decoloración excesiva puede tener problemas al momento de mercadearse. Se han realizado diversos estudios para analizar el color de los alimentos instrumentalmente (Ahmed y colaboradores, 2002; Gunawan y Barringer, 2000; Hunt, 1991; Nagle y colaboradores, 1979; Rigg, 1987 y Shin y Bhowmik, 1995). La medición de color con sistemas como Hunter scale (L,a,b) y CieLab (L*,a*,b*) se ha evaluado y éstos se han aceptado como métodos simples y precisos de detección de color y son comparables a métodos espectrofotométricos (Hayakawa y Timbers, 1997). La medición de los pigmentos presentes en un alimento puede ayudar a cuantificar la degradación de los mismos durante el almacenamiento, pero es importante establecer una correlación entre la concentración de pigmento y el color visible de los productos alimenticios durante el tratamiento térmico.

En un estudio realizado por Dutta y colaboradores (2006) se analizó la degradación por procesos termales de los carotenos en puré de calabaza. El contenido de beta-caroteno incrementó con el proceso de escaldado. Este efecto se justificó por la inactivación de enzimas que pueden degradar el beta caroteno. La temperatura de 60 °C promovió también la concentración de este pigmento posiblemente por promover biodisponibilidad del mismo en el alimento. En la Tabla 3 se presentan los tratamientos realizados al puré de calabaza y la concentración de beta-caroteno encontrada en cada uno.

Tabla 3. Contenido de carotenos en puré de calabaza escaldado, sin escaldar y con tratamiento térmico a 60 °C.

Condiciones de tratamiento	Beta-caroteno (µg/g)
Puré de calabaza sin escaldar	10.9426
Escaldado por 2 min en 1% NaCl	12.4569
Escaldado por 2 min en 1% NaCl y con tratamiento térmico a 60 °C (por 2 h)	14.0531

La cadena poliénica de los carotenoides es inestable por diferentes razones incluyendo su susceptibilidad a la oxidación al combinarse con oxígeno e isomerización geométrica (el enlace doble sufre cambio en su geometría). El calor, los ácidos y la luz

promueven la isomerización de los carotenoides trans (su configuración común en la naturaleza) a cis. La causa principal de la degradación de los carotenoides es la oxidación y va a depender del oxígeno disponible y el tipo de caroteno. La luz, metales, enzimas y peróxidos promueven la oxidación de éstos, pero puede ser inhibida añadiéndole a los alimentos antioxidantes como la vitamina E (tocoferoles) y la vitamina C (ácido ascórbico) (Rodríguez, 1997).

Las condiciones necesarias para la isomerización y oxidación de los carotenoides se pueden encontrar probablemente en la preparación de alimentos en el hogar, el procesamiento industrial y el almacenamiento de alimentos. Las consecuencias son pérdida de color, pérdida de la actividad de la vitamina A y de otras actividades biológicas (Falconer y Fishwick, 1964)

2.7 Medición de pH en alimentos

La acidez y la alcalinidad se miden en la escala de pH, que comienza en 1 (el valor más ácido), 14 (el valor más alcalino) y 7 como un valor neutral. Esta medida se basa en la actividad de iones de hidronio (H_3O^+) en una sustancia. Uno de los factores intrínsecos de los alimentos que comúnmente se controlan es el pH. Esto se debe a que la mayoría de los microorganismos crecen en un rango de pH neutral. En la industria de alimentos la acidificación utilizando preservativos u otras técnicas se considera un procedimiento seguro ya que, la adición de ácidos orgánicos promueve la disminución de pH, previniendo la incidencia de microorganismos contaminantes (Glass y colaboradores, 1992). Estudios recientes han encontrado que ciertos microorganismos tienen la habilidad de desarrollar mecanismos de adaptación para tolerar el estrés fisiológico desarrollado por la acidez (Gorden y Small, 1993; Lin y colaboradores, 1996). Este tipo de adaptación puede representar un peligro en la industria de alimentos, por ejemplo, la supervivencia de microorganismos patógenos como *E.coli* O157:H7.

En un estudio realizado por Dlamini y Buys (2009) se comprobó la supervivencia de dos cepas de *E. coli* O 157:H7 a valores bajos de pH. Las dos cepas utilizadas fueron la UT 10 y la ATCC 25922, ambas se crecieron a pH 7.4, 4.5 y 2.5 en el caldo “brain heart infusión”. Ambas cepas sobrevivieron a pH 4.5 debido a la adaptación al estrés

generado por la acidez, pero *E. coli* UT 10 fue más resistente. Se encontró que a pH 2.5 las cepas no pudieron sobrevivir por más de 4 horas. El mecanismo de supervivencia detectado por ambas cepas de este microorganismo fue un incremento en los ácidos grasos saturados de su pared celular, lo que indica que la modificación de lípidos juega un rol importante para la adaptación de la bacteria a estas condiciones. Los autores recalcan la importancia de revisar los métodos de preservación contra patógenos en alimentos y aconsejan que se utilice este tipo de cepas en estudios de inoculación.

En productos de repostería el crecimiento microbiano típico es de hongos, los cuales en muchos casos determinan la vida útil de este tipo de alimentos (Earle y Putt, 1984). Para combatir la proliferación de estos microorganismos se recomiendan factores combinados, los cuales por separado pueden fallar en la preservación adecuada de los alimentos (Leistner, 1992). Los ácidos débiles utilizados como antimicrobiales en la preservación de alimentos son: ácido propiónico, benzoico y sórbico (Earle y Putt, 1984, Chirife y Favetto, 1992 y Legan, 1993). Estudios previos que trabajaron la prevención de hongos enfatizan la combinación entre la reducción de pH con otros factores como a_w y temperatura (Abellana y colaboradores, 1999). Earle y Putt (1984) concluyeron en investigaciones realizadas que un pH apropiado en combinación a otros factores maximiza el efecto del ácido sórbico, de forma tal que la cantidad de ácido necesaria para aumentar el largo de vida útil puede ser minimizada.

2.8 Potencial de Oxidación - Reducción en alimentos

El potencial de oxidación- reducción (Eh) es una medida de la habilidad de sistemas químicos y bioquímicos para oxidarse (donde pierden electrones) o reducirse (donde ganan electrones) (Topcu y colaboradores, 2008). El potencial redox generalmente se mide con un electrodo de platino que está conectado a un electrodo de referencia y esta medida tiene unidades en mV. Un valor de redox positivo indica un estado de oxidación o presencia de oxígeno y un valor negativo indica un estado reducido (ausencia de oxígeno) (Fox y colaboradores, 2000). Otro procedimiento utilizado para tomar esta medida es por medio de sustratos cromogénicos que cambian de color a diferentes potenciales de oxidación-reducción (Davis, 1932).

Los procesos de oxidación se catalogan como reacciones químicas que impactan tanto el largo de vida útil como la calidad de los alimentos. En tejidos biológicos la oxidación de lípidos ocurre inicialmente en los que se encuentran en la membrana celular, debido a que son altamente insaturados y poseen una gran área de superficie (Belitz y Grosch, 1999; Decker y Hultin, 1992; Decker y Xu, 1998). La oxidación de esos lípidos membranales afecta de manera negativa los atributos sensoriales de los alimentos. Esto se debe a la formación de productos volátiles y de bajo peso molecular, que surgen del rompimiento de los lípidos percibiendo rancidez en los alimentos. Tanto los radicales libres como productos secundarios formados durante procesos de oxidación promueven el rompimiento de otros componentes celulares incluyendo las vitaminas y ácidos grasos esenciales. Adicionalmente las proteínas pueden perder sus propiedades funcionales en presencia de estos compuestos (Decker y Xu, 1998; Ladikos y Lougovois, 1990 y Pearson y colaboradores, 1983).

En el 2008, Que y Mao estudiaron el efecto del tipo de secado en la capacidad antioxidante y en las características físico-químicas de harina de calabaza. Los dos métodos utilizados fueron: secado por aire frío y secado por aire caliente. Se evaluaron extractos de metanol de las harinas en términos de capacidad antioxidante total, poder reductor, expulsión de radicales libres y actividad quelante. Se encontró que la harina secada con aire caliente mostró una capacidad antioxidante mayor que la secada con aire frío. Además mostró un porcentaje de inhibición de peróxido de 92.4%, que fue mayor que la harina secada con aire frío, cuyo porcentaje fue de 86.1% después de 120 horas de incubación. Esta harina presentó superioridad en términos de poder reductor, menos radicales libres, mayor actividad quelante y redujo la absorción de aceite y agua. La harina secada con aire frío preservó el color de la calabaza efectivamente. El estudio demostró que la promoción de compuestos fenólicos en la harina, contribuyó a una mayor capacidad antioxidante y esto se puede aplicar a otro tipo de alimentos a base de calabaza. Además, concluye que los extractos de calabaza poseen mecanismos antioxidantes que se pueden atribuir a una fuerte capacidad para donar iones de hidrógeno, capacidad quelante de metales y su efectividad para atrapar peróxido de hidrógeno, superóxido y radicales libres.

2.9 El color en los alimentos

El color es un atributo muy importante en un alimento ya que sirve para medir la calidad de alimentos crudos y cocidos. El color es un indicador de cambios en las características de productos alimenticios debido a procesamiento, almacenamiento y otros factores (Hutchings, 1999). Bloukas y colaboradores (1999) reportaron que el desarrollo de productos alimenticios con colores atractivos es una meta muy importante para la industria de alimentos. Además es un parámetro generalmente utilizado por los consumidores al momento de decidir la compra o el consumo de un producto. El color en los alimentos puede ser generado por la presencia de pigmentos, así que la calidad va a depender de la conservación de esos compuestos que imparten color.

En un estudio realizado por Krokida y colaboradores (2001) se estudió el efecto de aire caliente en el secado de frutas y encontraron que el aire caliente y la humedad afectaron los colores rojo y amarillo (a^* y b^*) pero no la luminosidad de estos productos. Se observó también que el deterioro del color aumentó a medida que la temperatura y la humedad del aire aumentaron, mostrando el efecto de las temperaturas altas en el color de los alimentos.

En la calabaza los compuestos responsables de impartir el color amarillo-anaranjado son los carotenoides, en especial el beta caroteno. La calabaza tiene un color atractivo que puede mejorar la apariencia de alimentos elaborados a base de este fruto (Aziah y Noor, 2009). En un estudio realizado por Gleimmo y colaboradores (2009) se evaluó la estabilidad del color de dos purés de calabaza, con pH de 4.00 y 5.00 que contenían ácido ascórbico y sorbato de potasio. Los materiales de los empaques utilizados fueron polietileno y un polímero de cloro-polivinilideno (PCPC por sus siglas en inglés). Los purés fueron almacenados a 25 °C para su posterior análisis y los cambios de color se analizaron midiendo los parámetros L, a y b. Los resultados mostraron que tanto la luminosidad como los colores anaranjado y amarillo (dados por L, a y b, respectivamente) disminuyeron con el tiempo de almacenamiento. El sorbato de potasio disminuyó la pérdida de color en el puré empacado en el polímero mientras que promovió la pérdida de color en el empaque con polietileno. Esto sugiere que en el primer empaque el sorbato disminuyó el oxígeno presente limitando la oxidación de los carotenos mientras que en el otro empaque el oxígeno promovió la oxidación tanto del sorbato de potasio

como de los carotenos, posiblemente debido a la permeabilidad del empaque. La adición de ácido ascórbico a los purés con pH de 4.00 y 5.00 que contenían sorbato de potasio disminuyó la pérdida de color en el empaque con polietileno; en el empaque con el polímero el ácido ascórbico tuvo el mismo efecto tanto a pH 4.00 como a 5.00.

2.10 Las tendencias de los alimentos

Los alimentos funcionales se han convertido en el centro de innovación hace algunos años (Bleiel, 2010). Las compañías grandes están invirtiendo en alimentos funcionales porque los consumidores están en búsqueda de productos alimenticios saludables que tengan beneficios a la salud, al bienestar general y a la calidad de vida de las personas.

Bleiel (2010) en su artículo describe cuales son las tendencias que prefieren los consumidores. Este autor recalca que la mayoría de las tendencias tienen un impacto en la salud, el bienestar y la nutrición de los consumidores. Las tendencias más populares y el enfoque que poseen se muestran a continuación:

1. “La nueva generación de los 50’s”: Un estilo de vida saludable, enfocado en alimentos que promuevan una vida activa.
2. “Complejidad de Género”: Los hombres cocinan y las mujeres trabajan.
3. “Dificultad en el mundo del trabajo”: Pequeñas porciones, empaques individuales.
4. “Complejidad de Salario”: Define comida básica como aquella con buena calidad y buen precio.
5. “Individualismo”: La diferentes necesidades de la población en general permite adaptar la funcionalidad de los productos.
6. “Hogareños”: Lanzar al mercado recetas para cocinar en el hogar, tiene influencia de los programas de cocina.
7. “Simplicidad pura”: Enfocada en lo orgánico, lo natural, de donde provienen los ingredientes, fresca y lo que tenga una preparación simple.
8. “Sensorial”: Experimentar con sabores nuevos y más exóticos.
9. “Conveniencia”: Consumidores sin hora fija de comer, meriendas, comida lista para el consumo.

El Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT) presentó (Salzman, 2011) las 5 tendencias esperadas para el 2012. En dos de éstas se recalca el consumo de alimentos con poco aporte calórico en la dieta y el consumo de meriendas saludables. La primera tendencia fue nombrada como “fobia a la gordura” y menciona que las personas están mostrando preocupación por el sobrepeso. Además explica que en países como Francia, donde no hay tanto problema de obesidad, se ha encontrado un aumento en esta enfermedad. En 10 años el porcentaje de adultos obesos ha aumentado de un 8% a un 14% en este país y se ha encontrado que su consumo de comida rápida ha incrementado también. Compañías grandes, como Pepsi han entrado en acción buscando opciones más saludables para la elaboración de sus productos.

La segunda tendencia habla del consumo de meriendas saludables. En Estados Unidos la venta de meriendas saludables empacadas, en especial aquellas elaboradas a partir de frutas y vegetales, incrementó 64 billones de dólares en el 2010 y se pronostica un aumento a 77 billones de dólares para el 2015. Las demás tendencias mencionan el consumo de alimentos étnicos o exóticos como parte de sabores nuevos y alternativas de alimentos saludables, interés en sabores picantes y en la compra de comida en facilidades móviles, como por ejemplo guaguas de pizza (Salzman, 2011).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Obtención de la materia prima

La calabaza utilizada en este estudio fue de la variedad ‘Taína Dorada’, sembrada y cosechada por personal de la Estación Experimental Agrícola de Lajas de la Universidad de Puerto Rico. La calabaza se obtuvo madura. Posteriormente se eligieron aquellas que no presentaban rasgaduras visibles.

3.2 Preparación de la materia prima

3.2.1 Proceso de despulpar calabaza

Las calabazas maduras se lavaron en una solución de 50 partes por millón (ppm) de hipoclorito de sodio (US FDA, 2003), se cortaron en trozos de tamaño similar y se les extrajo la semilla sin removerles la cáscara. Luego se procedió a cocinarlas durante 30 minutos en agua hirviendo. Cuando se cocieron las calabazas se dejaron escurrir en papel absorbente para remover el exceso de agua y se dejaron enfriar. Posteriormente los pedazos de calabaza con cáscara fueron despulpados utilizando una despulpadora de mesa (Robot Coupe C 80, 34-1004). La pulpa de calabaza obtenida se congeló a -80°C hasta que se utilizó para preparar los pastelitos horneados.

3.2.2 Caracterización de la pulpa de calabaza

Se obtuvieron medidas de pH, índice de refracción y humedad de las pulpas de calabaza utilizadas en el estudio (Tablas 4, 5 y 6). Hubo dos cosechas de calabaza que se utilizaron, la primera se obtuvo en diciembre de 2010 y la siguiente en diciembre de 2011.

Las medidas de pH se tomaron utilizando el equipo Sartorius Docu-pHmeter 23157057. El electrodo se calibró con las soluciones amortiguadoras 3, 7 y 10 y se lavó con agua destilada en medio de cada muestra.

Las medidas de índice de refracción se tomaron utilizando un refractómetro de mano (r2 mini Refractometer- Reichert, 02579-1209) (FAO, 1998). Se colocó una gota de la muestra y entre cada lectura se lavó con agua destilada.

El último dato tomado para caracterizar la materia prima de este estudio fue el porcentaje de humedad de la calabaza. Este dato se tomó utilizando un analizador de humedad (Sartorius MA 35-000115V1). Se colocó 1 gramo de la muestra húmeda en un plato de aluminio que incluye el equipo y se esparció la muestra por todo el plato siguiendo las instrucciones del manual (Sartorius, 2012). Finalmente se tomó la lectura que dictó la balanza.

Tabla 4. Valores de pH de las pulpas de calabaza utilizadas.

Pulpa	pH a 25°C
1	5.50
2	6.02

Tabla 5. Valores de índice de refracción de las pulpas de calabaza utilizadas.

Pulpa	Grados Brix
1	4.9
2	3.9

Tabla 6. Valores de humedad de las pulpas de calabaza utilizadas.

Pulpa	Humedad (%)
1	91.12
2	95.48

3.3 Elaboración de los pastelitos horneados de calabaza

3.3.1 Formulación de la mezcla a base de calabaza

En este estudio se prepararon 4 lotes o repeticiones. Dos repeticiones representaron el grupo testigo y las otras dos correspondieron al tratamiento. Cada lote

de pastelitos de calabaza horneados requería una cantidad total de 128 bizcochitos. La formulación de los pastelitos incluía los siguientes ingredientes: pulpa de calabaza, harina de trigo, azúcar, huevo, mantequilla, canela, sal, sorbato de potasio, goma TICAGEL PPS-2 y ácido ascórbico.

Los ingredientes fueron pesados utilizando una balanza de mesa (Mettler PC 16-837696) en recipientes previamente desinfectados. Una vez pesados se procedió a homogenizarlos en una batidora por aproximadamente 20 minutos de manera tal que no hubieran grumos en la mezcla.

3.3.2 Elaboración de pastelitos horneados de calabaza

Con la formulación a base de calabaza lista, se procedió a aceitar con un poco de mantequilla los orificios de un molde para hornear. Luego se agregaron 25 gramos de la mezcla en cada orificio y los moldes se colocaron en un horno convencional durante 25 minutos a una temperatura de 350 °F. Finalmente los pastelitos se sacaron de los moldes y se dejaron enfriar para empacarse posteriormente.

3.3.3 Empaque de pastelitos horneados de calabaza

Los pastelitos horneados fueron empacados en bandejas de plástico. Se prepararon 16 bandejas por repetición y cada bandeja tenía 8 pastelitos. Semanalmente se utilizaron dos bandejas. Éstas fueron empacadas utilizando el equipo (KOCH Ultra Source EP8488). Se empacaron dos repeticiones utilizando como atmósfera gaseosa aire y en las otras dos repeticiones se utilizó nitrógeno. Las bandejas con las muestras se colocaron en la empacadora y se seleccionó la atmósfera gaseosa a utilizar. El equipo realizó el sellado con papel plástico y las bandejas se refrigeraron a 4 °C hasta utilizarse para su posterior análisis.

3.4 Análisis microbiológico de pastelitos horneados de calabaza

El método que se utilizó para la preparación de las muestras es el del BAM (Bacteriological Analytical Manual, 2003) descrito en el capítulo 1. Se realizaron tres

análisis microbiológicos donde se determinó la presencia de coliformes totales, microorganismos anaeróbicos, hongos y levaduras.

3.4.1 Recuento de coliformes totales

Se utilizó el método descrito en el capítulo 4 del BAM (Bacteriological Analytical Manual, 2003) para la detección de coliformes totales, con modificaciones. Se pesaron 25 gramos de la muestra, utilizando una balanza (VWR Sartorius Extended 24450136) y se realizaron diluciones en serie partiendo de 10^{-1} hasta 10^{-3} . Luego se tomó 1 ml de cada dilución y se sirvió en platos Petri. Posteriormente se sirvieron 10 ml del medio de cultivo VRBA con MUG (Violet Red Bile Agar con 4-metilumbeliferil- β -D-glucuronido) utilizando la técnica de vertido en plato. Se prepararon platos para inocular las tres diluciones y éste análisis se hizo en triplicado, sumando 9 platos en total. Los platos se incubaron a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. El muestreo se realizó semanalmente.

3.4.2 Recuento de microorganismos anaeróbicos

Se utilizó el método descrito en el capítulo 3 del BAM (Bacteriological Analytical Manual, 2003) para la detección de microorganismos aeróbicos y se adaptó para anaerobios. Se pesaron 25 gramos de la muestra, utilizando una balanza (VWR Sartorius Extended 24450136) y se realizaron diluciones en serie partiendo de 10^{-1} hasta 10^{-3} . Luego se tomó 1 ml de cada dilución y se sirvió en platos Petri que contenían el medio PCA (Plate Count Agar) utilizando la técnica de esparcido en plato. Se prepararon un total de tres platos y este análisis se hizo en triplicado semanalmente. Los platos se colocaron en una jarra anaeróbica y se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas.

3.4.3 Recuento de hongos y levaduras

Se utilizó el método descrito en el capítulo 18 del BAM (Bacteriological Analytical Manual, 2003) para la detección de hongos y levaduras. Se pesaron 25 gramos de la muestra, utilizando una balanza (VWR Sartorius Extended 24450136) y se realizaron diluciones en serie partiendo de 10^{-1} hasta 10^{-3} . Luego se tomó 1 ml de cada dilución y se sirvió en platos Petri que contenían el medio PDA (Potato Dextrose Agar) utilizando

la técnica de esparcido en plato. Se prepararon un total de tres platos y este análisis se hizo en triplicado semanalmente. Los platos se incubaron a $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 5 días.

3.5 Análisis de atributos físicos

Los atributos físicos que se le midieron a los pastelitos horneados de calabaza fueron: actividad de agua y análisis de textura. A continuación se describe el método utilizado para estas pruebas.

3.5.1 Medida de actividad de agua

El instrumento utilizado para tomar las medidas fue un higrómetro (DECAGON 0589284). Para calibrarlo se utilizó una solución con una actividad de agua de 0.984. La muestra se colocó en el recipiente plástico que incluye el equipo y se tomó la lectura de actividad de agua que el equipo registró. Las lecturas se tomaron por triplicado semanalmente.

3.5.2 Análisis de textura

Para tomar las medidas de textura se utilizó el texturómetro (Stable Micro Systems 12762). Se determinó la fuerza requerida para hacer una doble mordida. El equipo fue calibrado con una pesa de 5 kg. Posteriormente se procedió a tomar las lecturas de textura colocando la muestra en el texturómetro y generando tablas de datos para los siguientes atributos: dureza, adhesividad y cohesividad. Este análisis se realizó por triplicado semanalmente.

3.6 Análisis proximal

3.6.1 Determinación de humedad

El método utilizado fue el AOAC 966.02 (AOAC INTERNATIONAL, 1990). Los crisoles, previamente rotulados con lápiz #2, se secaron a una temperatura de 100°C a 105°C en un horno por 24 horas, se enfriaron en un desecador y se tomó su peso. Este paso se repitió pero luego de calentar los crisoles solo por una hora. Cuando la diferencia

entre el primer peso y el segundo no era mayor de 20 mg o 0.020 g se procedió a tomar el último peso y se anotó. El crisol fue tarado en una balanza (AG204, Mettler Toledo) y se le añadieron 5.0 gramos de muestra. Posteriormente se colocó el crisol con la muestra en el horno (Isotemp Oven 200 Series, Fisher Scientific, USA) nuevamente a una temperatura entre 100°C a 105°C por 24 horas. Al cabo de este tiempo se sacó el crisol del horno y se dejó enfriar por 30 minutos en un desecador y se registró el peso. El crisol fue colocado en el horno nuevamente y se esperó 1 hora más. Se retiró el crisol del horno y se pesó nuevamente. Cuando la diferencia en peso no fue mayor de 20 mg o 0.020 g, se registró ese peso como final. Esto se realizó en triplicado para las dos repeticiones del tratamiento y para el grupo control y su repetición. La razón entre el agua extraída y el peso de la muestra húmeda fue calculado como el porcentaje de humedad.

3.6.2 Determinación de cenizas

El método utilizado fue el AOAC 923.03 (AOAC INTERNATIONAL, 1990). Se pesaron crisoles previamente rotulados con lápiz #2 con sus tapas y se aseguró que estaban limpios y secos. Seguidamente se agregaron entre 0.5 g a 1.0 g de muestra seca a cada crisol y se taparon inmediatamente. Se colocó el crisol con la muestra en una mufla (Muffle Furnance, Isotemp, Fisher Scientific, USA) y se calentó paulatinamente hasta que alcanzó los 600 °C. La temperatura se mantuvo a 600 °C por aproximadamente seis horas. Posteriormente la mufla se apagó y se permitió que la muestras se enfriaran. Los crisoles fueron colocados en un desecador por aproximadamente 30 minutos y luego fueron pesados con sus tapas. Este proceso se realizó en triplicado para cada repetición. La razón de peso de la muestra remanente en el crisol entre el peso de la muestra seca fue calculado como el porcentaje de ceniza en base seca.

3.6.3 Determinación de proteína bruta

El método utilizado fue el de Micro-Kjeldahl, AOAC 960.52 (AOAC INTERNATIONAL, 1990). Muestra seca con un peso entre 0.12 g a 0.15 g fue transferida a un tubo de digestión de 100 mL que contenía aproximadamente 0.6 g del catalizador compuesto de sulfato de potasio (K_2SO_4) y sulfato de cobre (Cu_2SO_4). En una

campana de extracción se agregaron 7 ml de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo y posteriormente se colocaron en un bloque de digestión (Digestion System 6, Tecator). La temperatura se aumentó paulatinamente hasta alcanzar el nivel 10 en aproximadamente 8 minutos. Las muestras se mantuvieron digiriendo por 3 horas. Al cabo de este tiempo los tubos se sacaron y se dejaron enfriar dentro de la campana de extracción.

El contenido de los tubos de digestión fue lavado con mucho cuidado utilizando una porción de aproximadamente 40 ml de agua destilada para remover los cristales formados y se transfirió a los tubos de destilación (250 mL). Utilizando la campana de extracción se le adicionaron 50 ml de NaOH al 40% al tubo de destilación. Luego se encendió el destilador (Rapidstill II, Labconco, USA) y se le colocó un matraz conteniendo 25 ml de solución de ácido bórico 4% con indicador (Kjeldahl determination, Fisher Scientific, USA) en el tubo de salida del destilador. Se colocó el tubo de 250 ml en el destilador y el medidor de tiempo se colocó en 9 minutos. La solución indicadora del ácido bórico se tornó verde azul. Posteriormente la muestra se tituló con HCl 0.10 N y hasta el punto de equivalencia. Esta prueba se realizó en triplicado para cada repetición. Las fórmulas para obtener la cantidad de nitrógeno y el porcentaje de proteína en base seca son las que siguen:

$$\%N = \frac{\text{Volumen HCl utilizado en titulación (mL)} * \text{Normalidad HCl} * 14.01}{1000 * \text{peso muestra seca (g)}} * 100\%$$

$$\%PRO = \% \text{ de N} * \text{Factor de conversión (6.25 para frutas y vegetales)}$$

3.6.4 Determinación de grasa cruda

El método utilizado fue el AOCS Am 5-04 (AOCS, 2005). Se rotularon las bolsas XT4 (Ankom Technology, USA) con un marcador indeleble resistente a solventes. Luego se pesó la bolsa y anotó el peso. Después se colocó la bolsa en un cilindro especial que incluye el equipo para poder verter en ella 1.00 gramo de muestra húmeda. La bolsa se cerró con la ayuda de un sellador por calor (1915, Ankom Technology). Posteriormente fueron colocadas en un horno a 105°C por 3 horas.

Luego de las 3 horas se sacaron las muestras del horno y se colocaron en un desecador para que se enfriaran por aproximadamente 30 minutos. Después de esto, las muestras se colocaron en el espiral del equipo, el cual fue colocado en la canasta del

extractor. Se adicionaron 200 mL de éter de petróleo (Fisher Scientific, USA) en el receptor y 150 mL en la canasta con las bolsas de las muestras. El receptor y la canasta se introdujeron en el extractor de grasa. Se seleccionaron las siguientes condiciones: 90°C de extracción por 40 minutos. Después de la extracción se colocaron las muestras en el horno por 24 horas a 105 °C, se colocaron en el desecador por aproximadamente 30 minutos y se pesaron nuevamente. El porcentaje de grasa cruda en base húmeda es la razón de la grasa extraída (obtenida por diferencia de peso), entre la masa de la muestra húmeda. Este proceso se realizó en triplicado para cada repetición.

3.6.5 Determinación de carbohidratos

Los carbohidratos se estimaron por diferencia. Se restaron los valores de los porcentajes proteína, grasa, humedad y ceniza a un 100% para obtener el porcentaje de carbohidratos.

3.7 Análisis de atributos químicos

3.7.1 Extracción de carotenos

Se utilizó el método de la AOAC 941.15 (AOAC INTERNATIONAL, 1990) que consiste de una extracción con acetona y hexano. Se comenzó haciendo una curva estándar. En once tubos de ensayo se añadió de 0 a 1.1 ml de solución de β -caroteno (10 $\mu\text{g/ml}$). Se completó el volumen de cada tubo con 10 ml de una solución de acetona-hexano (1:9). Después se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro *Thermo Spectronic GenesysTM 8* a 436 nm y con los datos recopilados se hizo una curva de absorbancia vs. concentración de β -caroteno.

Luego se procedió a realizar la extracción. La muestra se homogenizó en un procesador de alimentos y se tomaron entre 2-5 gramos de la muestra. La muestra homogenizada fue colocada en una licuadora por 5 minutos con 40 ml de acetona, 60 ml de hexano y 0.1 gramos de carbonato de magnesio. La muestra licuada se filtró por succión utilizando un matraz de succión y un “buchner” con tapón. Los residuos se lavaron dos veces con porciones de 10 ml de 1:1 acetona/hexano. La acetona de la extracción se lavó cinco veces con porciones de 100 ml de agua y se obtuvo dos fases. La

porción superior se transfirió a un matraz volumétrico de 100 ml que contenía 9 ml de acetona. Se diluyó a volumen con hexano. De esta solución se tomó 0.1 ml y se transfirió a otro matraz volumétrico de 100 ml que contenía 9 ml de acetona y se diluyó a volumen con hexano. Finalmente se tomó 1 ml de esta solución y se le determinó la concentración de carotenos espectrofotométricamente a 436 nm.

3.7.2 Medida de pH y potencial de oxidación-reducción

El instrumento utilizado para tomar las medidas de pH y de potencial redox fue un potenciómetro (Docu-pH meter Sartorius 23157057). El electrodo se calibró previo a su uso con soluciones estándares de pH 3, 7 y 10. Posteriormente se tomaron 10 gramos de muestra y se homogenizaron con 5 ml de agua destilada hasta obtener una mezcla viscosa y se tomaron las medidas. Entre cada medida se lavó el electrodo suavemente con agua destilada y se secó utilizando “Kim Wipes”. Simultáneamente se tomaron las medidas potencial redox cambiando la medida de pH a mili voltios, que es otra opción que ofrece el equipo. Las medidas se tomaron por triplicado y una vez a la semana durante dos meses de muestreo para cada repetición.

3.7.3 Determinación de color

Este análisis se llevó a cabo utilizando un colorímetro (HunterLab MiniScan EZ). El instrumento se calibró utilizando dos losas, una negra y una blanca. Se seleccionó la configuración de fábrica del instrumento para tomar las lecturas. Posteriormente se colocaron las muestras y se tomaron las lecturas. Este análisis se realizó por triplicado semanalmente para cada repetición.

3.8 Análisis estadístico

Se utilizarán valores de media $\bar{X}$ y sus desviaciones estándar muestrales (S) para determinar la exactitud de las medidas. Se llevaron a cabo análisis de varianza ANOVA para determinar la diferencia entre el tratamiento y el control según cada caso con un 95% de confianza ($\alpha = 0.05$). Se establecieron dos hipótesis:

Hipótesis Nula: Las dos condiciones de empaque son iguales.

Hipótesis alterna: al menos una de las condiciones de empaque es diferente.

El estadístico utilizado fue el valor p (p-value) obtenido del análisis ANOVA. Si éste es menor que “alfa” ($p < 0.05$) la Hipótesis nula (H_0) se rechaza, lo que significa que las condiciones de empaque son diferentes. Se utilizó el programa de InfoStat (Grupo Infostat, 2009) para el análisis de los datos.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación del largo de vida útil de los pastelitos horneados de calabaza se llevó a cabo con el fin de evaluar el comportamiento de las características físico-químicas (pH, potencial oxidación-reducción, color, actividad de agua y textura) y microbiológicas (recuento de coliformes, microorganismos anaeróbicos y hongos y levaduras) del producto durante dos meses de almacenamiento.

Las condiciones de empaque se variaron utilizando aire como grupo testigo y una atmósfera modificada de nitrógeno; ya que estudios realizados demuestran que en empaques donde se modifica la concentración de oxígeno, se extiende el largo de vida útil de los productos hasta siete veces más que en un empaque convencional con aire (Sanguinetti y colaboradores, 2008). Se decidió usar nitrógeno porque es una atmósfera modificada que no se utiliza comúnmente y es más económica que las mezclas de gases que contienen CO₂. Tanto el nitrógeno como el CO₂ sustituyen el oxígeno en los empaques con atmósfera modificada limitando el crecimiento de microorganismos aeróbicos y evitando reacciones de oxidación. Coventry y colaboradores (1998) encontraron que en carne empacada con atmósferas modificadas de nitrógeno-oxígeno y dióxido de carbono-oxígeno, la presencia de estos gases no presentó diferencias significativas en la proliferación de flora microbiana. El nitrógeno es un gas inerte mientras que el CO₂ que puede reaccionar con componentes de los alimentos.

A continuación se presenta el efecto del tiempo de almacenamiento sobre las características físico-químicas y microbiológicas de los pastelitos horneados de la calabaza ‘Taína Dorada’.

4.1 Efecto del tiempo de almacenamiento en la microbiología del producto

4.1.1 Recuento de coliformes

No se observó crecimiento de coliformes totales ni de *Escherichia coli* durante los dos meses de almacenamiento (Figura 3). El patrón se mantuvo constante tanto para el

grupo testigo y el tratamiento con nitrógeno. En la formulación a base de calabaza tampoco se detectó crecimiento de coliformes (Navas y colaboradores, 2011)

El clorado que se le dio a la calabaza es una posible razón para la ausencia de estas bacterias. El lavado de frutas y vegetales elimina residuos de materia orgánica y de suelo, además puede remover o destruir ciertos microorganismos del alimento. Se recomienda el uso de agua clorada con una concentración de 50-200 ppm en un rango de pH de 6-7.5 y un tiempo de contacto de 1-2 minutos para la efectividad de este método (US, FDA, 1998).

Otra posible razón para la ausencia de coliformes en el producto se puede deber al proceso de horneado. La ausencia de estas bacterias en las condiciones evaluadas indica que no hubo recontaminación durante el proceso de empaque. Los coliformes son microorganismos gram negativos cuya pared celular se afecta con condiciones ambientales hostiles. Éstos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y en el tracto digestivo de humanos y animales. Su presencia en un alimento indica posibles bacterias patógenas o condiciones insalubres en algún paso de la elaboración del producto (The Federal Register, 2010). Karaoglu y colaboradores (2005) observaron una disminución en el conteo de coliformes en pan parcialmente horneado por la adición de propionato de calcio al 0.2% como preservativo. El pan horneado con preservativo por 10, 15, 20 y 25 minutos a 121 °C tuvo una disminución a 2.0 log CFU/g de coliformes. Aydin y colaboradores (2009) encontraron conteos de coliformes <10 CFU/g en postres de queso horneados.

La contaminación con coliformes se atribuye a contaminación post proceso y malas prácticas de manufactura. El uso de buenas prácticas de manufactura en la elaboración de este producto es un elemento importante que justifica la ausencia de coliformes.

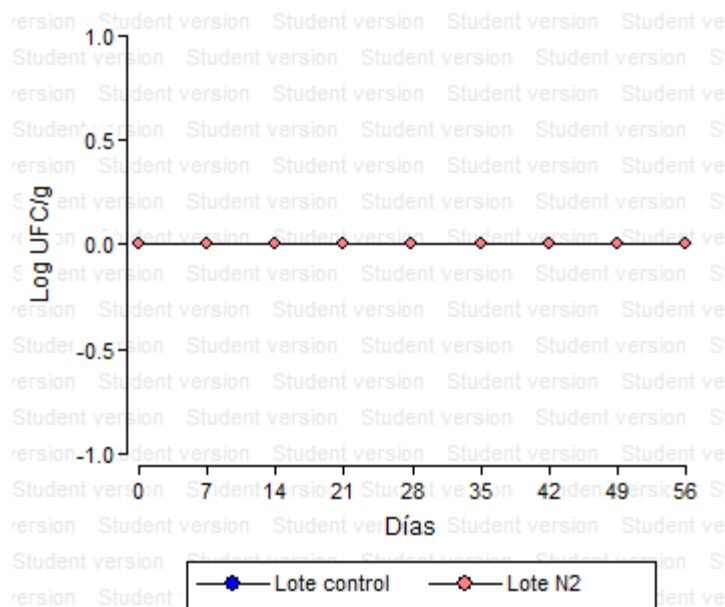


Figura 3. Comportamiento de coliformes durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.

4.1.2 Recuento de microorganismos anaeróbicos

En este experimento se muestreó el empaque testigo (aire) bajo condiciones anaeróbicas para validar la efectividad del procedimiento. Los microorganismos anaeróbicos estrictos no pueden crecer con la atmósfera de este empaque, no obstante las bacterias anaeróbicas facultativas pueden reproducirse en el empaque con aire y en las condiciones anaeróbicas en las que se incubaron las muestras.

Se encontró crecimiento microbiano tanto en el grupo testigo como en el tratamiento con nitrógeno (Figura 4). Se realizó el análisis de varianza para los días de muestreo y para determinar diferencias entre el testigo y el tratamiento. Se encontraron diferencias significativas en los días de muestreo; la prueba de Tukey mostró diferencias entre el día 21 y el día 56 de almacenamiento dentro de los grupos. Con respecto a los tratamientos no se encontraron diferencias significativas. En los empaques con atmósfera modificada el nitrógeno se utiliza para desplazar oxígeno limitando el crecimiento de microorganismos aeróbicos. Esto implica que en el empaque con nitrógeno los microorganismos cuantificados deben ser anaeróbicos facultativos o anaeróbicos estrictos.

Los recuentos obtenidos fueron más bajos que los reportados en la literatura para productos similares. Ji y colaboradores (2007) reportaron conteos de hasta 6×10^6 CFU/g en bizcochos de arroz. Sanguinetti y colaboradores (2008) reportaron conteos de 2.2×10^5 CFU/g en tartas de queso empacadas con aire a los 7 días de almacenamiento. Al empacarlas en atmósfera modificada con nitrógeno obtuvieron recuentos de 2.1×10^4 CFU/g en 14 días de almacenamiento.

Recuentos de hasta logaritmo 4 no representan poblaciones microbianas que ocasionen deterioro. El crecimiento controlado de estas poblaciones se puede atribuir al efecto del ácido ascórbico como acidulante y del sorbato de potasio como preservativos.

Los productos de repostería, por lo general se consideran microbiológicamente seguros. El crecimiento de patógenos como *C. botulinum* u otras especies de importancia no se ha reportado (Bennion y Bamford, 1997; Black y colaboradores, 1993).

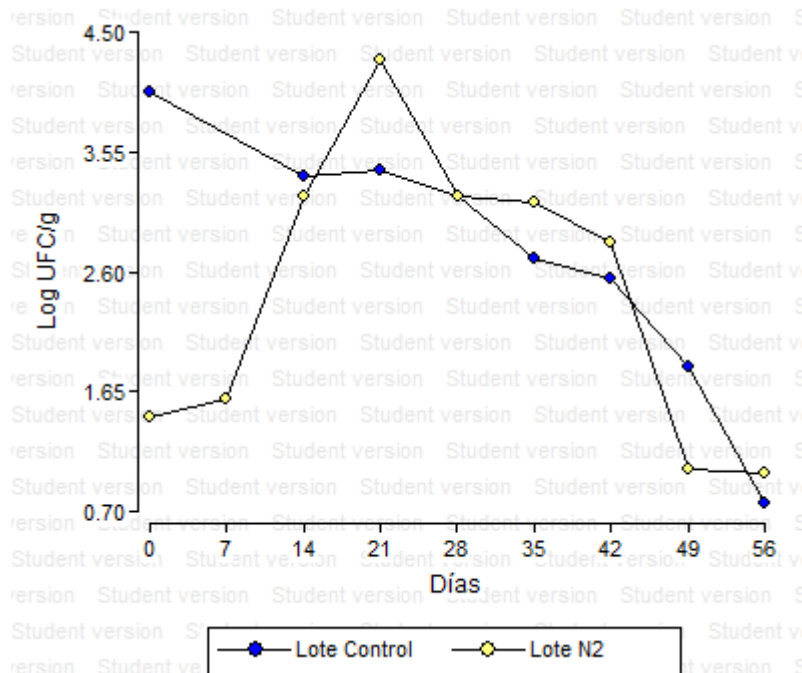


Figura 4. Población de microorganismos anaeróbicos durante dos meses de almacenamiento, según tratamientos.

4.1.3 Recuento de hongos y levaduras

En la Figura 3 se ilustra el crecimiento de hongos y levaduras a lo largo del periodo de almacenamiento. Se realizó análisis de la varianza para determinar diferencias significativas tanto en el logaritmo de unidades formadoras de colonia por día como en los tratamientos. Con respecto a los tratamientos se encontró que no hubo diferencias significativas, los hongos y las levaduras crecieron con el mismo patrón sin importar la atmósfera que se le aplicó al empaque. Según Ooraikul (1991) se puede encontrar crecimiento de hongos en atmósferas modificadas donde haya niveles de CO₂ bajos y haya presencia de oxígeno. Otros autores como Suhr y Nielsen (2006) encontraron que a medida que incrementaron la concentración de CO₂ en un empaque con atmósfera modificada el crecimiento de hongos disminuyó, pero no fueron erradicados. Algunos hongos como *Penicillium roqueforti* y *Penicillium commune* crecieron en 99% de CO₂ y solo fueron inhibidos con absorbentes de oxígeno en los empaques. Del Nobile y colaboradores (2003) encontraron lo mismo al trabajar con pan empacado en una atmósfera modificada de 40% N₂ y 60% CO₂, 80% CO₂ y 20% N₂ y un secuestrador de oxígeno.

Los conteos alcanzaron un máximo de 6.0×10^3 CFU/g y estos niveles no se asocian a deterioro. Los pastelitos horneados de calabaza no tuvieron deterioro visible por hongos o levaduras al final del muestreo y esto tampoco se observó en la formulación a base de calabaza (Navas y colaboradores, 2011). Ji y colaboradores (2007) reportaron conteos menores de 10^2 en bizcochos de arroz. Sanguinetti y colaboradores (2008) reportaron conteos menores de 10 en tartas de queso empacadas en atmósfera modificada. La adición del preservativo sorbato de potasio se asocia al recuento de hongos y levaduras obtenido.

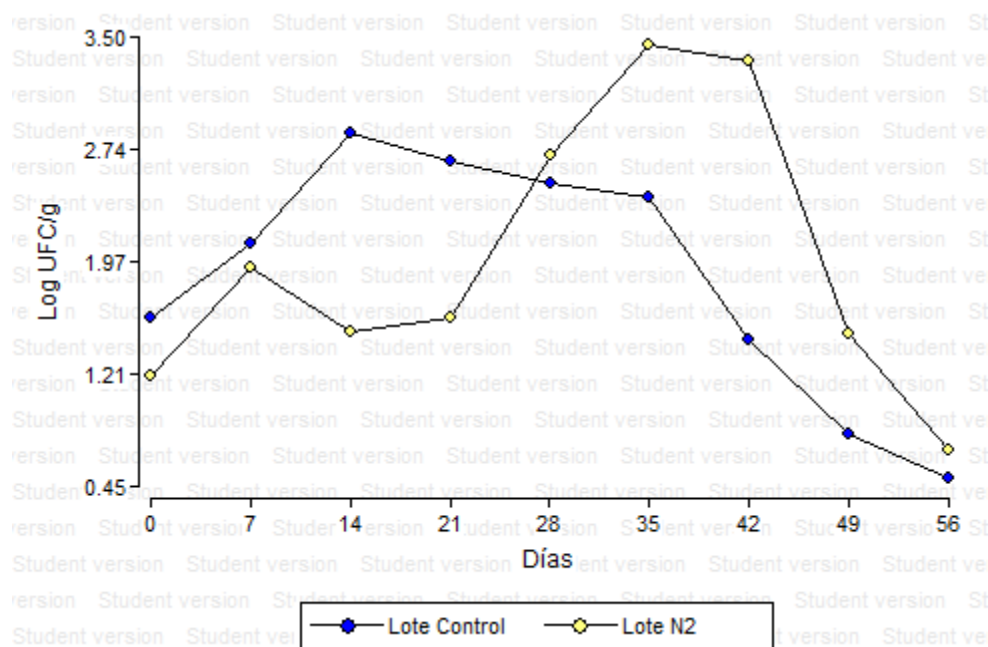


Figura 5. Población de hongos y levaduras durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

4.2 Análisis de atributos físicos de los pastelitos horneados y el efecto del tiempo de almacenamiento

4.2.1 Comportamiento de la actividad de agua a través del tiempo de almacenamiento

Luego de medir la actividad de agua semanalmente para los cuatro grupos muestreados se encontró bastante similitud en los resultados (Tabla 7 y Figura 5). La prueba de Tukey realizada para comparar las medias de los tratamientos demostró que la repetición del tratamiento fue significativamente diferente en este parámetro. El análisis de ANOVA refleja que hubo diferencias en el día 0 y los demás días de almacenamiento. Al observar los valores se encuentra que a través de los 2 meses de muestreo la actividad de agua de los pastelitos horneados se mantuvo entre una media de 0.92 y 0.96. No se observó un patrón de disminución o de aumento a través del tiempo de almacenamiento. Las diferencias encontradas no son relevantes y se pueden deber a la temperatura en que se encontraba la muestra al momento de tomar la medida. La actividad de agua es definida como la presión de vapor del agua del alimento sobre la presión de vapor del agua pura. Este parámetro es dependiente de la temperatura a la que se encuentre la muestra.

La actividad de agua es uno de los factores ambientales más importantes para determinar cuándo y a qué razón un microorganismo puede crecer en un producto de humedad intermedia o alta (Seiler, 1989) y estudios realizados por Abellana y colaboradores (1999) asocian una reducción del aw con un deterioro más lento en los alimentos.

Los resultados demuestran que una atmósfera modificada con nitrógeno no tiene efecto sobre la actividad de agua de los pastelitos horneados de calabaza en comparación con un empaque que utilice aire. Este producto tiene una actividad de agua entre 0.90 - 0.96 que favorece el crecimiento microbiano así que los recuentos de microorganismos encontrados en este producto pueden relacionarse a la actividad de agua, entre otros factores intrínsecos, ya que la mayoría de las bacterias requieren valores de aw mayores de 0.90 para su crecimiento y 0.85 para los hongos.

Tabla 7. Actividad de agua a 25 °C durante dos meses de almacenamiento, según tratamientos.

Día	Testigo	N2
0	0.90	0.93
7	0.94	0.95
14	0.94	0.96
21	0.95	0.95
28	0.94	0.96
35	0.93	0.95
42	0.95	0.96
49	0.94	0.93
56	0.95	0.94

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

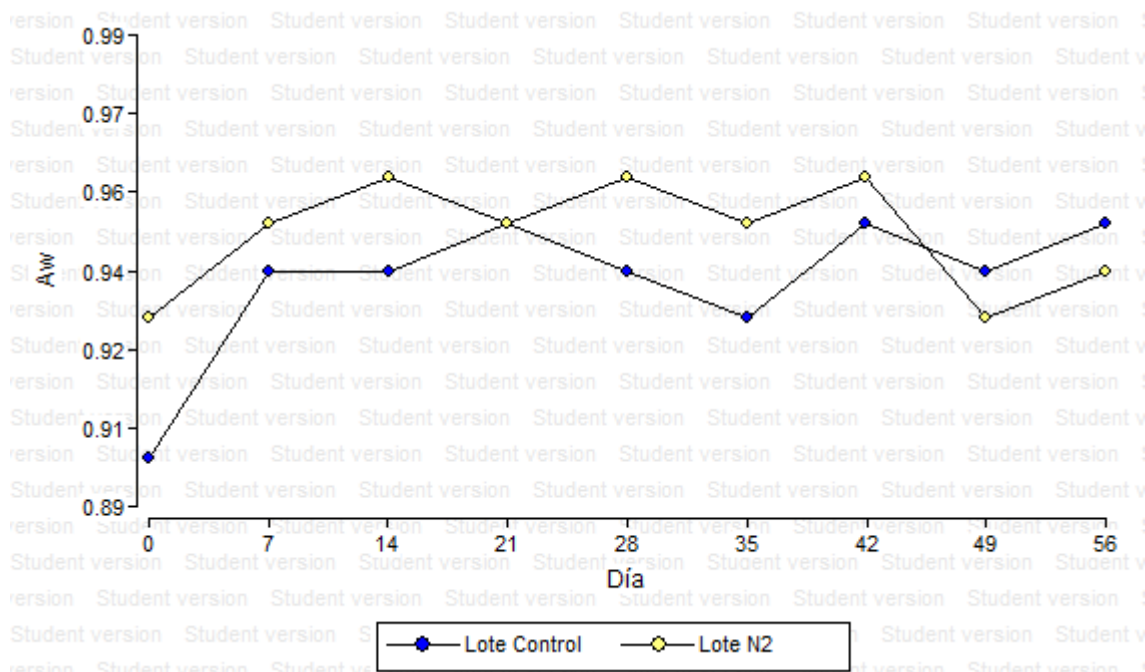


Figura 6. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre la actividad de agua de los pastelitos horneados.

4.2.2 Cambios en la textura del producto terminado a través del tiempo de almacenamiento

Dentro del análisis de textura de los pastelitos horneados de calabaza se prestó especial atención a la dureza, adhesividad y cohesividad. Cada una de estas medidas presentó una tendencia particular. En el caso de la dureza se observó que comenzó a aumentar a través del almacenamiento y en la quinta semana de muestreo comenzó a disminuir la razón de incremento (Tabla 8 y Figura 7). El análisis estadístico muestra una dureza mayor en el testigo versus el empaque bajo atmósferas modificadas.

Ji y colaboradores (2010) encontraron un aumento máximo en la dureza de bizcochos de arroz en los primeros días del almacenamiento aunque la goma añadida tuvo un efecto en la reducción de este atributo. Rosell y colaboradores (2001) establecen que el efecto de la goma xanthan se encuentra en la interacción de este hidrocoloide y el almidón y su efecto en la retrogradación. Esta goma aumenta la estabilidad de la cocción y mejora la retención de humedad creando enlaces en la matriz de los polímeros de almidón. El valor de dureza de bizcochos de arroz con goma xanthan fue de 1,101 g

aproximadamente. Los pastelitos horneados fueron elaborados utilizando la goma Ticagel PPS-2 que está compuesta de carragenina y goma xanthan principalmente. Se puede asociar el patrón de dureza a la efectividad de la goma en retener la humedad de los pastelitos horneados y en retardar la retrogradación ya sus funciones incluyen minimizar la pérdida de agua durante el horneado, retardar la retrogradación y la sinéresis. Otros factores que pueden afectar la dureza son la incorporación de aceite por la mantequilla en las barriguitas y la temperatura del horneado.

Mohamed y Hamid (1998) encontraron que un poco de sal aumentaba la dureza de en bizcochos de arroz, sin embargo en cantidades altas contribuye disminuyendo este parámetro.

Los autores no atribuyen las diferencias en textura de productos alimenticios a la atmósfera gaseosa, sino a otros factores como el tipo de grasa utilizado, el tiempo de cocción del alimento, el periodo de almacenamiento y su composición, entre otros. Estas diferencias se pueden atribuir a la temperatura a la que las barriguitas se encontraban al momento de realizar la prueba o a interacciones químicas dentro del tratamiento.

Tabla 8. Promedios de dureza durante dos meses de almacenamiento para los tratamientos.

Día	Testigo	N2
0	1775 g	2234 g
7	2399 g	2710 g
14	2201 g	2342 g
21	2731 g	2828 g
28	2265 g	3801 g
35	3516 g	4692 g
42	2579 g	3421 g
49	933 g	1593 g
56	1999 g	573 g

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

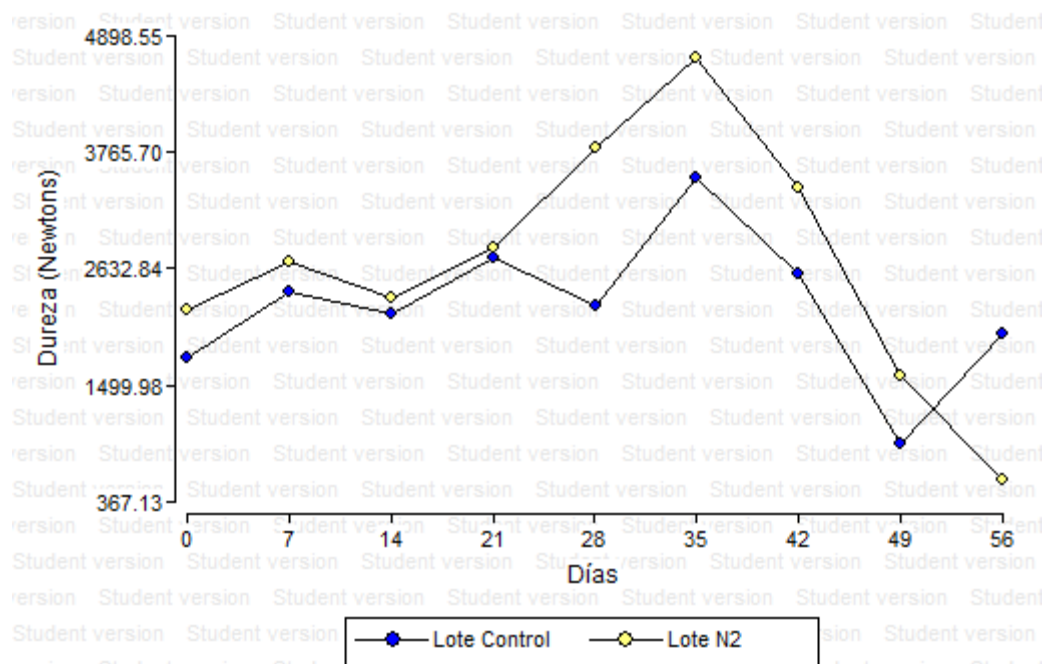


Figura 7. Efecto del tiempo de almacenamiento en la dureza de los pastelitos horneados.

En el análisis de textura también se midió la adhesividad (Tabla 9). Esta medida del texturómetro simula la fuerza necesaria para retirar con la lengua el alimento que se queda pegado en la boca, como por ejemplo los dientes o en el paladar. El análisis de ANOVA refleja que no hubo diferencias significativas entre la adhesividad del testigo y la del tratamiento con nitrógeno. Tampoco hubo diferencias significativas entre los días de muestreo. Sin embargo se encontró que la adhesividad comenzó disminuyendo y posteriormente aumentó a mitad del periodo de almacenamiento. En el lote testigo se observó una disminución de este parámetro al final del muestreo, mientras que en ese mismo punto el lote experimental (tratamiento N₂) aumentó. Gómez y colaboradores (2009) encontraron un incremento tanto en la dureza como en la adhesividad en bizcocho de esponja. Lo mismo se observó en otros estudios realizados en pan (Gambaro y colaboradores, 2002, 2004, 2006). Se atribuye en incremento en estos parámetros al efecto de bajas temperaturas de almacenamiento. Ying y colaboradores (2010) concluyeron que reacciones de retrogradación y pérdida de frescura tuvieron efectos negativos en la textura de este tipo de productos.

Tabla 9. Variación en adhesividad durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo	N2
0	-59.46	-92.54
7	-68.66	-94.81
14	-52.95	-122.94
21	-72.55	-128.86
28	-141.10	-147.70
35	-124.38	-24.75
42	-83.42	-135.94
49	-28.37	-55.24
56	-108.67	-12.48

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

Por último se hizo un análisis de la cohesividad del producto horneado. Este parámetro mide el grado al cual se deforma la muestra antes de romperse cuando se mastica con los dientes molares. La prueba de Tukey presenta diferencias significativas entre los tratamientos y muestra que la cohesividad de los pastelitos empacados en atmósfera modificada fue menor que la de los que se empacaron con aire. Se encontraron diferencias significativas también entre la semana cero y la semana cuatro de muestreo. La Tabla 10 y la Figura 6 ilustran los cambios en cohesividad de los pastelitos de calabaza a través del tiempo de almacenamiento. Se observó que en el empaque con atmósfera modificada hubo una reducción en la cohesividad contrario al empaque testigo donde se observa un leve incremento.

Chuang y Yeh (2006) encontraron en bizcochos de arroz que mientras más alto era el contenido de agua estos productos solían ser más suaves. Además a medida que la dureza disminuía, la cohesividad aumentó. Este patrón no solo se atribuyó a la pérdida de agua sino que también al efecto del amasado y del batido. Khouryieh y colaboradores (2005) reportaron una reducción en la cohesividad de muffins sin azúcar y bajos en grasa a través del periodo de almacenamiento.

Tabla 10. Variación en la cohesividad durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo	Nitrógeno
0	0.49	0.45
7	0.46	0.46
14	0.45	0.39
21	0.50	0.42
28	0.49	0.39
35	0.48	0.35
42	0.50	0.44
49	0.52	0.29
56	0.46	0.28

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

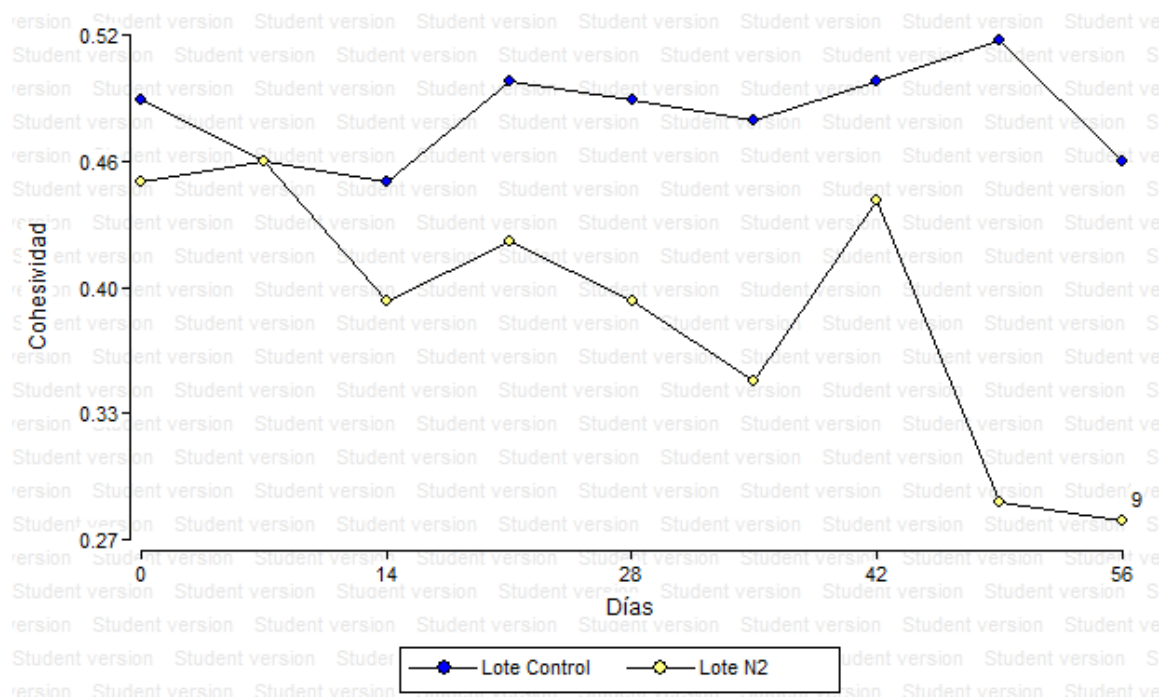


Figura 8. Efecto del tiempo de almacenamiento en la cohesividad de los pastelitos horneados.

4.3 Análisis proximal de los pastelitos de calabaza horneados

Se llevó a cabo un análisis proximal de los pastelitos horneados para determinar su composición a nivel macro molecular (Tabla 11). Los valores son reportados en base húmeda. La composición proximal de los pastelitos empacados presentó diferencias significativas en algunos de los parámetros medidos, según la comparación por Tukey.

Zambrano y colaboradores (2004) presentan la humedad de bizcochos bajos en grasa en un análisis proximal, encontrando que es el segundo componente en mayor cantidad siguiendo a los carbohidratos. También reportaron un porcentaje de grasa de 14.5 para bizcochos “light”, este resultado es menor al de sus estudios pero hay que considerar que son formulaciones distintas. El componente principal de la calabaza cruda es agua con un aporte de 88.72 gramos por cada 100 gramos de pulpa (USDA Agricultural Research Service, 2010). En los pastelitos horneados el componente principal fue también agua. La formulación a base de calabaza también tiene agua como componente principal (Navas y colaboradores, 2011). El contenido de grasa de la calabaza cruda es de 0.23 gramos/100 gramos de pulpa (USDA Agricultural Research Service, 2010) mientras que los pastelitos horneados tienen 9.50 gramos/100 gramos de producto aportados por otros ingredientes como la mantequilla y el huevo principalmente.

La réplica del testigo, lote 3 resultó con un contenido de cenizas más alto. Hay que tomar en cuenta que el contenido de cenizas puede cambiar de acuerdo a la variedad de calabaza y en este caso se trabajó con la misma variedad, la única diferencia fue el tiempo de cosecha. La calabaza cruda tiene 0.80 gramos cenizas/ 100 gramos de pulpa (USDA Agricultural Research Service, 2010) y los pastelitos horneados de calabaza poseen aproximadamente 2 gramos/100 gramos de producto que pueden ser aporte de minerales de otros componentes de la formulación. Las cenizas reflejan el contenido de minerales (materia inorgánica) de un alimento. Este contenido de cenizas es similar al encontrado en la formulación a base de calabaza como se esperaba (Navas y colaboradores, 2011).

Con respecto a las proteínas, la calabaza posee 1.45 gramos de proteína en 100 gramos de pulpa (USDA Agricultural Research Service, 2010). Los otros ingredientes de la formulación que contribuyen a los 6 gramos de proteína en el análisis pueden ser el huevo y la harina de trigo (no se encuentran en grandes cantidades en el producto).

Zambrano y colaboradores (2004) encontraron un contenido de proteínas similar en sus bizcochos bajos en grasa.

Los carbohidratos se estimaron por diferencia, restándole a un valor de 100, todos los porcentajes obtenidos. Luego de la humedad, estos resultaron ser el siguiente componente en mayor cantidad en la formulación. Los resultados concuerdan con lo esperado ya que además de los carbohidratos presentes en la calabaza (8.80 g/ 100 g pulpa) (USDA Agricultural Research Service, 2010) la formulación tiene un 14.4% de azúcar, tercer ingrediente en mayor cantidad. En los bizcochos bajos en grasa (Zambrano y colaboradores, 2004) se obtuvo una composición de carbohidratos mayor, aproximadamente 42%. Navas y colaboradores (2011) obtuvieron resultados similares en la formulación a base de calabaza. La prueba de Tukey demostró que no hubo diferencias significativas en el contenido de carbohidratos entre los tratamientos.

Tabla 11. Promedio de los componentes nutricionales de pastelitos horneados empacados en atmósfera gaseosa de aire y en atmósfera modificada de nitrógeno.

Tratamiento	% Humedad	% Grasa B.S.	% Ceniza B.S.	*% Proteína B.S.	% Carbohidratos B.S.
Testigo	46.30	9.60	2.31	6.37	81.72
Nitrógeno	47.24	9.49	1.96	6.01	82.54

B.S.= Base Seca * Proteína= %Nitrógeno * 6.25

4.4 Análisis de atributos químicos de los pastelitos horneados y el efecto del tiempo de almacenamiento

4.4.1 Cambios en la concentración de carotenos a través del tiempo de almacenamiento

El análisis de carotenos totales refleja que hubo cambio a través del tiempo de almacenamiento para el grupo testigo y para el tratamiento de atmósfera modificada. En la Tabla 12 y Figura 9 se muestra la concentración de carotenos totales en los lotes muestreados reflejando una disminución entre el primer y el último día de muestreo. El análisis estadístico muestra que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos. Sin embargo se observan concentraciones mayores de carotenos totales en el tratamiento.

La disminución observada era de esperarse ya que los carotenos son pigmentos que se afectan con el procesamiento de los alimentos, con el almacenamiento y con factores como la luz, la temperatura y el oxígeno. Rodríguez (1997) recalca que la retención de las provitaminas A durante el almacenamiento de los alimentos procesados se ve favorecida por una baja temperatura de almacenamiento, protección de la luz, exclusión de oxígeno, empaque con atmósfera modificada o impermeable al oxígeno y la presencia de antioxidantes naturales o agregados. Según lo previamente mencionado se esperaba que el tratamiento con atmósfera modificada favoreciera la retención de carotenos en el producto, pero la Figura 9 muestra que en ambos tratamientos hubo una disminución de estos pigmentos. Se observó que esta disminución fue menor en el empaque con atmósferas modificadas aunque no significativamente distinta a la reducción observada en el grupo testigo.

Hay varias investigaciones que demuestran que los carotenoides están más concentrados en la cáscara que en la pulpa de las frutas (Gross, 1981; Rodríguez, 1993). Por lo tanto, al pelar las frutas y vegetales se puede reducir considerablemente el contenido de los precursores de la vitamina A. En muestras pareadas de *C. pepo* y *C. moschata* inmaduras y sin pelar, se obtuvo contenidos de β -caroteno cinco veces mayores que en las muestras peladas (1.5 comparados con 0.3 y 1.0 comparados con 0.2 μ g/g, respectivamente) (Arima y Rodríguez, 1988).

Arima y colaboradores (1992) enlataron calabaza endulzada, previamente sometida a 10 minutos de escaldado, macerado y hervido durante 40 minutos, este proceso de cocción es similar al utilizado para los pastelitos horneados de calabaza. Al cuantificar los carotenos encontraron que los α - carotenos disminuyeron un 21%, mientras que el β -caroteno disminuyó un 35%. Bao y Chang (1994) estudiaron el efecto del procesamiento sobre las concentraciones de α y β -caroteno en jugo de zanahoria. La pérdida de estos pigmentos fue considerable después de la extracción de jugo. Los productos de jugos a partir de zanahorias no escaldadas mostraron mayores niveles de α y β -caroteno que los de zanahorias escaldadas.

Tabla 12. Concentración de carotenos totales en los pastelitos horneados de calabaza a través del tiempo de almacenamiento.

Tratamiento	Día de muestreo	Concentración de carotenos ($\mu\text{g/g}$)
Testigo	0	510.11
	56	402.82
Nitrógeno	0	500.21
	56	437.77

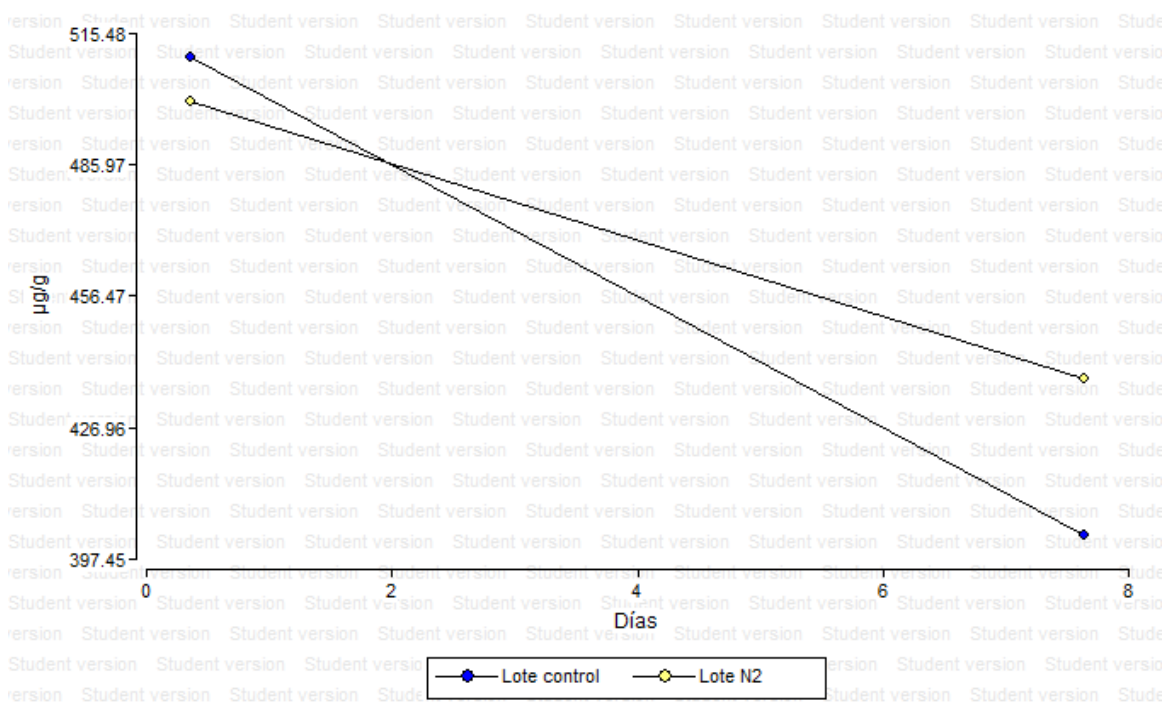


Figura 9. Cambios en el contenido de caroteno a través del tiempo de almacenamiento según tratamientos.

4.4.2 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el pH de los pastelitos horneados de calabaza

El análisis estadístico realizado a la prueba de pH indica que hubo diferencias significativas en todos los tratamientos y también se encontraron diferencias significativas a través del tiempo de almacenamiento (Tabla 13).

En un estudio realizado por Lee y colaboradores (1977) se encontró que purés de calabaza formulados con un pH de 4.00 y empacados con polietileno sufrieron degradación del ácido ascórbico y éste no ejerció su acción antioxidante. Esta degradación afectó el pH del puré a través del tiempo de almacenamiento. Stopforth y colaboradores (2005) encontraron que en una formulación la adición de dos antioxidantes minimizó la oxidación del ácido sórbico. Así que la baja reducción en pH de los pastelitos horneados de calabaza se puede explicar por un efecto sinérgico entre el ácido ascórbico y el sorbato de potasio en la formulación. El ácido ascórbico se le añadió al producto como un agente acidulante y antioxidante. Durante el horneado pudo perderse parte de este efecto antioxidante ya que la formulación de las barriguitas de vieja sin hornear tiene un pH aproximado de 4.6 versus valores de pH de 4.77 y 5.11 encontrados en el promedio de los pastelitos de calabaza horneados. En la formulación a base de calabaza también se observó una disminución del pH a través del almacenamiento (Navas y colaboradores, 2011).

Tabla 13. Variaciones en pH durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo	Nitrógeno
0	5.10	4.77
7	5.09	4.89
14	4.91	4.76
21	5.01	4.76
28	5.01	4.81
35	4.91	4.70
42	4.90	4.74
49	4.73	4.48
56	4.73	4.67

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

4.4.3 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el potencial de oxidación-reducción de los pastelitos horneados

Luego de determinar el potencial de oxidación-reducción semanalmente durante dos meses se encontró un leve aumento en esta medida durante el almacenamiento (Tabla

14). Este patrón se mantuvo constante tanto para el grupo testigo como para el empaque con atmósfera modificada. Los resultados del análisis estadístico muestran que hubo diferencias entre todos los tratamientos para este parámetro. Lo mismo se encontró en el efecto del tiempo de almacenamiento sobre el potencial redox.

Un resultado positivo demuestra que el alimento está oxidado (presencia de oxígeno), mientras que valores negativos muestran un alimento que se encuentra reducido (condiciones anaeróbicas). Este potencial mide cuán oxidado o reducido está un alimento pero el oxígeno no es la único promotor de la oxidación. El aumento en este parámetro se puede atribuir a reacciones promovidas por la luz, rancidez de grasas o de igual manera por alguna infiltración de oxígeno en el empaque.

Los componentes de la formulación también pueden promover reacciones de oxidación. Según Dirim y Çalička (2012) la actividad de agua en rangos mayores de 0.40 promueve reacciones de oxidación de lípidos, autooxidación y reacciones enzimáticas. Calligaris y colaboradores (2008) estimaron el largo de vida útil de palitos de pan donde un empaque impermeable no fue suficiente para detener las reacciones de oxidación de lípidos. Esta fue la principal causa de deterioro de este producto en conjunto a la pérdida de la textura crujiente. La formulación a base de calabaza presentó una disminución en el potencial de oxidación-reducción a través del tiempo de almacenamiento (Navas y colaboradores, 2011).

Tabla 14. Potencial de oxidación-reducción durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo (mV)	N2 (mV)
0	107.94	121.54
7	108.45	122.88
14	111.22	123.62
21	113.37	126.65
28	117.69	129.09
35	118.19	128.77
42	120.45	128.70
49	122.85	140.77
56	121.15	130.62

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

4.4.4 Efecto del tiempo de almacenamiento sobre el color de la muestra, parámetros L^* , a^* y b^* .

Durante los dos meses de almacenamiento se tomaron medidas semanales de los atributos de color del producto terminado. Los resultados muestran una disminución en los parámetros L^* , a^* y b^* a través del tiempo de almacenamiento (Tablas 15, 16 y 17), aunque el análisis estadístico muestra que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos a través del tiempo de almacenamiento en los tres parámetros de color muestreados. Gleiemmo y colaboradores (2009) encontraron que en puré de calabaza elaborado con ácido ascórbico y sorbato de potasio como preservativos a medida que el tiempo de almacenamiento aumentó los parámetros a y b disminuyeron. Algunos estudios relacionan la disminución de los parámetros a y b con una disminución en el contenido de carotenos (Ahmed y colaboradores, 2002; Ávila y Silva, 1999, Dutta y colaboradores, 2006; Shin y Bhowmik, 1995). En la formulación a base de calabaza se observó una disminución en los parámetros a y b a través del periodo de almacenamiento (Navas y colaboradores, 2011).

Aziah y Noor (2009) encontraron que en harina formulada a base de calabaza los valores de L^* fueron menores comparados con harina de trigo, atribuyéndoselo al color amarillento de la calabaza. La luminosidad promedio de la harina de calabaza fue de 63.45 y 64.93 respectivamente para harina con calabaza pelada y sin pelar.

Por otra parte, el parámetro a^* representa un color de rojo a verde según la escala de color de CieLab; donde valores positivos representan un color rojo y los negativos presentan un color verde. Los valores obtenidos presentaron colores rojos/magenta que también fueron disminuyendo a través del almacenamiento. Estos resultados reflejan que hay una disminución en el color rojo de la calabaza que se puede asociar a una degradación de los pigmentos carotenos presentes en la calabaza. Aziah y Noor (2009) encontraron que la harina formulada con la calabaza y su cáscara obtuvo mayores valores de a^* . Los valores altos se atribuyen a que la cáscara en la formulación contribuyó a aumentar el contenido de carotenos en la harina. Al formular los pastelitos horneados de calabaza se encontraron residuos pequeños de cáscaras que atravesaron el tamiz de la despulpadora. Los valores de a^* en la harina de calabaza antes mencionada fueron en promedio 15.68. Los pastelitos horneados fluctuaron aproximadamente entre 13 y 17.

El parámetro b^* muestra colores de amarillo a azul, donde valores positivos representan color amarillo y valores negativos color azul. Se encontró presencia de color amarillo en los pastelitos horneados y este fue disminuyendo a través del tiempo de almacenamiento. El color amarillo es representativo de los pigmentos carotenos que otorgan colores de rojo a amarillo en tejido vegetal. La disminución, al igual que en el parámetro a^* de esta medida se puede deber a la oxidación de los carotenos por factores como procesamiento, almacenamiento, luz u oxidación de grasas. Aziah y Noor (2009) encontraron que en sus harinas de calabaza los parámetros a^* y b^* se comportaron de manera similar. Se atribuye los valores de b^* mayores a los carotenos aportados por la cáscara de calabaza según discutido previamente. El valor promedio de b^* para la harina de calabaza sin pelar fue de 53.83 mientras que las barriguitas comenzaron con valores entre 38.00 y 40.00 aproximadamente.

Además de los parámetros antes mencionados se midió Hue y Chroma (Tabla 18 y 19). El primero representa dentro del sistema CIELAB cuan similar o distinta se ve una medida a los colores primarios: rojo, verde, amarillo o azul. Por otra parte Chroma se refiere a cuan brillante se ve un color que bajo otras condiciones se puede ver blanco, a veces se define como saturación de color. Aziah y Noor (2009) encontraron que la harina con calabaza sin pelar obtuvo una saturación mayor de color (Chroma) y el menor valor de Hue. Los valores promedio de Hue y Chroma para la harina de calabaza fueron de 56.07 y 73.76 respectivamente. Los pastelitos horneados de calabaza presentaron valores similares de Chroma y significativamente diferentes en el caso de Hue. Valores negativos de Hue indican que el alimento tiene colores más cercanos al anaranjado mientras que el rango de 60 se acerca a colores amarillos. No hubo diferencias significativas en estas medidas entre el lote testigo y el tratamiento con nitrógeno.

Tabla 15. Cambios en L* durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo	N2
0	49.30	47.28
7	46.62	47.38
14	45.65	46.26
21	47.42	47.33
28	42.83	46.03
35	42.48	46.70
42	44.52	47.88
49	41.37	45.53
56	43.00	46.99

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

Tabla 16. Cambios en a* durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo	N2
0	17.43	16.61
7	15.59	14.78
14	15.47	15.82
21	14.45	14.71
28	14.56	14.34
35	14.98	14.57
42	13.45	14.43
49	13.62	13.26

. N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

Tabla 17. Cambios en b* durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo	N2
0	40.41	38.75
7	37.00	35.65
14	36.78	41.95
21	36.74	35.59
28	35.03	34.62
35	32.05	35.51
42	32.94	35.11
49	31.03	33.29
56	30.43	34.51

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

Tabla 18. Cambios en Hue durante dos meses de almacenamiento según tratamientos

Día	Testigo	N2
0	66.64	66.79
7	67.14	67.51
14	67.17	69.14
21	68.55	67.56
28	66.08	67.50
35	64.84	67.69
42	67.81	67.64
49	66.25	68.27
56	66.33	68.10

. N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

Tabla 19. Cambios en Chroma durante dos meses de almacenamiento según tratamientos.

Día	Testigo	N2
0	36.56	30.83
7	43.35	41.73
14	40.10	35.56
21	39.93	38.93
28	38.76	37.58
35	47.57	36.96
42	33.35	37.64
49	33.98	38.57
56	32.14	34.79

N₂ – representa empaque con atmósfera modificada de nitrógeno.

5 CONCLUSIONES

La atmósfera modificada con nitrógeno no tuvo efecto en los atributos químico-físicos o microbiológicos de los pastelitos horneados de calabaza. Este gas es considerado un gas inerte, no es reactivo en condiciones normales de temperatura y presión. Las diferencias encontradas en los parámetros medidos se pudieron atribuir a diferentes factores, como lo son el procesamiento, la temperatura a la que se encontraba el producto al momento de tomar las muestras y la materia prima utilizada. Utilizar una atmósfera modificada con nitrógeno no disminuye la razón de deterioro en reacciones que determinan el largo de vida útil para pastelitos horneados de calabaza. Sin embargo el almacenamiento de los pastelitos horneados de calabaza a una temperatura de 4 °C por un periodo de almacenamiento de dos meses ayudó a mantener las características organolépticas aceptables hasta los últimos días de muestreo donde se comenzó a observar una disminución de la calidad en términos visuales y de textura.

La ausencia de coliformes en los pastelitos horneados a través del tiempo de almacenamiento confirma que se trabajó utilizando buenas prácticas de manufactura durante el procesamiento, el almacenamiento y muestreo del producto. Los coliformes son organismos indicadores; su presencia sugiere condiciones insalubres en el procesamiento o presencia de posibles bacterias patógenas. La calidad microbiológica de los pastelitos horneados de calabaza es buena en términos generales, en dos meses de almacenamiento no se detectó deterioro visual o en sabor provocado por actividad microbiana.

La actividad de agua se mantuvo constante a través del tiempo de almacenamiento y no hubo diferencias significativas entre tratamientos. Se puede especular que las reacciones químicas que promueven la pérdida de agua en alimentos fueron limitadas, de haber ocurrido.

En los atributos de textura se encontró que la dureza fue mayor en el producto empacado bajo atmósferas modificadas que en el testigo. Sin embargo estas diferencias están asociadas principalmente a reacciones moleculares a condiciones de procesamiento como a la penetración de la mantequilla en el producto durante el horneado o a la temperatura a la que se encontraban las muestras al momento de realizarles el análisis en el texturómetro.

El hecho de que la adhesividad no presentó diferencias significativas entre el empaque con aire y la atmósfera modificada se esperaba ya que al igual que con la dureza los atributos de textura se ven influenciados por condiciones similares; es principalmente importante la temperatura que poseía el producto al momento de la medición. La adhesividad de los pastelitos horneados puede ser un factor determinante en la vida útil del producto luego de 28 días de almacenamiento.

La cohesividad, al igual que la dureza, presentó diferencias entre los tratamientos. Se concluye que estas diferencias no se deben a la atmósfera modificada utilizada si no a las condiciones de procesamiento, reacciones químicas individuales y a temperatura durante el muestreo como a los demás atributos de textura.

En cuanto al contenido de carotenos se observó una disminución esperada al final del periodo de almacenamiento. Se concluye que ésta se debe a su degradación promovida por el procesamiento, almacenamiento, reacciones de oxidación de grasas y posiblemente fotooxidación. Aunque no hubo diferencias significativas entre el empaque testigo y la atmósfera modificada con nitrógeno se observó que el contenido de carotenos fue mayor con la atmósfera de nitrógeno, como se esperaba. El oxígeno presente en el empaque con aire pudo promover reacciones de oxidación que no se encontraron en el empaque con nitrógeno. Este gas podría ayudar a retardar reacciones que deterioren los carotenos.

El análisis proximal concordó con los valores reportados en la literatura. La atmósfera modificada no tiene efecto en la composición proximal de los pastelitos horneados de calabaza, ya que a la temperatura que se preservaron estas muestras previo al análisis no se esperaba que ocurrieran reacciones químicas que alteraran la composición del producto, siendo este el factor principal que justifica el hecho de que no hayan diferencias significativas entre los tratamientos.

En términos del pH de los pastelitos horneados no se encontraron diferencias significativas entre el empaque testigo y el empaque con nitrógeno. La atmósfera gaseosa no tuvo efecto en los cambios que sufrió el pH a través del periodo de almacenamiento.

Aunque no hubo diferencias, se observó un potencial de oxidación-reducción mayor en la atmósfera modificada, concluyendo que el nitrógeno no retarda las reacciones oxido-reducción en pastelitos de calabaza horneados y empacados.

Los atributos de color medidos: L^* , a^* y b^* no fueron afectados de forma significativa por la atmósfera gaseosa utilizada. En el caso de L^* se observó una disminución a través del tiempo de almacenamiento y esta reducción fue más marcada para el grupo testigo.

La disminución observada en el parámetro a^* fue tal y como se reportó en la literatura. Los valores positivos presentan un color rojo/magenta correspondiente al color que le otorgan los carotenos a la calabaza. Así que se concluye que la disminución en a^* a través del tiempo de almacenamiento tiene una relación proporcional a la reducción de carotenos.

Un patrón similar al encontrado en a^* se observó en el parámetro b^* . Este último presentó valores positivos a través del tiempo de almacenamiento, mostrando la presencia de colores amarillos. Los colores rojos, amarillos y anaranjados son característicos de pigmentos carotenoides, entre otros. La disminución de estos pigmentos al igual que en a^* se esperaba y se asocia a reacciones que promovieron la degradación de carotenos durante el procesamiento y el almacenamiento. Al no encontrarse diferencias significativas entre tratamientos se concluye que el nitrógeno no tiene efecto en la degradación del color de este producto a través del tiempo de almacenamiento.

Por otra parte los valores de Hue y Chroma se obtuvieron de la data de color, así que dependen de lo que se obtuvo particularmente en a^* y en b^* . Hue presentó valores que se acercan a colores anaranjados, lo que recalca nuevamente el contenido de pigmentos carotenoides. Mientras que Chroma se mantuvo bastante constante, demostrando que no hubo cambios en la saturación del color a través del tiempo de almacenamiento. Este valor fue positivo ya que se calcula con la suma de $(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$.

6 RECOMENDACIONES

Para trabajos futuros se recomienda utilizar diferentes atmósferas modificadas o diferentes empaques para determinar cuál es la opción más efectiva en extender la vida útil. Según estudios una atmósfera modificada con contenidos altos de CO₂ o un empaque con absorbentes de oxígeno fueron efectivos desde el punto de vista microbiano y de la misma manera podrían evitar reacciones químicas de deterioro mediadas por oxígeno.

Se sugiere que se realice un panel sensorial de la formulación final para determinar la aceptación de los pastelitos horneados de calabaza en supermercados como un posible producto para comercializar.

El almacenamiento en abuso de temperatura y temperaturas de congelación se puede evaluar para determinar el largo de vida útil de los pastelitos horneados en diferentes condiciones de temperatura.

Se puede sustituir el ácido ascórbico por una mezcla de antioxidantes para evaluar su efectividad retardando la degradación de los carotenoides en el producto.

Se puede medir el efecto de la cocción sobre la degradación del ácido ascórbico y del sorbato de potasio.

7 REFERENCIAS

- Abellana, M., Torres, L., Sanchis, V., Ramos, A.J. 1997. Caracterización de diferentes productos de bollería industrial. II. Estudio de la microflora alimentaria. 287, p. 51-56.
- Abellana, M., Benedí, J., Sanchis, V., Ramos, A.J. 1999. *Water activity and temperature effects on germination and growth of Eurotium amstelodami, E. chevalieri and E. herbariorum isolates from bakery products*. J. Appl. Microbiol. 87, p. 371–380.
- Advisory Committee on the Microbiological Safety of Foods. 1992. *Report on Vacuum Packaging and Associated Processes*. Her Majesty's Stationery Office, London UK.
- Ahmed, J., Shivhare, U.S., Sandhu, K.S. 2002. *Thermal degradation kinetics of carotenoids and visual color of papaya puree*. Journal of Food Science. 67, p. 2692–2695.
- AOAC INTERNATIONAL. 1990. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Fifteenth Edition, Vol. I, II. 2200 Wilson Boulevard Arlington, Virginia 22201 USA. AOAC INTERNATIONAL. p.1298.
- AOCS. 2005. *Official Method Am 5-04*. American Oil Chemist's Society. Urbana, Illinois, USA.
- Arima, H., Rodríguez D.B. 1988. *Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins*. J. Micronutr. Anal. 4: 177-191.
- Arima H., Rodríguez A., Delia B. 1990. *Carotenoid composition and vitamin A value of a squash and a pumpkin from northeastern Brazil*. Arch. Latinoam. Nutr. 40(2): 284-92.
- Arima, H., Rodríguez D.B., Nirida, A.L.A.C. 1992. *Efeito do processamento em escala piloto e do preparo doméstico nos carotenóides de abóbora*. Paper presented at XIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, São Paulo.Brazil.
- Ávila, I.M.L.B., Silva, C.L.M. 1999. *Modelling kinetics of thermal degradation of colour in peach puree*. Journal of Food Engineering. 39: 161–166.
- Aydin, A., Asku H., Taskanal, N., Gunsen, U. 2009. *Microbiological, Physico-Chemical and Toxicological Quality of Traditional Turkish Cheese Desserts*. Journal of Food Quality. 32(5): 590-606.

- Azevedo C.H., Rodríguez, D.B. 2007. *Qualitative and Quantitative Differences in Carotenoid Composition among Cucurbita moschata, Cucurbita maxima and Cucurbita pepo*. J. Agric. Food Chem. 55: 4027-4033.
- Aziah, A.A., Noor. 2009. *Physicochemical and Functional Properties of Peeled and Unpeeled Pumpkin Flour*. Journal of Food Science, an official publication of the Institute of Food Technologists. 74(7): s328-s333., Blackwell Publishing Inc. [electronic resource] Available from: <http://library.uprm.edu:2117/login.aspx?direct=true&db=agr&AN=IND44255109&site=ehost-live>.
- Bacteriological Analytical Manual. 2003. *Chapter 1. Food Sampling and Preparation of Sample Homogenate*. Available from: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM063335>.
- Bao, B., Chang K.C. 1994. *Carrot juice color, carotenoids, and nonstarchy polysaccharides as affected by processing conditions*. J. Food Sci. 59: 1155-1158.
- Baylis, C.L., MacPhee, S., Robinson, A.J., Griffiths, R., Lilley, K., Betts, RP. 2004. *Survival of Escherichia coli O157:H7, O111:H- and O26:H11 in artificially contaminated chocolate and confectionery products*. International Journal of Food Microbiology. 96(1): 35-48.
- Beaver, L. W. 2009. *Tropical Pumpkin (Squash) Breeding*. University of Puerto Rico at Mayagüez. Online Source. Available from: academic.uprm.edu/lbeaver/id16.htm
- Beattie, S.H., Williams A.G., 2002. *Growth and diarrhoeagenic enterotoxin formation by strains of Bacillus cereus in vitro in controlled fermentations and in situ in food products and a model food system*. Food Microbiology. 19(4): 329-340.
- Belitz, H.D., Grosch, W. 1999. *Food Chemistry*. Springer, Berlin.
- Bennion, E. B., Bamford, G. S. T. 1997. *Packaging. In the technology of cake making*. 6th ed., p. 353–376. Blackie Academic and Professional.
- Black, R.G., Quail, K.G., Reyes, V., Kuzyc, M., Ruddick, L. 1993. *Shelf life extension of pita bread by modified atmosphere packaging*. Food Australia. 45: 387-90.
- Bleiel, J. 2010. *Functional foods from the perspective of the consumer: How to make it a success?* International Dairy Journal. v 20: 303-306.
- Bloukas, J.G., Arvanitoyannis, I.S., Siopi, A.A. 1999. *Effect of natural colorant and nitrites on color attributes of frankfurters*. Meat Sci. 52(3): 257–65.

- Bottger, I. 1990. *Pectin application—Some practical problems*. In G. O. Phillips, D. J. Wedlock, & P. A. Williams (Eds.), *Gums and stabilisers for the food industry*. Oxford, UK: IRL Press. 5: 247-256.
- Brody, A., Bugusu, L., Han, Jung H. 2008. *Innovative Food Packaging Solutions*. Journal of Food Science. 73: 1750-3841.
- Burton, G. W. 1989. *Antioxidant action of carotenoids*. J. Nutr. 119: 109-111.
- Calligaris, S. S., Pieve, S.D., Kravina, G., Manzocco, L., Nicoli, C.M. 2008. *Shelf Life Prediction of Bread Sticks Using Oxidation Indices: A Validation Study* [electronic resource]. Journal of Food Science An Official Publication Of The Institute Of Food Technologists, 73(2): e51-e56.
- Chirife, J., Favetto, J. 1992. Some physico-chemical basis of food preservation by combined methods. Applied Technology. 25: 389–396.
- Chuang, G.C., Yeh, A. 2006. *Rheological characteristics and texture attributes of glutinous rice cakes (mochi)*. Journal of Food Engineering. 74(3): 314–323.
- Coventry, M.J., Hickey, M.W., Mawson R., Drew, P., Wan, J., Krause, D., Boghossian, V. 1998. The comparative effects of nitrogen and oxygen on the microflora of beef steaks in carbon dioxide-containing modified atmosphere vacuum skin-packaging (MA-VSP) systems. Lett. Applied Microbiology. 26(6): 427-31.
- Daniels, J.A., Krishnamurthi, R., Rizvi, S.H. 1985. *A review of effects of carbon dioxide on microbial growth and food quality*. Journal of Food Protection. 48: 532–537.
- Davis, J.G. 1932. *The oxidation-reduction potentials of ripening cheddar cheese*. J. Dairy Res. 3: 241–53.
- De, Escada P., Marina, F., Rojas, AM., Campos, C., Gerschenson, L.N. 2009 a. *Pumpkin (Cucurbita moschata Duchesne ex Poiret) mesocarp tissue as a food matrix for supplying iron in a food product. [electronic source]* Journal of Food Engineering. New York, NY. Elsevier Science Pub.
- Decker, E. A., Hultin, H. O. 1992. *Lipid oxidation in muscle foods via redox iron*. In A. J. St Angelo, ed., *Lipid Oxidation in Foods*. American Chemical Society Series. 500: 33-54. American Chemical Society Books.
- Decker, E.A., Xu, Z. 1998. *Minimizing rancidity in muscle foods*. Food Technology. 52: 54–59.

- Del Nobile, M. A., Martoriello, T., Cavella, S., Giudici, P. P., Masi, P. 2003. *Shelf life extension of durum wheat bread*. Italian Journal of Food Science: IJFS = Rivista Italiana Di Scienza Degli Alimenti. 15(3): 383-394.
- Del Torre, M., Stecchini, M.L., Braconnier, A., Peck, M.W. 2004. *Prevalence of Clostridium species and behaviour of Clostridium botulinum in gnocchi, a REPFED of italian origin*. International Journal of Food Microbiology. 96(2): 115–131.
- Departamento de Agricultura del Estado Libre Asociado de Puerto Rico. 1998. *Calendario de Abundancia*.
- Departamento de Agricultura. 2009. Estado Libre Asociado de Puerto Rico. *Producción Agrícola año 2007/08*. Cited available from: <http://www.agricultura.gobierno.pr/>.
- Dirim, S.N., Çalička, G., 2012. *Determination of the Effect of Freeze Drying Process on the production of pumpkin (Cucurbita moschata) puree powder and the powder properties*. Department of Food Engineering, Ege University, Bomova, Izmir, Turkey, p. 203
- Dlamini, B. C., Buys, E. M. 2009. *Survival and growth of acid adapted Escherichia coli strains in broth at different pH levels* [electronic resource]. *Journal of Food Safety*. 29(3), p. 484-497.
- Dutta D., Dutta, A., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R. 2006. *Rheological characteristics and thermal degradation kinetics of beta-carotene in pumpkin puree*. Journal of Food Engineering. 76: 538–546.
- Earle, M.D., Putt, G.J. 1984. *Microbial spoilage and use of sorbate in bakery products*. Food Technol. N.Z. 19: 25–36.
- Estación Experimental Agrícola. 1998. *Conjunto Tecnológico para la producción de calabaza*. Universidad de Puerto Rico. Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico en Mayagüez. Publicación 155.
- Estación Experimental Agrícola. 2012. *Conjunto Tecnológico para la producción de calabaza*. Colegio de Ciencias Agrícolas, Universidad de Puerto Rico en Mayagüez, Publicación 155.
- Falconer, M. E., Fishwick, M. J. 1964. *Carotene oxidation and off-flavor development in dehydrated carrot*. J. Sci. Food Agric. 15: 897-901.
- Ferriol, M. (Tesis doctoral). 2006. *Cucurbita species: Taxonomy, terminology, description, uses and intra-specific classification. Origin and domestication. Development of cultivars*. Directores: F. Nuez and B. Picó. EUROPEAN

CENTRAL CUCURBITS DATABASE ONLINE TAXONOMY. Universidad Politécnica de Valencia, Spain. Versión electrónica en: http://www.comav.upv.es/taxonomy_intro.html.

- Food and Agriculture Organization/World Health Organization/United Nations University. 1985. World Health Organization Technical Report Series, 724, WHO, Geneva, Switzerland.
- Food and Agriculture Organization/World Health Organization/United Nations University. 1998. *Carbohydrates in human nutrition*. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. 92(5):104114-104118.
- Fox, P.F., Guinee, T.P, Cogan, T.M., Mc Sweeney P.L.H. 2000. *Fundamentals of cheese science*. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers. p.587.
- Fustier, P., Lafond, A., Champagne, C.P., Lamarche, F. 1998. *Effect of inoculation techniques and relative humidity on the growth of molds on the surfaces on yellow layer cakes*. Applied Environmental Microbiology. 64: 196-96.
- Gambaro, A., Varela, P., Giménez, A., Aldrovandi, A., Fiszman, S.M., Hough, G. 2002. *Textural quality of white pan bread by sensory and instrumental measurements*. J. Texture Studies. 33: 401–413.
- Gambaro, A., Fiszman, S., Giménez, A., Varela, P., Salvador, A. 2004. *Consumer acceptability compared with sensory and instrumental measures of white pan bread: Sensory shelf-life estimation by survival analysis*. J. Food Sci. 69: S401–S405.
- Gambaro, A., Gimenez, A., Gastón, A., Giraldi, V. 2006. *Influence of enzymes on the texture of brown pan bread*. J. Texture Studies. 37: 300–314.
- Gelinas, P., Roy, G., Guillet, M. 1999. *Relative effects of ingredients on cake staling based on an accelerated shelf-life test*. Journal of Food Science. 64: 937–940.
- Glass, K.A., Loeffelholz, J.M., Ford, J.P., Doyle, M.P. 1992. *Fates of Escherichia coli as affected by pH or sodium chloride and in fermented dry sausage*. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2513–2516.
- Gleiemmo, M.F., Latorre, M.F., Gerschenson, L.N., Campos, C.A. 2009. *Color stability of pumpkin Cucurbita moschata, Duchesne ex Poiret) puree during storage at room temperature: Effect of pH, potassium sorbate, ascorbic acid and packaging material*. Universidad de Buenos Aires, Ciudad Universitaria, 1428, Argentina. p. 196-201
- Gómez, M., Ruiz, E., Oliete, B., Pando, V. 2009. *Modeling of Texture Evolution of Cakes During Storage*. Journal of Texture Studies. 34: 17-33.

- Gorden, J., Small, P.L.C. 1993. *Acid resistance in enteric bacteria*. Infect. Immun. 61: 364–7
- Gross, J. 1981. *Pigment changes in the flavedo of Dancy tangerine (Citrus reticulata) during ripening*. Z. Pflanzenphysiol. 103: 451-457.
- Gunawan, M.I., Barringer, S.A. 2000. *Green color degradation of blanched broccoli (Brassica oleracea) due to acid and microbial growth*. Journal of Food Processing and Preservation. 24: 253–263.
- Guy, R.C.E. 1983. *Factors affecting the staling of madeira slab cake*. Journal of Science and Food Agric. 34: 477–491.
- Guynot, M.E., Marín, S., Sanchis, V., Ramos, A.J. 2005. *An attempt to optimize potassium sorbate use to preserve low pH (4.5–5.5) intermediate moisture bakery products by modelling Eurotium spp., Aspergillus spp. and Penicillium corylophilum growth*. International Journal of Food Microbiology. 101(2): 169-177.
- Hatheway, C.L. 1992. *Clostridium botulinum and other clostridia that produce botulinum toxin*. Ecology and Control in Foods, Marcel Dekker, New York, p. 3-20.
- Hayakawa, K.,Timbers, G.E. 1977. *Influence of heat treatment on the quality of vegetables; changes in visual color*. Journal of Food Science. 42: 778–791.
- Hunt, R.W.G. 1991. *Measuring color*. Ellis Horwood, Chicester, UK. 2nd ed., p.145–147.
- Hutchings, J.B. 1999. *Food color and appearance*. Gaithersburg, Md.: Aspen Publishers. p. 544-545.
- Ji, Y., Zhu, K., Qian, H., Zhou, H. 2007. *Effect of water activity and temperature on growth of Penicillium citreoviride and Penicillium citrinum on MiGao (rice cake)*. Canadian Journal of Microbiology. 53(2): 231-6.
- Ji, Y., Ma, J., Zhu, K., Chen, Z., Zhou, Qian, H. 2010. *Effects of Different Additives on Rice Cake Texture and Cake Staling [electronic resource]*. Journal of Texture Studies. 41(5): 703-713.
- Karaoglu, M.M.,Kotancilar, H.G., Gurses, M. 2005. *Microbiological Characteristics of Part-Baked White Pan Bread During Storage*. International Journal of Food Properties. (2): 355-365.

- Khouryieh, H. A., Herald, T. J., & Aramouni, F. M. 2005. *Physical and sensory characteristics of no-sugar-added/low-fat muffin*. Journal of Food Quality. 28(5-6): 439-451.
- Klaui, H., Bauernfeind, J.C. 1981. *Beta- carotene as food color*. J.C. Bauernfeind (Ed.), Beta-carotene as colorants and vitamin A precursor, Academic Press, New York, p.71–76.
- Krinsky, N. I. 1989. *Antioxidant functions of carotenoids*. Free Radical Biol. Med. 7: 617-635.
- Krokida, M.K., Maroulis, Z.B., Saravacos, G.D. 2001. *The effect of the method of drying on the color of dehydrated products*. International Journal of Food Science and Technology. 36: 53–59.
- Ladikos, D., Lougovois, V. 1990. *Lipid oxidation in muscle foods a review*. Food Chemistry. 35: 295–314.
- Lee, Y.C., Kirk, J.R., Bedford, C.L., Heldman, D.R. 1977. *Kinetics and computer simulation of ascorbic acid stability of tomato juice as functions of temperature, pH and metal catalyst*. Journal of Food Science. 42 (3): 640–644, 648.
- Legan, J.D. 1993. *Mould spoilage of bread: The problem and some solutions*. J. Int. Biodeterior. Biodegrad. 32: 33–53.
- Leistner, L. 1992. *Food preservation by combined methods*. Applied Technology. 25: 151–158.
- Leuschner, R.G.K., O' Callaghan, M.J.A., Arendt, E.K. 1997. *Optimization of baking parameters of part-baked and rebaked Irish Brown soda bread by evaluation of some quality characteristics*. International Journal of Food Science and Technology. 32: 487–493.
- Leuschner, R.G.K., O' Callaghan, M.J.A., Arendt, E.K. 1999. *Moisture distribution and microbial quality of part baked breads as related to storage and rebaking conditions*. Journal of Food Science. 64(3): 543-54.
- Lin, J., Smith, M.P., Chapin, K.C., Baik, H.S., Bennett, G.N., Foster, J.W. 1996. *Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic Escherichia coli*. Appl. Environ. Microbiol. 62: 3094–3100.
- Lu, L.; Fang, X. 2010. *Effects of initial oxygen concentration and oxygen-barrier property of film on fat oxidation rate of packed cookies*. Available

from:<http://library.uprm.edu:2117/login.aspx?direct=true&db=agr&AN=IND44255109&site=ehost-live>

- Marty, C., Bersit, C., 1988. *Degradation products of trans β -carotene produced during extrusion cooking*. Journal of Food Science. 53: 1880–1886.
- Maskan, M. 2001. *Kinetics of color change of kiwifruits during hot air and microwave drying*. Journal of Food Engineering. 48: 169–175.
- Mathews-Roth, M. M. 1985. *Carotenoid and cancer prevention.experimental and epidemiological studies*. Pure Applied Chemistry. 57: 717-722.
- Mead, C.G., 1992. *Principles involved in the detection and enumeration of clostridia in foods*. Journal of Food Microbiology. 17: 135-143.
- Melendez, A.J. 2007. *Review: Analysis of carotenoids in orange juice [electronic resource]*.Detail Only Available, Journal of Food Composition and Analysis. 20 (7): 638-649.
- Mohamed, S. S., Hamid, N. A. 1998. *Effects of ingredients on the characteristics of rice cakes*. Journal of the Science of Food and Agriculture. 76(3): 464-468.
- Nagle, B.J., Villalon, B., Burns, E.E. 1979. *Color evaluation of selected capsicums*. Journal of Food Science. 44: 416–418.
- Navas, N., Orellana, L., Pérez, F., Negrón, E. 2011. *Optimización y determinación del largo de vida útil de mezcla a base de calabaza (Cucurbita moschata)*. Tesis de maestría no publicada, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez.
- Nawirska, A., Biesada, A., Sokól, L.A., Kucharska, A.Z. 2011. *Content of Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Pumpkin Puree Enriched With Japanese Quince, Cornelian Cherry, Strawberry and Apples**. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 10(1): 51-60.
- Noor, A., Komathi, C., 2009. *Physicochemical and functional properties of peeled and unpeeled pumpkin flour*. Journal of Food Science. 74(7): 328-333.
- Ooraikul, B. 1991. *Modified atmosphere packaging of Bakery Products in: Modified Atmosphere Packaging of Food (edited by B. Ooraikul & M.E. Stiles)*. Ellis Horwood: Chichester. p. 38–114.
- Palozza, P., Krinsky, N.I. 1992. *Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: An overview*. Methods Enzymol. 2(3): 403-420

- Pearson, A.M. Gray, J.I., Wolzak, A.M., Horenstein, N.A. 1983. *Safety implications of oxidized lipids in muscle foods*. Food Technology. 37: 121–129.
- Peck, M.W. 2002. *Clostridia and food-borne disease*. Microbiology Today. 26: 9-12.
- Pernille, N.J., Risbo, J. 2007. *Oxidative stability of snack and cereal products in relation to moisture sorption*. Journal of Food Chemistry. 103: 717-724. Available from: www.sciencedirect.com
- Pittchkina, N.M., 1998. *Large enhancements in loaf volume and organoleptic acceptability of wheat bread by small additions of pumpkin powder: possible role of acetylated pectin in stabilising gas-cell structure*. Food Hydrocolloids. 12 (3): 333-337.
- Pittchkina, N.M., Markina, O.A., Rumyantseva, G.N., 2008. *Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes*. Food Hydrocolloids. 22: 192–195.
- Que, F., Mao L., 2008. *Comparison of hot air-drying and freeze-drying on the physicochemical properties and antioxidant activities of pumpkin (Cucurbita moschata Duch.) flours*. International Journal of Food Science & Technology. 43(7): 1195-1201.
- Rhaman M.S., Labuza, T.P. 1999. *Water Activity and Food Preservation*. Marcel Dekker, New York. p. 339-382.
- Rigg, B. 1987. *Colorimetry and the CIE systems*. R. McDonald (Ed.), Color physics for industry, Society of Dyers and Colorists, Bradford, UK, p. 65–67.
- Roca, E., Guillard, V., Guilbert, S., Gontard, N. 2006. *Moisture migration in a cereal composite food at high water activity: Effects of initial porosity and fat content*. Journal of Cereal Science. (2): 144-151. Available from: www.sciencedirect.com.
- Rodríguez, D.B. 1993. *Nature and distribution of carotenoids in foods.*'' In *Shelf-Life Studies of Foods and Beverages. Chemical, Biological, Physical and Nutritional Aspects*. Ed. by G. Charalambous. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, p. 547-589.
- Rodríguez, D.B. 1997. Carotenoides y preparación de alimentos. *La Retención de los carotenoides Provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados*. Departamento de Ciências de Alimentos. Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. C.P. Campinas, SP., Brasil 6121, p. 13083-970.
- Rodríguez, D.B. 1999. *Changes in beta-carotenes during processing and storage of foods*. Archivos Latino Americanos De Nutrition. 49: 38S–47S.

- Rosell, C.M., Rojas, J.A., De Barber, B.C. 2001. *Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality*. Food Hydrocolloids. 15: 75–81.
- Salzman, M. 2011. *Five Food Trends for 2012 and Beyond*. Institute of Food Technologists. Euro RSCG Worldwide. The Big Little Book of Nexts: Trendspotting for 2012.
- Sanguinetti, A.M., Secchi, N., Del Caro, A., Stara, G., Roggio, T, Piga, A. 2008. *Effectiveness of active and modified atmosphere packaging on shelf life extension of a cheese tart*. Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e Biotecnologie Agro-Alimentari, Università degli Studi di Sassari, Viale Italia 39/A, 07100 Sassari, Italy 2 Porto Conte Ricerche Srl, Località Tramariglio, 07041 Alghero (SS), Italy. Available from: <http://www3.interscience.wiley.com/journal/122368399/issue>.
- Sartorius. 2012. *Instrucciones de funcionamiento- Sartorius Moistur Analyzer Modelo MA35*. Sartorius Weighing Technology GmbH, Goettingen (Alemania). p. 1-33.
- Seiler, D.A.L. 1989. *Envasado en atmósferas modificadas de los productos de panadería*. In: *Envasado de Alimentos en Atmósferas Controladas, Modificadas y a Vacío* (edited by A.L. Brody). Zaragoza: Acribia. p. 141–157.
- Shin, S., Bhowmik, S.R., 1995. *Thermal kinetics of color changes in pea puree*. Journal of Food Engineering. 27: 77–86.
- Simpson, K. L. 1983. *Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A*. Proc. Nutr. Soc. 42: 7-17.
- Smith, J.P., Khanizadeh, S., van de Voort, F.R., Hardin, R., Ooraikul, B., Jackson, E.D. 1988. *Use of response surface methodology in shelf life extension studies of a bakery product*. Food Microbiology. 5: 163–176.
- Smith, J.P., Koukoutsis, J.J., Daifas, D.P., El-Khoury, W., El- Khoury, A. 2004. *Shelf life and safety concerns of bakery products- a review*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 44(1): 19-55.
- Sofos, J.N., Busta, F.F. 1981. *Antimicrobial activity of sorbate*. Journal of Food Protection. 44: 614-622, 647.
- Stopforth, J., Sofos, J.N., Busta, F.F. 2005. *Sorbic acid and sorbates*. Davidson, Sofos, Brannen (Eds.), Food Antimicrobials, Taylor & Francis Group, FL, USA, p. 49–75.

- Suhr, K.I., Nielsen, P.V. 2006. *Inhibition of Fungal Growth on Wheat and Rye Bread by Modified Atmosphere Packaging and Active Packaging Using Mustard Essential Oil*. Journal of Food Science. 70(1): 37-44.
- Sych, J., Castaigne, F., Lacroix, C. 1987. *Effects of initial moisture content and storage relative-humidity on textural changes of layer cakes during storage*. Journal of Food Science. 52: 1604–1610.
- The Federal Register/ FIND. 2010. *National Primary Drinking Water Regulations: Revisions to the Total Coliform Rule*. Lanham. 75(134): 40926. Available from: <http://proquest.umi.com/pqdlink?Ver=1&Exp=08-262015&FMT=7&DID=2079531761&RQT=309&cfc=1>.
- Topcu, A.A., McSweeney, P.H., McKinnon, I. 2008. *Measurement of the Oxidation-Reduction Potential of cheddar Cheese* [electronic resource]. Journal of Food Science, an Official Publication of The Institute of Food Technologists. 73(3): c198-c203.
- US Food and Drug Administration (USFDA), 1998. *Guidance for Industry. Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables*. US Food and Drug Administration, Washington, DC.
- U.S. Food and Drug Administration (US FDA). 2003. *Center for Food Safety and Applied Nutrition. Guidance for Industry: Guide to Minimize Microbial Food Safety Hazards for Fresh Fruits and Vegetables*.
- USDA Agricultural Research Service. 2010. *Nutrient Data Laboratory*. Online Source. Available at: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
- Valdez, V. 1991. *Cultivos de hortalizas en trópicos y subtrópicos*. Editora Corrimpio, C. por A. Santo Domingo, República Dominicana. p. 215-221.
- Van Nieuwenhuijzen, N.H., Primo-Martín, C., Meinders, M.B., Tromp, R.H., Hamer, R.J., van Vliet, T. 2008. *Water Content or Water Activity: What Rules Crispy Behavior in Bread Crust?* Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 6432-38.
- Vytrásová, J., Příbáňová, P., Marvanová, L. 2002. *Occurrence of xerophilic fungi in bakery gingerbread production*. 72 (1–2, 30): 91–96.
- Wheeler, K.A., Hocking, A.D., Pitt, J.I. 1988. *Effect of temperature and water activity on germination and growth of Wallemia sebi*. Trans. Br. Mycol. Soc. 90: 365–368.

- Ying, J., Zhu, K., Chen, Z.C., Zhou, H., Ma, J., Qian, H. 2010. *Effects of Different Additives on Rice Cake Texture and Cake Staling*. Journal of Texture Studies. 41: 703-713.
- Zambrano, F. F., Faria, E. V., Despinoy, P., Ormenese, P. 2004. *The use of guar and xanthan gums in the production of 'light' low fat cakes*. International Journal of Food Science & Technology. 39(9): 959-966.

8 APÉNDICES

8.1 Resultados estadísticos

Recuento de Coliformes

Analysis of variance

10-1

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
10-1	36	nd	nd	nd

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	nd	nd
Dia	0.00	8	0.00	nd	nd
Error	0.00	27	0.00		
Total	0.00	35			

10-2

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
10-2	36	nd	nd	nd

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	nd	nd
Dia	0.00	8	0.00	nd	nd
Error	0.00	27	0.00		
Total	0.00	35			

10-3

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
10-3	36	nd	nd	nd

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	nd	nd
Dia	0.00	8	0.00	nd	nd
Error	0.00	27	0.00		
Total	0.00	35			

10-4

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
10-4	36	nd	nd	nd

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	nd	nd

Dia	0.00	8	0.00	nd	nd
Error	0.00	27	0.00		
Total	0.00	35			

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	36	0.00	0.00	51.64

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Dia	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Error	45.00	27	1.67		
Total	45.00	35			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=3.07153

Error: 1.6667 df: 27

Dia	Means	n	S.E.	
35	2.50	4	0.65	A
42	2.50	4	0.65	A
49	2.50	4	0.65	A
56	2.50	4	0.65	A
28	2.50	4	0.65	A
0	2.50	4	0.65	A
7	2.50	4	0.65	A
14	2.50	4	0.65	A
21	2.50	4	0.65	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Recuento de Microorganismos Anaerobios

Analysis of variance

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	35	0.02	0.00	49.98

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.69	8	0.09	0.05	0.9999
Día	0.69	8	0.09	0.05	0.9999
Error	42.00	26	1.62		
Total	42.69	34			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=3.08223

Error: 1.6154 df: 26

Día	Means	n	S.E.	
28	2.50	4	0.64	A
35	2.50	4	0.64	A
42	2.50	4	0.64	A

49	2.50	4	0.64	A
0	2.50	4	0.64	A
7	2.50	4	0.64	A
21	2.50	4	0.64	A
14	2.50	4	0.64	A
56	3.00	3	0.73	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Log UFC

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Log UFC	36	0.44	0.28	42.58

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	27.93	8	3.49	2.70	0.0253
Día	27.93	8	3.49	2.70	0.0253
Error	34.90	27	1.29		
Total	62.84	35			

Test: Tukey Alpha=0.05 LSD=2.70511

Error: 1.2927 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
56	0.89	4	0.57	A
49	1.44	4	0.57	A B
0	2.56	4	0.57	A B
42	2.69	4	0.57	A B
35	2.93	4	0.57	A B
7	3.23	4	0.57	A B
14	3.28	4	0.57	A B
28	3.30	4	0.57	A B
21	3.73	4	0.57	B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Recuento de Hongos y Levaduras

Analysis of variance

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	36	0.00	0.00	51.64

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Día	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Error	45.00	27	1.67		
Total	45.00	35			

Test: Tukey Alpha=0.05 LSD=3.07153

Error: 1.6667 df: 27

Día	Means	n	S.E.
35	2.50	4	0.65 A
42	2.50	4	0.65 A
49	2.50	4	0.65 A
56	2.50	4	0.65 A
28	2.50	4	0.65 A
0	2.50	4	0.65 A
7	2.50	4	0.65 A
14	2.50	4	0.65 A
21	2.50	4	0.65 A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Recuento

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Recuento	36	0.48	0.33	43.65

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	17.78	8	2.22	3.13	0.0122
Día	17.78	8	2.22	3.13	0.0122
Error	19.15	27	0.71		
Total	36.93	35			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=2.00373

Error: 0.7093 df: 27

Día	Means	n	S.E.
56	0.60	4	0.42 A
49	1.14	4	0.42 A B
0	1.40	4	0.42 A B
7	2.02	4	0.42 A B
21	2.12	4	0.42 A B
14	2.17	4	0.42 A B
42	2.39	4	0.42 A B
28	2.60	4	0.42 A B
35	2.94	4	0.42 B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Análisis de Actividad de Agua

Analysis of variance

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Aw	108	0.41	0.35	1.55

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.01	11	1.3E-03	6.16	<0.0001
Días	0.01	8	1.2E-03	5.70	<0.0001
Lote	4.7E-03	3	1.6E-03	7.38	0.0002
Error	0.02	96	2.1E-04		
Total	0.03	107			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.01890

Error: 0.0002 df: 96

Días	Means	n	S.E.		
0	0.92	12	4.2E-03	A	
49	0.94	12	4.2E-03	A	B
35	0.94	12	4.2E-03		B
7	0.94	12	4.2E-03		B
14	0.94	12	4.2E-03		B
56	0.94	12	4.2E-03		B
28	0.95	12	4.2E-03		B
21	0.95	12	4.2E-03		B
42	0.95	12	4.2E-03		B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.01038

Error: 0.0002 df: 96

Lote	Means	n	S.E.		
3	0.93	27	2.8E-03	A	
4	0.94	27	2.8E-03	A	
1	0.94	27	2.8E-03	A	B
2	0.95	27	2.8E-03		B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Análisis de Textura

1. Dureza

Analysis of variance

Hardness

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Hardness	100	0.58	0.53	39.08

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	125471695.04	9	13941299.45	13.54	<0.0001
Trat	16943968.89	1	16943968.89	16.45	0.0001
Semana	117761616.93	8	14720202.12	14.30	<0.0001
Error	92675318.26	90	1029725.76		
Total	218147013.30	99			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=403.35864

Error: 1029725.7584 df: 90

Trat	Means	n	S.E.	
control	2134.69	48	148.75	A
N2	2968.01	52	141.20	B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=1373.40013

Error: 1029725.7584 df: 90

Semana	Means	n	S.E.			
0.00	761.69	9	339.98	A		
1.00	1576.26	9	339.98	A	B	
2.00	2005.21	12	292.93	A	B	C
4.00	2272.35	12	292.93		B	C
3.00	2555.00	12	292.93		B	C
8.00	2701.80	12	292.93		B	C
5.00	2779.98	12	292.93		B	C
6.00	3035.30	12	292.93			C
7.00	5274.57	10	321.55			D

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

2. Adhesividad

Adhesiveness

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Adhesiveness	100	0.12	0.03	106.14

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	112273.50	9	12474.83	1.33	0.2306
Trat	27141.25	1	27141.25	2.90	0.0918
Semana	94376.59	8	11797.07	1.26	0.2734
Error	841358.25	90	9348.42		
Total	953631.75	99			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=38.43260

Error: 9348.4250 df: 90

Trat	Means	n	S.E.
N2	-105.10	52	13.45 A
control	-71.75	48	14.17 A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=130.85958

Error: 9348.4250 df: 90

Semana	Means	n	S.E.
6.00	-139.09	12	27.91 A
7.00	-118.44	10	30.64 A
8.00	-103.97	12	27.91 A
4.00	-93.35	12	27.91 A
5.00	-93.10	12	27.91 A
3.00	-81.73	12	27.91 A
2.00	-76.00	12	27.91 A
1.00	-75.21	9	32.39 A
0.00	-14.92	9	32.39 A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

3. Cohesividad

Cohesiveness

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Cohesiveness	100	0.18	0.10	18.67

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.15	9	0.02	2.18	0.0307
Trat	0.05	1	0.05	6.98	0.0097
Semana	0.11	8	0.01	1.75	0.0974
Error	0.69	90	0.01		
Total	0.83	99			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.03468

Error: 0.0076 df: 90

Trat	Means	n	S.E.	
N2	0.45	52	0.01	A
control	0.49	48	0.01	B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.11809

Error: 0.0076 df: 90

Semana	Means	n	S.E.	
4.00	0.42	12	0.03	A
6.00	0.44	12	0.03	A
5.00	0.46	12	0.03	A
3.00	0.46	12	0.03	A
8.00	0.47	12	0.03	A
2.00	0.47	12	0.03	A
7.00	0.49	10	0.03	A
1.00	0.50	9	0.03	A
0.00	0.54	9	0.03	B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Análisis Proximal

1. Humedad

Analysis of variance

%Humedad

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
%Humedad	12	0.47	0.27	2.04

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	6.40	3	2.13	2.35	0.1484
Lote	6.40	3	2.13	2.35	0.1484
Error	7.26	8	0.91		
Total	13.66	11			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=2.49078

Error: 0.9075 df: 8

Lote	Means	n	S.E.	
3	45.53	3	0.55	A
1	47.08	3	0.55	A
4	47.09	3	0.55	A
2	47.40	3	0.55	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

2. Cenizas

%Cenizas

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
%Cenizas	12	0.87	0.83	7.82

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	1.53	3	0.51	18.40	0.0006
Lote	1.53	3	0.51	18.40	0.0006
Error	0.22	8	0.03		
Total	1.76	11			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.43594

Error: 0.0278 df: 8

Lote	Means	n	S.E.	
1	1.87	3	0.10	A
2	1.89	3	0.10	A
4	2.02	3	0.10	A
3	2.74	3	0.10	B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

3. Proteína

% Proteína

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
% Proteína	12	0.01	0.00	175.61

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	6.64	3	2.21	0.04	0.9900
Lote	6.64	3	2.21	0.04	0.9900
Error	487.39	8	60.92		
Total	494.03	11			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=20.40881

Error: 60.9240 df: 8

Lote	Means	n	S.E.	
1	3.89	3	4.51	A

2	3.94	3	4.51	A
4	4.23	3	4.51	A
3	5.71	3	4.51	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

4. Grasa

% Grasa

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
% Grasa	12	0.69	0.58	3.53

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	2.04	3	0.68	6.01	0.0191
Lote	2.04	3	0.68	6.01	0.0191
Error	0.91	8	0.11		
Total	2.95	11			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.88045

Error: 0.1134 df: 8

Lote	Means	n	S.E.
1	9.02	3	0.19
4	9.45	3	0.19
2	9.53	3	0.19
3	10.18	3	0.19

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

5. Carbohidratos

% Carbohidrato

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
% Carbohidrato	12	0.01	0.00	22.48

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	8.09	3	2.70	0.04	0.9890
Lote	8.09	3	2.70	0.04	0.9890
Error	556.53	8	69.57		
Total	564.62	11			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=21.80831

Error: 69.5660 df: 8

Lote	Means	n	S.E.
3	35.84	3	4.82
4	37.21	3	4.82
2	37.24	3	4.82
1	38.14	3	4.82

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Contenido de Carotenos

Analysis of variance

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	8	0.00	0.00	51.64

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	1	0.00	0.00	>0.9999
Día	0.00	1	0.00	0.00	>0.9999
Error	10.00	6	1.67		
Total	10.00	7			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=2.23371

Error: 1.6667 df: 6

Día	Means	n	S.E.
0	2.50	4	0.65 A
8	2.50	4	0.65 A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Concentración

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Concentración	8	0.09	0.00	28.08

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	37916.05	1	37916.05	0.59	0.4709
Día	37916.05	1	37916.05	0.59	0.4709
Error	384393.11	6	64065.52		
Total	422309.16	7			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=437.94086

Error: 64065.5177 df: 6

Día	Means	n	S.E.
8	832.42	4	126.56 A
0	970.11	4	126.56 A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Análisis de pH

Analysis of variance

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
pH	108	0.91	0.90	1.83

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	7.50	11	0.68	86.99	<0.0001
Día	1.37	8	0.17	21.78	<0.0001
Lote	6.14	3	2.05	260.90	<0.0001
Error	0.75	96	0.01		
Total	8.26	107			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.11472

Error: 0.0078 df: 96

Día	Means	n	S.E.					
49	4.60	12	0.03	A				
56	4.70	12	0.03	A	B			
35	4.81	12	0.03		B	C		
42	4.82	12	0.03			C		
14	4.83	12	0.03			C	D	
21	4.89	12	0.03			C	D	E
28	4.91	12	0.03			C	D	E
0	4.93	12	0.03				D	E
7	4.99	12	0.03					E

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.06301

Error: 0.0078 df: 96

Lote	Means	n	S.E.					
1	4.63	27	0.02	A				
2	4.69	27	0.02		B			
4	4.77	27	0.02			C		
3	5.23	27	0.02				D	

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Potencial de Oxidación-Reducción

Analysis of variance

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Redox	108	0.95	0.95	2.96

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	25407.94	11	2309.81	177.85	<0.0001
Lote	22530.70	3	7510.23	578.28	<0.0001
Días	2877.24	8	359.66	27.69	<0.0001
Error	1246.77	96	12.99		
Total	26654.71	107			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=2.56446

Error: 12.9871 df: 96

Lote	Means	n	S.E.			
3	97.49	27	0.69	A		
4	125.02	27	0.69		B	
2	131.11	27	0.69			C
1	133.90	27	0.69			D

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=4.66926

Error: 12.9871 df: 96

Días	Means	n	S.E.					
0	114.73	12	1.04	A				
7	115.67	12	1.04	A	B			
14	117.42	12	1.04	A	B			
21	120.01	12	1.04		B	C		
28	123.38	12	1.04			C	D	
35	123.48	12	1.04			C	D	
42	124.58	12	1.04			C	D	
56	125.88	12	1.04				D	
49	131.81	12	1.04					E

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Color (L*, a* y b*)

L*

Analysis of variance

L*

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
L*	36	0.27	0.06	5.98

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	75.80	8	9.48	1.26	0.3025
Día	75.80	8	9.48	1.26	0.3025
Error	202.38	27	7.50		
Total	278.18	35			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=6.51380

Error: 7.4956 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
49	43.45	4	1.37	A
28	44.43	4	1.37	A
35	44.59	4	1.37	A
56	44.99	4	1.37	A
14	45.95	4	1.37	A
42	46.20	4	1.37	A
7	47.00	4	1.37	A
21	47.37	4	1.37	A
0	48.11	4	1.37	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	36	0.00	0.00	51.64

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Día	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Error	45.00	27	1.67		
Total	45.00	35			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=3.07153

Error: 1.6667 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
35	2.50	4	0.65	A
42	2.50	4	0.65	A
49	2.50	4	0.65	A
56	2.50	4	0.65	A
28	2.50	4	0.65	A
0	2.50	4	0.65	A
7	2.50	4	0.65	A
14	2.50	4	0.65	A
21	2.50	4	0.65	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

a*

Analysis of variance

a*

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	35	1.7E-03	0.00	52.13

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.08	8	0.01	0.01	>0.9999
Día	0.08	8	0.01	0.01	>0.9999
Error	44.67	26	1.72		
Total	44.74	34			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=3.17857

Error: 1.7179 df: 26

Día	Means	n	S.E.	
56	2.50	4	0.66	A
35	2.50	4	0.66	A
42	2.50	4	0.66	A
49	2.50	4	0.66	A
0	2.50	4	0.66	A
7	2.50	4	0.66	A
14	2.50	4	0.66	A
21	2.50	4	0.66	A

28 2.67 3 0.76 A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

a*

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
a*	36	0.50	0.35	7.48

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	32.23	8	4.03	3.34	0.0087
Día	32.23	8	4.03	3.34	0.0087
Error	32.55	27	1.21		
Total	64.79	35			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=2.61248

Error: 1.2057 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
49	13.44	4	0.55	A
56	13.59	4	0.55	A
42	13.94	4	0.55	A
28	14.45	4	0.55	A B
21	14.58	4	0.55	A B
35	14.78	4	0.55	A B
7	15.19	4	0.55	A B
14	15.64	4	0.55	A B
0	16.56	4	0.55	B

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

b*

Analysis of variance

b*

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	36	0.00	0.00	51.64

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Día	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Error	45.00	27	1.67		
Total	45.00	35			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=3.07153

Error: 1.6667 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
35	2.50	4	0.65	A
42	2.50	4	0.65	A
49	2.50	4	0.65	A
56	2.50	4	0.65	A
28	2.50	4	0.65	A

0	2.50	4	0.65	A
7	2.50	4	0.65	A
14	2.50	4	0.65	A
21	2.50	4	0.65	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

b*

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
b*	36	0.34	0.14	10.95

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	208.02	8	26.00	1.74	0.1345
Día	208.02	8	26.00	1.74	0.1345
Error	403.64	27	14.95		
Total	611.66	35			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=9.19908

Error: 14.9495 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
49	32.16	4	1.93	A
56	32.47	4	1.93	A
35	33.78	4	1.93	A
42	34.02	4	1.93	A
28	34.83	4	1.93	A
21	36.16	4	1.93	A
7	36.32	4	1.93	A
0	38.71	4	1.93	A
14	39.36	4	1.93	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Hue

Analysis of variance

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	36	0.00	0.00	51.64

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Día	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Error	45.00	27	1.67		
Total	45.00	35			

Test:Tukey Alpha:=0.05 LSD:=3.07153

Error: 1.6667 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
35	2.50	4	0.65	A
42	2.50	4	0.65	A
49	2.50	4	0.65	A

56	2.50	4	0.65	A
28	2.50	4	0.65	A
0	2.50	4	0.65	A
7	2.50	4	0.65	A
14	2.50	4	0.65	A
21	2.50	4	0.65	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Hue

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Hue	34	0.19	0.00	38.55

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.82	8	0.10	0.74	0.6544
Día	0.82	8	0.10	0.74	0.6544
Error	3.43	25	0.14		
Total	4.25	33			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=0.92212

Error: 0.1373 df: 25

Día	Means	n	S.E.	
35	-1.31	4	0.19	A
0	-1.06	4	0.19	A
49	-0.99	4	0.19	A
56	-0.97	4	0.19	A
7	-0.96	4	0.19	A
28	-0.90	2	0.26	A
42	-0.86	4	0.19	A
14	-0.79	4	0.19	A
21	-0.79	4	0.19	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Chroma

Analysis of variance

Lote

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Lote	36	0.00	0.00	51.64

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Día	0.00	8	0.00	0.00	>0.9999
Error	45.00	27	1.67		
Total	45.00	35			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=3.07153

Error: 1.6667 df: 27

Día	Means	n	S.E.
-----	-------	---	------

35	2.50	4	0.65	A
42	2.50	4	0.65	A
49	2.50	4	0.65	A
56	2.50	4	0.65	A
28	2.50	4	0.65	A
0	2.50	4	0.65	A
7	2.50	4	0.65	A
14	2.50	4	0.65	A
21	2.50	4	0.65	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

Chroma

Variable	N	R ²	Adj R ²	CV
Chroma	36	0.42	0.24	9.72

Analysis of variance table (Partial SS)

S.V.	SS	df	MS	F	p-value
Model.	268.85	8	33.61	2.41	0.0414
Día	268.85	8	33.61	2.41	0.0414
Error	375.86	27	13.92		
Total	644.70	35			

Test: Tukey Alpha:=0.05 LSD:=8.87686

Error: 13.9206 df: 27

Día	Means	n	S.E.	
49	34.87	4	1.87	A
56	35.20	4	1.87	A
42	36.77	4	1.87	A
35	36.89	4	1.87	A
28	37.76	4	1.87	A
21	39.00	4	1.87	A
7	39.38	4	1.87	A
14	42.38	4	1.87	A
0	43.09	4	1.87	A

Means with a common letter are not significantly different ($p \leq 0.05$)

8.2 Calendario de la abundancia del Departamento de Agricultura de Puerto Rico.



ESTADO LIBRE ASOCIADO DE PUERTO RICO
DEPARTAMENTO DE AGRICULTURA
ADMINISTRACION DE SERVICIOS Y DESARROLLO AGROPECUARIO
PROGRAMA DE MERCADEO

CALENDARIO DE ABUNDANCIA



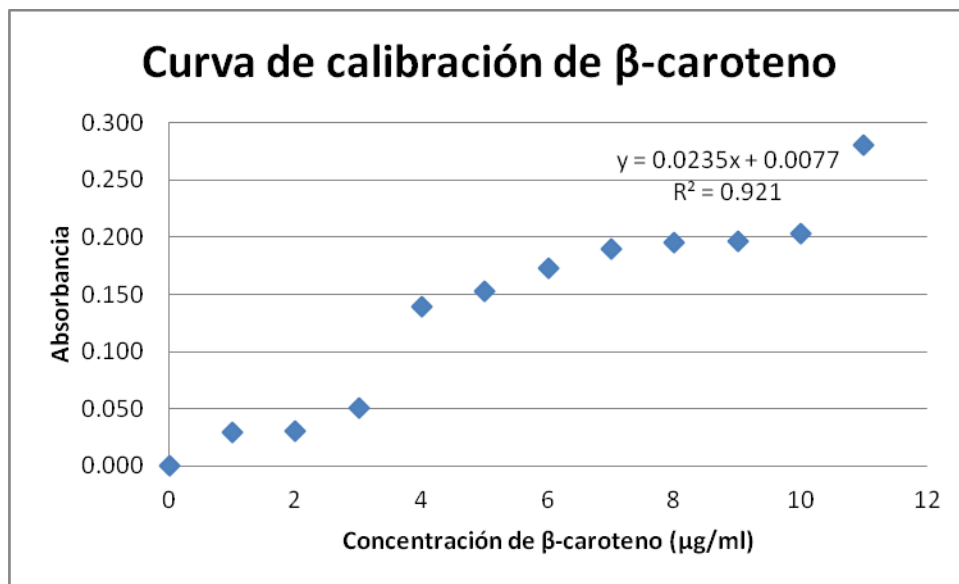
PRODUCTOS	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE
Aceite												
Aguacate												
Aj dulce												
Apio												
Arroz												
Berenjena												
Cebolla												
Coco												
Corazon												
Chayote												
Chino												
Fresa												
Gandul												
Guineo												
Habichuela Terna												
Habichuela Verde												
Lachuga												
Lima												
Limon												
Melz												
Melanga												
Moray												
Moray asole												
Morona												
Mango												
Melon de agua												
Name Florida												
Name Habanero												
Nispero												
Papa de papa												
Panaplan												
Papaya												
Pechia												
Pechito												
Pimiento												
Pine												
Platano												
Quenepe												
Quimbombó												
Rapallo												
Tamarindo												
Tomate												
Tortija												
Yautia blanca												
Yautia morada												
Yuca												

LEYENDA: ■ COMIENZO Y FINAL DE COSECHA
■ ABUNDANCIA

PREPARADO POR EL PROGRAMA DE MERCADEO DE A.S.D.A., CON LA COLABORACION DEL SERVICIO DE EXTENSION AGRICOLA.
EDIFICIO PLAZA 20, AVE. HIPODROMO #603, P.D.A.20, SANTURCE, P.R.
PO BOX 9200, SAN JUAN, P.R. 00908-0200, TEL.: (787) 724-5454, FAX:(787) 723-4751



8.3 Curva de calibración: Determinación de carotenos totales



8.4 Fotografías generales del proyecto de tesis



Foto del lote testigo empacado en bandeja y sellado.



“Pastelito horneado de calabaza” removido para muestreo

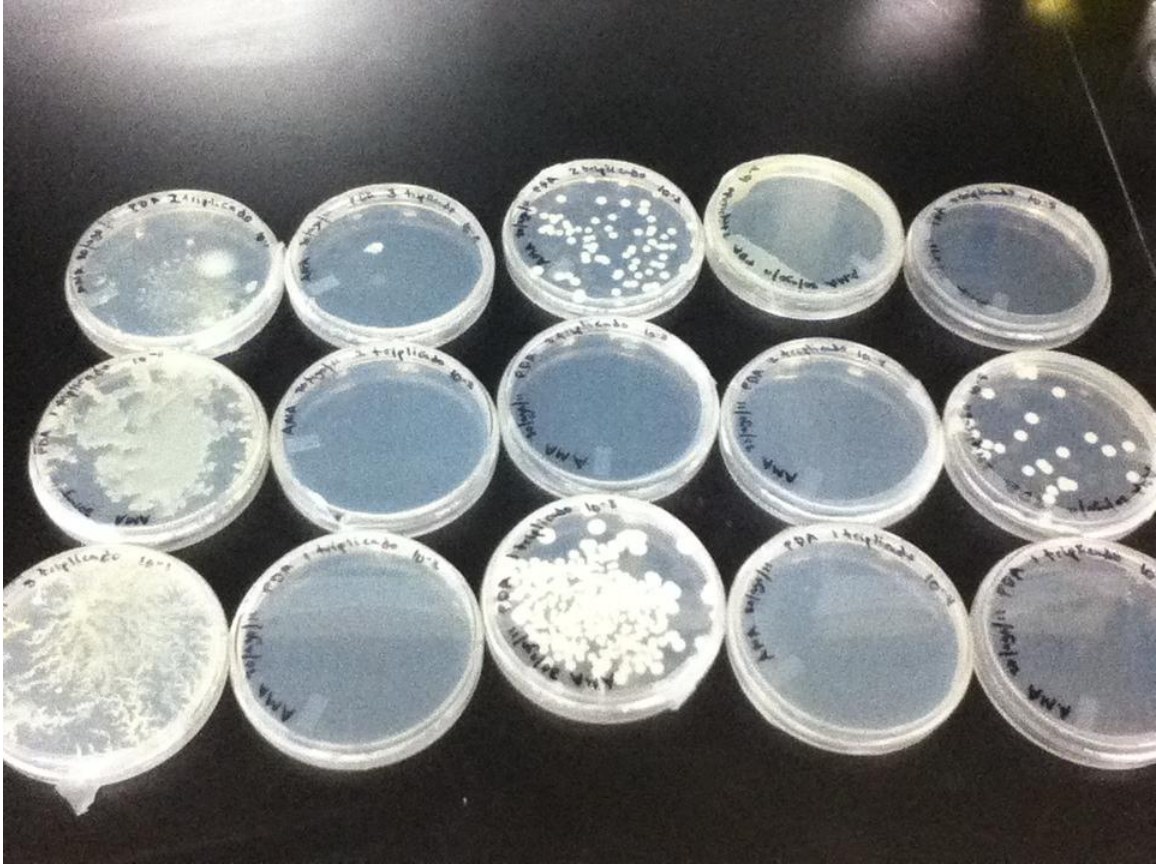
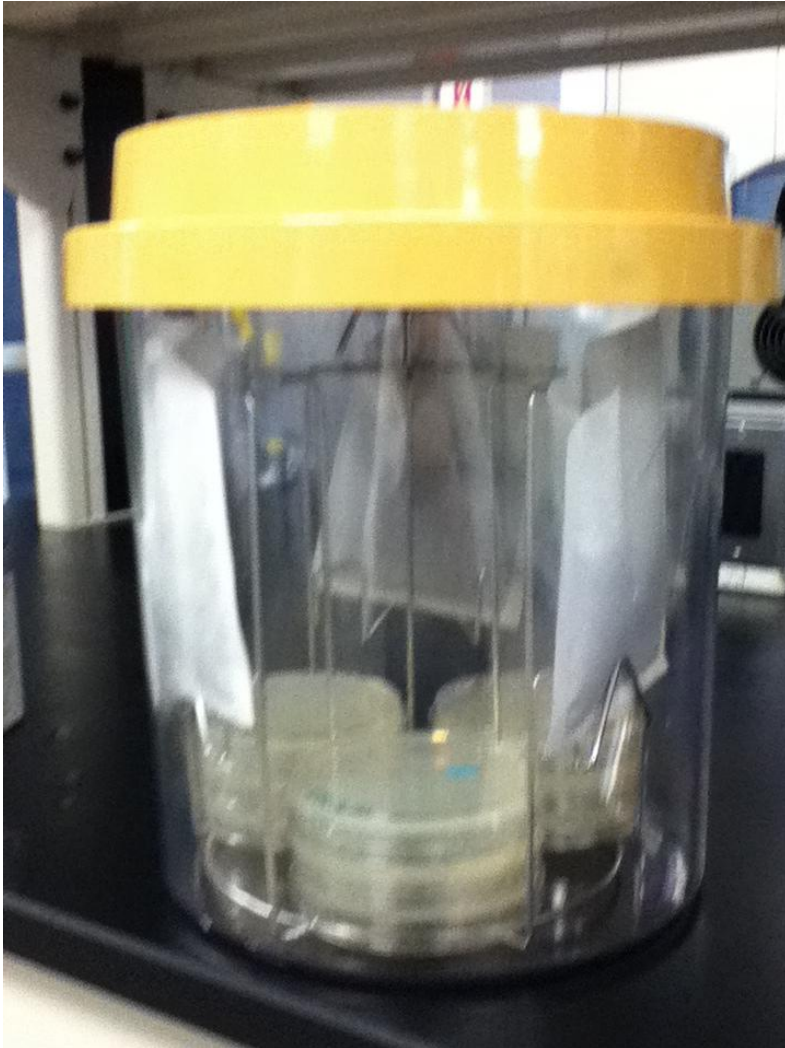


Foto de muestreo para hongos y levaduras. Platos Petri con el medio PDA.



Incubación de platos Petri para microorganismos anaeróbicos



Muestras en preparación para secado y análisis proximal