



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS  
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

“Determinación de los parámetros termocinéticos de Peroxidasa en  
brócoli (*Brassica oleracea* L.) cv. Itálica”

Tesis

Que presenta

Agustín López Díaz

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIA

Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Directores de Tesis

DR. JOSÉ DE JESÚS CARO CORRALES

MC. JORGE AURELIO ZAZUETA NIEBLA

Culiacán, Sinaloa, México

Enero del 2018

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Mediciones Termofísicas del Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José de Jesús Caro Corrales y MC. Jorge Aurelio Zazueta Niebla. A su vez, contó con la asesoría del Dr. Roberto Gutiérrez Dorado. Contó con el financiamiento de la Universidad Autónoma de Sinaloa a través del Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI-2015/059). Agustín López Díaz recibió beca por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).



## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

### CARTA CESION DE DERECHOS

En la Ciudad de Culiacán Sinaloa, el día 06 del mes julio del año 2020, el (la) que suscribe Agustín López Díaz alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos con número de cuenta 07054556, de la Unidad Académica Facultad de Ciencias Químico Biológicas, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del DR. José de Jesús Caro Corrales y el MC. Jorge Aurelio Zazueta Nieblas y cede los derechos del trabajo titulado "Determinación de los parámetros termocinéticos de Peroxidasa en brócoli (*Brassica oleracea* L.) cv. *Itálica*", a la Universidad Autónoma de Sinaloa para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agustín L. D.  
Agustín López Díaz

Nombre completo y firma

*Dedicado a la memoria del*

*Licenciado en Historia Jonathan Alberto Gutiérrez Ovalle.*

*Algún momento me contarás que te pareció mi graduación.*

## AGRADECIMIENTOS

Quiero resaltar mi infinita gratitud de manera especial a mis padres **Olga Olivia Diaz Valenzuela** y **Agustín López Navarro**, por darme las herramientas tanto físicas y económicas, como mi formación para ser el ser humano que soy. Estoy convencido que uno de los factores con más peso para la formación de una persona son sus padres, y por ellos soy lo que soy. Agradezco de todo corazón la libertad y la confianza que dieron para elegir mi propio camino y el apoyo en las decisiones tomadas por mi persona, ya sean difíciles o no, o que significaran retos muy grandes con beneficios a largo plazo. “Aquí está tu casa, solo preocúpate por la escuela”.

Agradezco a mi familia y en especial a mis hermanas, la Licenciada en Trabajo Social **Perla Lynnette López Diaz** y **Olga Olivia López Diaz**, por alentarme y apoyarme a seguir adelante y siempre esperar lo mejor de mis decisiones. Espero que mi esfuerzo les funcione como motivación para que cumplan sus metas.

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa**, mi alma mater, **Facultad de Ciencias Químico-Biológicas**, y a la **Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos** por formarme desde la licenciatura y darme todas las herramientas académicas para convertirme en un Ingeniero Bioquímico y en un Maestro en Ciencias capaz de superar cualquier reto profesional que se me presente en mi futuro.

Al **Dr. José de Jesús Caro Corrales**, le agradezco inmensamente su gran calidad como ser humano. Gracias por todo el conocimiento que me brindó, los retos que me presentó para superarme tanto en lo académico como en lo personal. Gracias por el apoyo incondicional brindado, y por todas las palabras de aliento y motivación que nunca faltaron.

Al **MC. Jorge Aurelio Zazueta Niebla**, el cual me ha orientado, apoyado y corregido en mi formación científica. Es vasto el conocimiento brindado por esta persona en los ámbitos profesionales de un servidor.

Al **Dr. Roberto Gutiérrez Dorado** por el apoyo brindado en forma de asesorías para la realización de este proyecto.

A todos mis maestros que apoyaron de manera activa para mi formación académica, y un agradecimiento aún mayor a aquellos maestros que además de ser mis mentores, también fungieron como mis amigos.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico otorgado en todo el transcurso de mi formación como Maestro en Ciencias. De igual forma, al **Programa de Fomento y Apoyo a Proyectos de Investigación (PROFAPI)** por el apoyo económico para realización de este proyecto.

A mis compañeros del Laboratorio de Mediciones Termofísicas: **César, Rosalina, Yessica, Carlos, David y Julio**. Las personas más inteligentes que conozco (en el área y un poco más), amables, graciosos y cariñosos. Gracias por hacer mi estancia en la maestría mucho más amena y divertida, y de igual forma gracias por ayudarme en todo momento que lo necesité.

A mis amigos y personas especiales que estuvieron ahí apoyándome, siguiéndome en este reto, que me acompañaron en este viaje, este difícil pero no imposible viaje para mejorar como profesionista. Agradezco a esas personas con las que pude correr cuando me sentía abrumado, cansado, dudando de mí mismo y con lágrimas en los ojos, y con palabras positivas me recordaban que nada era tan difícil como yo creía, y que si alguien más pudo con esto,

igual podría yo, que me relajara y que viera el futuro. Gracias, en verdad, no miraba la salida sin esa motivación.

Y para finalizar, gracias a todas esas personas que de manera directa o indirecta apoyaron para mi formación y la realización de este proyecto.

# ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS .....	v
ÍNDICE DE CUADROS .....	viii
I RESUMEN.....	1
ABSTRACT .....	3
II INTRODUCCIÓN .....	5
III REVISIÓN DE LITERATURA.....	7
A BRÓCOLI.....	7
1 Taxonomía .....	7
2 Descripción .....	7
3 Producción .....	11
4 Importancia del cultivo de brócoli .....	11
5 Composición química .....	14
6 Poscosecha de brócoli .....	16
7 Metabolismo del brócoli posterior a la cosecha.....	16
B PEROXIDASA (POD) .....	19
1 Función bioquímica .....	19
2 La enzima Peroxidasa como indicador térmico.....	19
C TRATAMIENTO TÉRMICO .....	20
1 Generalidades.....	20

D	TRANSFERENCIA DE CALOR.....	20
1	Generalidades.....	20
2	Convección .....	21
3	Transferencia de calor en estado no estacionario. ....	22
4	Modelo de transferencia de calor cuando la resistencia interna y externa son significativas.....	23
E	INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA .....	28
1	Generalidades.....	28
2	Importancia .....	31
F	CINÉTICA DE INACTIVACIÓN TÉRMICA.....	32
1	Generalidades.....	32
2	Tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ).....	33
3	Constante de resistencia térmica ( $z$ ).....	35
IV	JUSTIFICACIÓN.....	38
V	OBJETIVOS.....	40
A	OBJETIVO GENERAL .....	40
B	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	40
VI	MATERIALES Y MÉTODOS .....	41
A	MATERIALES.....	41
1	Materia prima.....	41

2	Cuerpo de aluminio.....	41
<b>B</b>	<b>MÉTODOS.....</b>	<b>44</b>
1	Preparación del extracto de Peroxidasa (POD).....	44
2	Preparación de los capilares.....	44
3	Tratamiento térmico.....	45
4	Determinación de la actividad enzimática de la Peroxidasa (POD) .....	45
5	Determinación del tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ).....	46
6	Determinación de la constante de resistencia térmica ( $z$ ) .....	46
7	Determinación de la energía de activación y factor de frecuencia .....	47
8	Inserción de los termopares .....	48
9	Determinación del coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) usando el método de parámetros concentrados .....	51
10	Coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) para floretes de brócoli... 54	
11	Aplicación del tratamiento térmico sobre el cilindro y florete de brócoli, y determinación de la letalidad del tratamiento térmico .....	55
12	Determinación del porcentaje de actividad remanente de la Peroxidasa (POD) 56	
13	Simulación de la transferencia de calor en florete y cilindro de brócoli por el método de elemento finito.....	57
14	Validación de los parámetros termocinéticos $D_T$ y $z$ .....	61
15	Diseño experimental.....	61

VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	63
A PARÁMETROS TERMOCINÉTICOS .....	63
1 Actividad enzimática de la Peroxidasa .....	63
2 Tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ).....	66
3 Constante de resistencia térmica ( $z$ ).....	69
B ENERGÍA DE ACTIVACIÓN ( $E_a$ ) Y FACTOR DE FRECUENCIA ( $A$ ) .....	71
C COEFICIENTE CONVECTIVO DE TRANSFERENCIA DE CALOR.....	73
1 Coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) para cilindros de brócoli.....	73
D HISTORIA DE TEMPERATURA.....	75
1 Historia de temperatura de cilindros de brócoli.....	75
2 Historia de temperatura del florete de brócoli .....	75
E EFECTO LETAL .....	78
1 Efecto letal en cilindro de brócoli.....	78
2 Efecto letal en florete de brócoli.....	78
F SIMULACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE CALOR.....	81
1 Análisis con el método de elemento finito.....	81
G VALIDACIÓN DE LOS PARÁMETROS TERMOCINÉTICOS .....	88
VIII CONCLUSIONES.....	96
IX BIBLIOGRAFÍA.....	97

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Planta de brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> L.) variedad itálica.....	9
<b>Figura 2.</b> Inflorescencia comestible de la planta de brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> L.) variedad itálica.....	10
<b>Figura 3.</b> Producción mundial de brócoli y coliflor .....	12
<b>Figura 4.</b> Placa infinita de espesor $2L$ rodeada de fluido. ....	24
<b>Figura 5.</b> Cilindro infinito con radio $R$ .....	26
<b>Figura 6.</b> Cilindro finito.....	29
<b>Figura 7.</b> Esquema de la intersección entre cilindro infinito y placa infinita.....	30
<b>Figura 8.</b> Gráfico de la degradación de la actividad enzimática con respecto al tiempo. ...	34
<b>Figura 9.</b> Gráfico de la disminución del tiempo de reducción decimal con respecto a la temperatura.....	37
<b>Figura 10.</b> Brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> L.) variedad itálica. ....	42
<b>Figura 11.</b> Cilindro de aluminio de 10 mm de diámetro y 22 mm de altura. ....	43
<b>Figura 12.</b> Brócoli variedad itálica con termopares insertados a 25 mm de la base.....	49
<b>Figura 13.</b> Cilindros de brócoli variedad itálica con termopares insertados a 11 mm de la base.....	50
<b>Figura 14.</b> Modelo tridimensional del florete de brócoli.....	59
<b>Figura 15.</b> Modelo tridimensional del cilindro de brócoli.....	60
<b>Figura 16.</b> Actividad volumétrica de la enzima Peroxidasa en función del tiempo de escaldado y temperatura. ....	64
<b>Figura 17.</b> Logaritmo de la actividad volumétrica de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura y tiempo de tratamiento.....	67

<b>Figura 18.</b> Logaritmo del tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura .....	70
<b>Figura 19.</b> Logaritmo del tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa en función del recíproco de la temperatura .....	72
<b>Figura 20.</b> Gráfico de fracción de temperatura no alcanzada contra tiempo durante el proceso de escaldado de cilindros de brócoli (80 °C por 2 min.) .....	74
<b>Figura 21.</b> Historia de temperatura experimental de cilindros de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C por 2.5 min. ....	76
<b>Figura 22.</b> Historia de temperatura experimental de floretes de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C por 3 min. ....	77
<b>Figura 23.</b> Velocidad letal del cilindro de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C.....	79
<b>Figura 24.</b> Velocidad letal durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C para el florete de brócoli.....	80
<b>Figura 25.</b> Historia de temperatura estimada del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	82
<b>Figura 26.</b> Historia de temperatura estimada de floretes de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	83
<b>Figura 27.</b> Perfil de temperatura en la etapa de calentamiento de la superficie del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	84
<b>Figura 28.</b> Perfil de temperatura en la etapa de enfriamiento de la superficie del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	85
<b>Figura 29.</b> Perfil de temperatura en la etapa de calentamiento en el interior del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	86

<b>Figura 30.</b> Perfil de temperatura en la etapa de enfriamiento en el interior del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	87
<b>Figura 31.</b> Perfil de temperatura en la etapa de calentamiento de la superficie del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	90
<b>Figura 32.</b> Perfil de temperatura en la etapa de enfriamiento de la superficie del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	91
<b>Figura 33.</b> Velocidad letal estimada del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).....	92
<b>Figura 34.</b> Velocidad letal estimada del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF). .....	93

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Clasificación taxonómica del brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> L.) variedad itálica ....	8
<b>Cuadro 2.</b> Producción nacional de brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> L.) variedad itálica.....	13
<b>Cuadro 3.</b> Composición química en 100 gramos de brócoli fresco .....	15
<b>Cuadro 4.</b> Velocidad de respiración de brócoli .....	17
<b>Cuadro 5.</b> Propiedades termofísicas del tallo de floretes de brócoli ( <i>Brassica oleracea</i> L.) en función de la temperatura. ....	53
<b>Cuadro 6.</b> Tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura.....	68
<b>Cuadro 7.</b> Actividad remanente de la enzima Peroxidasa en diferentes tratamientos.....	94

## I RESUMEN

El brócoli (*Brassica oleracea* L.) es una hortaliza con alto valor nutrimental y gran importancia económica. Este producto es altamente perecedero debido a su alta actividad metabólica, lo que provoca que el almacenamiento prolongado afecte su calidad. Por este motivo, generalmente, se congela; incluyendo una etapa previa de inactivación enzimática para su comercialización. El escaldado es una operación unitaria que tiene como objetivo principal inactivar las enzimas presentes en los alimentos. En las hortalizas, la enzima Peroxidasa (POD) se caracteriza por ser una de las más termorresistentes; por ello, se utiliza como indicador biológico en la eficacia del proceso de escaldado. Los parámetros termocinéticos ( $D_T$  y  $z$ ) permiten estimar la actividad residual de las enzimas, posterior a un tratamiento térmico. En la literatura existen escasos reportes de propiedades termocinéticas de Peroxidasa en brócoli, mismos que no concuerdan entre sí. El objetivo de este trabajo fue determinar el tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ) y la constante de resistencia térmica ( $z$ ) para la Peroxidasa en brócoli. Se utilizó brócoli cultivar itálica y la inactivación térmica se realizó en el extracto enzimático. La actividad volumétrica ( $U\ mL^{-1}$ ) fue determinada espectrofotométricamente. Con base en la actividad remanente ( $a_{rem}$ ) de la Peroxidasa se determinó el tiempo de reducción decimal y la constante de resistencia térmica. La validación se realizó en floretes (90 °C, 3 min), en cilindros y en floretes (80 °C, 2 min) de brócoli. Se comparó la  $a_{rem}$  predicha utilizando historias de temperatura experimentales (HTE) y estimadas con el método de elemento finito (MEF), contra la obtenida de manera experimental. Se utilizó un diseño completamente al azar con los factores tiempo de escaldado (1.5, 2, 2.5, 3 y 3.5 min) y temperatura (50, 55, 60, 65 y 70 °C). Las variables de respuesta fueron  $a_{rem}$  y  $D_T$ . En la validación se utilizaron dos diseños completamente al azar: para cilindros (80 °C, 2 min) y floretes (80 °C, 2 min) de brócoli, en cada uno, el

factor fue el método de determinación (HTE, MEF, experimental) y la respuesta fue la  $a_{rem}$ . La comparación de medias se realizó con la prueba de Fisher ( $n = 3$ ,  $\alpha = 0.05$ ). Se encontró que el  $D_T$  para 50, 55, 60, 65 y 70 °C fue de 57.0, 13.2, 6.64, 2.73 y 2.00 min, respectivamente. La constante  $z$  fue de 13.9 °C. La energía de activación y el factor de frecuencia fueron de 153 kJ mol<sup>-1</sup> y 3.15×10<sup>23</sup> min<sup>-1</sup>, respectivamente. En la validación para floretes de brócoli (90 °C, 3 min), usando el MEF, la  $a_{rem}$  fue de 0.005 %, similar a la reportada en la bibliografía (0.008 %). En cilindros, la  $a_{rem}$  determinada a partir de la HTE, MEF y experimentalmente fue de 36.3, 36.4 y 37.0 % (LSD = 5.8 %,  $\alpha = 0.05$ ) y en floretes de brócoli 63.1, 62.6 y 63.8 % (LSD = 4.8 %,  $\alpha = 0.05$ ), respectivamente; ambos a 80 °C, 2 min. No hubo diferencia entre métodos de determinación. Esta validación proporciona confianza para aseverar que los parámetros termocinéticos estimados son satisfactorios para la enzima Peroxidasa en brócoli.

## ABSTRACT

Broccoli (*Brassica oleracea* L.) is a vegetable with high nutritional value and great economic importance. This product is highly perishable due to its high metabolic activity, which causes that prolonged storage affects its quality. For this reason, it is generally frozen; including a previous step of enzymatic inactivation for commercialization. Blanching is a unit operation whose main purpose is to inactivate the enzymes present in food. In vegetables, the enzyme Peroxidase (POD) is one of the most heat resistant enzymes; therefore, it is used as a biological indicator in the effectiveness of the blanching process. The thermokinetic parameters ( $D_T$  and  $z$ ) allow estimating the residual activity of the enzymes, after a thermal treatment. In the literature, there are few reports of thermokinetic properties of Peroxidase in broccoli, which do not agree among them. The objective of this work was to determine the decimal reduction time ( $D_T$ ) and the thermal resistance constant ( $z$ ) for Peroxidase in broccoli. Broccoli cultivar Italica was used and thermal inactivation was performed on the enzymatic extract. Volumetric activity ( $\text{U mL}^{-1}$ ) was determined spectrophotometrically. Based on the residual activity ( $a_{res}$ ) of peroxidase, the decimal reduction time and the thermal resistance constant were determined. Validation was performed in florets (90 °C, 3 min), in cylinders (80 °C, 2 min) and in florets (80 °C, 2 min) of broccoli. The predicted  $a_{res}$  using experimental temperature histories (ETH) and temperature histories estimated with the finite element method (FEM) were compared to that obtained experimentally. A completely randomized design was used; factors were blanching time (1.5, 2, 2.5, 3, and 3.5 min) and temperature (50, 55, 60, 65, and 70 °C). The response variables were  $a_{res}$  and  $D_T$ . In the validation, two completely randomized designs were used: for cylinders (80 °C, 2 min), and florets (80 °C, 2 min) of broccoli, in each, the factor was the determination method (ETH, FEM, experimental) and the response

was  $a_{res}$ . The comparison of means was performed with Fisher's test ( $\alpha = 0.05$ ). The  $D_T$  for 50, 55, 60, 65, and 70 °C was 57.0, 13.2, 6.64, 2.73, and 2.00 min, respectively. The  $z$ -value was 13.9 °C. The activation energy and the frequency factor were 153 kJ mol<sup>-1</sup> and 3.15×10<sup>23</sup> min<sup>-1</sup>, respectively. In the validation for broccoli florets (90 °C, 3 min), using the FEM, the  $a_{res}$  was 0.005 %, similar to that reported in the literature (0.008 %). In the case of cylinders, the  $a_{res}$ , determined from ETH, FEM, and experimentally, was 36.3, 36.4, and 37.0 % (LSD = 5.8 %,  $\alpha = 0.05$ ) and in broccoli florets 63.1, 62.6, and 63.8 % (LSD = 4.8 %  $\alpha = 0.05$ ), respectively; both at 80 °C, 2 min. There was no difference between the determination methods. This validation provides confidence to assert that the estimated thermokinetic parameters are satisfactory for the peroxidase enzyme in broccoli.

## II INTRODUCCIÓN

El brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica es una hortaliza que pertenece a la familia *Brassicaceae*, a la cual se le atribuye beneficios a la salud, gracias a la presencia de compuestos que poseen propiedades nutracéuticas. Los datos epidemiológicos revelan que una dieta rica en hortalizas como el brócoli u otra crucífera puede reducir el riesgo de diversos tipos de cáncer (Vallejo y col 2002; Olivera y col 2008). Algunos de estos compuestos son las vitaminas y minerales. Las principales vitaminas que se encuentran presentes en el brócoli son las vitaminas A, C, las del complejo B, así como también, es rica fuente de calcio, fósforo y hierro. Asimismo, como la mayoría de las hortalizas, el brócoli cuenta con una cantidad baja de proteínas y lípidos (Hasperué 2012).

El brócoli se caracteriza por ser una hortaliza altamente perecedera en comparación con otras hortalizas, en consecuencia, su almacenamiento por periodos prolongados es poco viable, al menos que se someta a un proceso de conservación que, necesariamente, implica una etapa de inactivación enzimática. El escaldado es un proceso térmico que tiene como objetivo principal inactivar las enzimas presentes en los alimentos. Algunas de estas enzimas son responsables de su degradación y pueden ocasionar la generación de malos olores y sabores (Barrett y Theerakulkait 1995). La enzima Peroxidasa en hortalizas posee una gran termorresistencia comparada con otras enzimas, por ello, se utiliza como indicador biológico en la eficacia de la operación de escaldado (Robinson 1991). Es necesario conocer las propiedades termocinéticas de la Peroxidasa, las cuales indican el comportamiento de inactivación de enzimas a ciertas temperaturas. Estas propiedades son: el tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ), el cual es el tiempo que se requiere a una temperatura específica para que la cantidad de microorganismos y/o actividad enzimática se reduzca en

un 90 %, y la constante de resistencia térmica ( $z$ ), que es un indicador de la sensibilidad del microorganismo y/o enzima a la temperatura. Los valores de  $D_T$  y  $z$  son utilizados para poder predecir el tiempo y la temperatura de tratamiento que se usará en el escaldado, además, predicen la cantidad de microorganismos o actividad enzimática que estarán presentes después del tratamiento térmico. El tiempo de reducción decimal disminuye de manera exponencial con el aumento de la temperatura específica a la cual está sometido el alimento. El valor de  $z$ , a diferencia del tiempo de reducción decimal no cambia con los intervalos de temperatura empleados en los tratamientos térmicos de hortalizas (50 °C a 121.1 °C), siendo un indicador de la influencia de la misma sobre la actividad enzimática (Valentas y col 1997).

La demanda y el consumo de esta hortaliza ha incrementado con el paso de los años en diversas partes del mundo (FAOSTAT 2017), consecuencia de su alto valor nutrimental, impulsando su reconocimiento como alimento nutritivo, así como también, favorecido por la tendencia de la población a consumir alimentos saludables, ha tenido como consecuencia un aumento notable en la producción y exportación de este producto y por lo tanto ha crecido el interés de su correcta conservación. Por ello, conocer los parámetros termocinéticos al momento de escaldar es de suma importancia ya que con ellos se puede conocer el efecto de la temperatura, así como, conocer el tiempo necesario para tener la letalidad o inactivación deseada de las enzimas y así poder diseñar de manera adecuada la etapa de escaldado. El objetivo de este trabajo fue determinar los valores de tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ) y la constante de resistencia térmica ( $z$ ) para la enzima Peroxidasa en brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica y validar estos parámetros termocinéticos.

### III REVISIÓN DE LITERATURA

#### A BRÓCOLI

##### 1 Taxonomía

El brócoli es una hortaliza de clima frío, cultivada de 8 a 17 °C, la cual pertenece a la familia *Brassicaceae*, del género *Brassica* y la especie *oleracea*, cuyo nombre científico es *Brassica oleracea* L. (**Cuadro 1**). La variedad itálica, es una de las variedades de brócoli preferida por los consumidores por su sabor, textura y sus propiedades nutrimentales (Krarup y col 1998).

##### 2 Descripción

El brócoli (**Figura 1**) es una planta que posee dos cotiledones y desarrolla un tallo principal grueso con un diámetro que va de los 2 a los 6 cm y una altura de 20 a 50 cm de longitud, donde se insertan las hojas (Krarup y col 1998). Las hojas de esta planta son láminas alargadas con venas bastante prominentes, además, tienen los peciolo cortos, su superficie está cubierta con una sustancia cerosa, que le da un tono plumizo al follaje y posee un característico color verde oscuro (Krarup y col 1998).

Al final del tallo se encuentra la inflorescencia (**Figura 2**), que es la parte aprovechable de la planta. Es un conjunto de primordios florales fértiles, que se encuentran cerradas y agrupadas en una estructura muy compacta denominada cabeza o pella (Campusano 1999).

Esta planta puede ser consumida en su totalidad, que abarca cabeza central, tallos y botones laterales (Krarup y col 1998). Los días óptimos de cosecha van de los 70 a los 75

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica del brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica.

<b>Clasificación</b>	<b>Taxonomía</b>
Reino	Vegetal
División	<i>Magnaliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Brassicales</i>
Familia	<i>Brassicaceae</i>
Género	<i>Brassica</i>
Especie	<i>oleracea</i>

(Fuente: Krarup y col 1998)



**Figura 1.** Planta de brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica (Fuente: Pixabay 2014).



**Figura 2.** Inflorescencia comestible de la planta de brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica (Fuente: AVOCITRUS 2017).

días a partir de su siembra, o cuando la cabeza alcanza un diámetro de 25 a 35 cm y se encuentra lo más compacta posible (SIAP 2017).

### **3 Producción**

#### **a) Mundial**

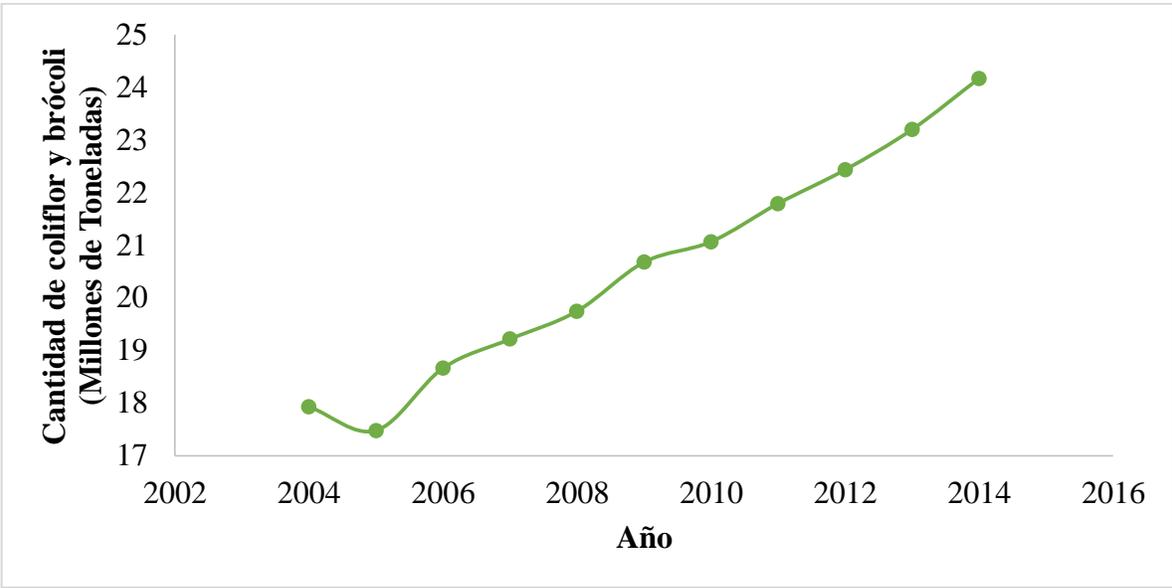
En el año 2014 se produjeron a nivel mundial 24,175,040 toneladas de brócoli y coliflor, siendo China el principal productor de esta hortaliza aportando alrededor del 38 %, seguido de India con 36 % y Estados Unidos con un 5 %. México ocupó el quinto lugar a nivel mundial con un 2 %. Durante el periodo de 2004 al 2014, la producción mundial de coliflor y brócoli aumentó de manera lineal (**Figura 3**) (FAOSTAT 2017).

#### **b) Nacional**

En México, en el año 2016 se reportó una producción de 507,482 toneladas, siendo Guanajuato el principal productor a nivel nacional aportando más del 63 % de la producción nacional, seguido por Michoacán con una aportación cerca del 9 % y Puebla con una aportación aproximada al 8 % (**Cuadro 2**) (SIAP 2017).

### **4 Importancia del cultivo de brócoli**

En los últimos años se ha adjudicado una mayor importancia al consumo de esta hortaliza, ya que se han descubierto una serie de compuestos que tienen efectos benéficos en la prevención de diversas enfermedades crónicas degenerativas. Por esta razón, se justifica el creciente interés en el cultivo y consumo de esta hortaliza, tanto como producto fresco como congelado, e incluso, procesado (Krarup y col 1998).



**Figura 3.** Producción mundial de brócoli y coliflor (FAOSTAT 2017).

**Cuadro 2.** Producción nacional de brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica.

<b>Ubicación</b>	<b>Producción (T)</b>	<b>Porcentaje de producción (%)</b>
Aguascalientes	9504	2.131
Baja California	5465	1.226
Baja California Sur	6	0.001
Distrito Federal	3658	0.82
Guanajuato	292345	65.565
Jalisco	22024	4.939
Michoacán	45878	10.289
México	4179	0.937
Puebla	26002	5.832
Querétaro	6552	1.47
San Luis Potosí	1345	0.302
Sonora	13271	2.976
Tlaxcala	10552	2.367
Veracruz	1650	0.37
Zacatecas	3452	0.774

(Fuente: SIAP 2017)

El efecto protector de las hortalizas crucíferas se ha atribuido, en gran medida, a la presencia de fitoquímicos, tales como vitaminas (C y E, principalmente), flavonoides como la quercetina,  $\beta$ -caroteno, luteína, glucosinolatos, entre otros (Podsędek 2007).

## **5 Composición química**

El florete de brócoli presenta un contenido de 91 % de humedad, 5.45 % de proteína, 0.3 % de lípidos y 4.86 % de carbohidratos (**Cuadro 3**) (Hasperué 2012).

Esta hortaliza ha sido calificada como uno de los alimentos con mayor valor nutrimental por unidad de peso comestible, pues brinda una alta concentración de vitaminas y minerales necesarios para el desarrollo de un organismo. Las principales vitaminas que se encuentran presentes en el brócoli son la vitamina A, C, las del complejo B, así como también es rica fuente de minerales como calcio (Ca), hierro (Fe), Sodio (Na) y especialmente potasio (K) (Hasperué 2012). En el **Cuadro 3** se puede observar que al consumir 100 g de brócoli fresco, es posible alcanzar la ingesta diaria recomendada de vitamina C y el 25 % de la ingesta diaria sugerida para vitamina B2.

Diversos estudios han demostrado que el brócoli contiene sustancias químicas (como el sulfurofano) que estimulan la generación de enzimas relacionadas con la prevención de ciertos tipos de cáncer, jugando un papel muy importante en conjunto con los compuestos antioxidantes, los cuales inciden directamente sobre la molécula que desencadena este padecimiento. De igual manera, estas crucíferas poseen concentraciones altas en compuestos indólicos. Estos están relacionados con el sistema de eliminación de toxinas (Jaramillo y Diaz 2006).

**Cuadro 3.** Composición química en 100 gramos de brócoli fresco

Componente	Valor	VNR	
		IDR	IDS
Agua (g)	91		1-1.5 mL/kcal
Proteína (g)	5.45	1*	10-20 % ****
Lípidos (g)	0.3		20-30 % ****
Carbohidratos (g)	4.86		50-65 % ****
Vitamina A (U.I)	3.5		568**
Vitamina B1 (mg)	100		800**
Vitamina B2(mg)	210		840**
Vitamina C (mg)	118	60***	
Calcio (mg)	130		900***
Fósforo (mg)	76	664***	
Hierro (mg)	1.3		17***
Contenido energético (Cal)	42.32 (177 kJ)		2000

(Fuente: Hasperué 2012)

VNR: Valores nutrimentales de referencia para la población mexicana, IDR: Ingesta diaria recomendada, IDS: Ingesta diaria sugerida. \*g/kg de peso corporal, \*\*µg, \*\*\*mg, \*\*\*\* porcentaje con respecto al total de calorías en la dieta diaria.

## **6 Poscosecha de brócoli**

Debido a las características del brócoli, es necesario que posterior a la cosecha se mantenga un estricto control de la temperatura de almacenamiento. Esta hortaliza es sumergida en agua con hielo con el fin de disminuir la actividad metabólica, retardando la senescencia. En la etapa comercial, la inflorescencia se encuentra aún en desarrollo, tendiendo a florecer en poco tiempo. El efecto de la florescencia y la senescencia causan cambios de sabor, color y textura en la hortaliza. Los pequeños granos que se encuentran en la pella comienzan a crecer, permitiendo que la flor se abra adquiriendo un color amarillo, perdiendo su compactibilidad. Este conjunto de cambios morfológicos son rechazados por los consumidores (Jaramillo y Diaz 2006).

## **7 Metabolismo del brócoli posterior a la cosecha**

Debido al metabolismo acelerado del brócoli, a temperaturas de 20 °C, se torna de una tonalidad amarillenta luego de 3 a 4 días (King y Morris 1994). Además, se ve afectada de forma negativa la calidad y el contenido de las proteínas, contenido de fibra y concentración de ácido ascórbico. (Nishikawa y col 2003; Costa y col 2005).

### **a) Velocidad de respiración**

La temperatura a la que se almacenan los productos cosechados afecta de manera significativa la velocidad de respiración (**Cuadro 4**), y a su vez, la velocidad de respiración es proporcional al deterioro de los productos hortofrutícolas (Fernández-León 2012). En el caso del florete de brócoli, su velocidad de respiración es mayor comparada con la pella intacta, demostrando que la cosecha estresa la hortaliza, permitiendo que llegue a su estado senescente más rápidamente (Cantwell y Suslow 2002).

**Cuadro 4.** Velocidad de respiración de brócoli.

<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Respiración (mL CO<sub>2</sub>/kg·h)</b>
0	10 - 11
5	16 - 18
10	38 - 43
15	80 - 90
20	140 - 160

(Fuente: Cantwell y Suslow 2002)

## **b) Degradación de la clorofila en la vida poscosecha**

Existen diversos factores que pueden afectar la concentración de clorofila en un producto hortofrutícola como lo son: variedad, condiciones pre-cosecha, manejo poscosecha y el procesamiento. Estos permiten que la cantidad de este compuesto esté en un intervalo de 260 a 970 mg/kg peso fresco en el caso de brócoli, siendo la clorofila *a* la que se encuentra en mayor cantidad comparada con la clorofila *b* (relación de 3:1) (Funamoto y col 2003; Lemoine y col 2007).

Debido al proceso natural de maduración del brócoli, la clorofila es liberada de los tilacoides hacia el citosol de las células, provocando la generación de enzimas encargadas de la eliminación de ella. Esto evita la fotoactividad de la clorofila, impidiendo que se generen radicales libres que puedan dañar los órganos y la membrana de las células (Hasperué 2012).

El brócoli es una hortaliza altamente perecible, donde su principal característica de pérdida de calidad es la generación de un color amarillo en su estructura, o bien, la degradación de las moléculas de clorofila. La oxidación y degradación de la clorofila conlleva a la generación de otras moléculas como feofitina, feofórbido y clorofilina. Estas provocan que las hortalizas presenten un color más pardo comparado con el producto fresco (Fernández-León 2012).

## **B PEROXIDASA (POD)**

### **1 Función bioquímica**

La enzima Peroxidasa pertenece a la clasificación enzimática de las oxidoreductasas. Se encargan de catalizar la reacción de óxido–reducción entre peróxido de hidrógeno y una gran variedad de aceptores de electrones (compuestos reducidos), como los compuestos fenólicos, aminas aromáticas y otros ( $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{AH}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{A}^*$ ). Esta enzima utiliza diferentes tipos de peróxidos como aceptores de electrones para catalizar dicha reacción de oxidación (Fleischmann y col 2004).

Estas enzimas se caracterizan por estar ampliamente distribuidas en las plantas y en los animales, jugando un papel muy importante en distintas rutas metabólicas. Específicamente en plantas superiores, la enzima Peroxidasa está involucrada en la biogénesis del etileno, en la oxidación del ácido inol-acético, la degradación de clorofilas, la lignificación, la oscuridad de los tejidos y en las respuestas al estrés provocado por agentes externos (Schmidt y Pennacchiotti 2011; Altunkaya y Gokmen 2008).

### **2 La enzima Peroxidasa como indicador térmico**

La enzima Peroxidasa es la más termorresistente presente en las hortalizas, siendo particularmente estables, pudiendo llegar a soportar hasta 120 °C por unos minutos (Zambrano y col 2011). Por este motivo es utilizada como indicador biológico en la eficiencia de la etapa de escaldado. Cuanto menor sea la actividad enzimática remanente, mayor severidad tuvo la etapa de escaldado.

Para comprobar la presencia y actividad de esta enzima, después de un proceso térmico, se utiliza como donador de electrones principalmente el guayacol, el cual por

acción de la enzima en presencia del peróxido de hidrógeno es convertido a tetraguayacol, generando una coloración parda, que puede ser medida en un espectrofotómetro (Robinson 1991).

El brócoli se considera como una de las hortalizas con mayor actividad enzimática de Peroxidasa, siendo ésta una buena indicadora del proceso térmico para este producto (Forsyth y col 1999).

## **C TRATAMIENTO TÉRMICO**

### **1 Generalidades**

El tratamiento térmico es un proceso en el cual un producto es sometido a altas temperaturas, con el fin de disminuir el nivel de actividad enzimática, alargar la vida de anaquel, disminuir la carga microbiana, generar nuevos productos, entre otros. Como consecuencia induce cierto grado de cocción de los alimentos, y de esta manera, se generan ciertos compuestos que, previos a la cocción, no se encontraban biodisponibles (Brown y Ayres 1982).

Para algunos alimentos, el procesamiento térmico representa solamente una parte del proceso de conservación y suele aplicarse en combinación con otros factores de control, como la reducción de la actividad de agua, cambios de pH, entre otros (Brown y Ayres 1982).

## **D TRANSFERENCIA DE CALOR**

### **1 Generalidades**

La transferencia de calor se presenta cuando existe un diferencial de temperatura en un sistema que no es adiabático. Se transfiere de una región de alta temperatura a otra de

temperatura más baja (Foust y col 1987). Existen en la naturaleza tres mecanismos básicos por los que se da la transferencia de calor: conducción, convección y radiación.

## 2 Convección

En el proceso de escaldado, el mecanismo que predomina para transferencia de calor es convección. Este es un proceso de transporte de energía entre una superficie y un fluido adyacente. La velocidad con que se da la transferencia de calor depende de cuatro factores: velocidad del fluido, la geometría del sistema, el diferencial de temperatura y las propiedades del material (Kreith 1970; Holman 1997). Todos estos factores están englobados en el coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ). La magnitud de este valor describe la velocidad con la que se transferirá el calor. La ecuación para la transferencia de calor por convección se le conoce como ley de enfriamiento de Newton (Cengel 2003).

$$q = h(T_s - T_\infty) \quad (1)$$

Donde  $q$  es la densidad de flujo de calor o flux ( $\text{W m}^{-2}$ ),  $T_s$  es la temperatura del sólido ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_\infty$  representa a la temperatura del fluido ( $^{\circ}\text{C}$ ) y  $h$  es el coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $\text{W m}^{-2} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$ ).

Existen dos tipos de convección: natural y forzada. En la convección forzada existe la influencia en la velocidad del fluido por parte de energía externa, tal como un ventilador o una bomba. En convección natural, a diferencia de la forzada, no existe influencia externa o entrada de energía que pueda afectar a la velocidad natural del fluido. Al tener una diferencia de temperatura entre el fluido del medio y la superficie sólida, se crean cambios

de densidad en el medio que ocasionan corrientes del mismo fluido (Heldman y Singh 1981).

### **3 Transferencia de calor en estado no estacionario.**

En el fenómeno de transferencia de calor, la temperatura puede cambiar a medida que transcurre el tiempo. En el estudio de la transferencia de calor en estado no estacionario, el tiempo juega un papel como factor en el cambio de la temperatura (Caro-Corrales y col 2002).

Existe un gran número de procesos de calentamiento y enfriamiento en la naturaleza que se realizan de manera no estacionaria. En el procesamiento de alimentos, en el que se involucra transferencia de calor, el material es sumergido en algún fluido que se encuentra a una temperatura constante diferente a la del mismo. La rapidez con que se da la transferencia de calor depende de la resistencia que existe dentro del cuerpo y a la que existe en el medio en el que está sumergido el objeto. Generalmente, en el caso de procesamiento de alimentos, las resistencias interna y externa del sistema son significativas. En ingeniería, los análisis de transferencia de calor en estado no estacionario más utilizados son cuando la resistencia interna y externa son finitas, y se analiza la transferencia de calor en un sólido finito. Se debe recalcar que en una situación real, depende en gran medida de las condiciones iniciales y de frontera que se presentan en la práctica (Caro-Corrales y col 2002).

#### 4 Modelo de transferencia de calor cuando la resistencia interna y externa son significativas.

En los procesos térmicos para alimentos, la transferencia de calor en estado no estacionario se produce cuando la resistencia interna y externa poseen valores significativos ( $0.1 < Bi < 40$ ). Para estos casos existen modelos matemáticos para distintas geometrías que permiten predecir el comportamiento de la temperatura dentro del material sumergido.

##### a) Placa infinita

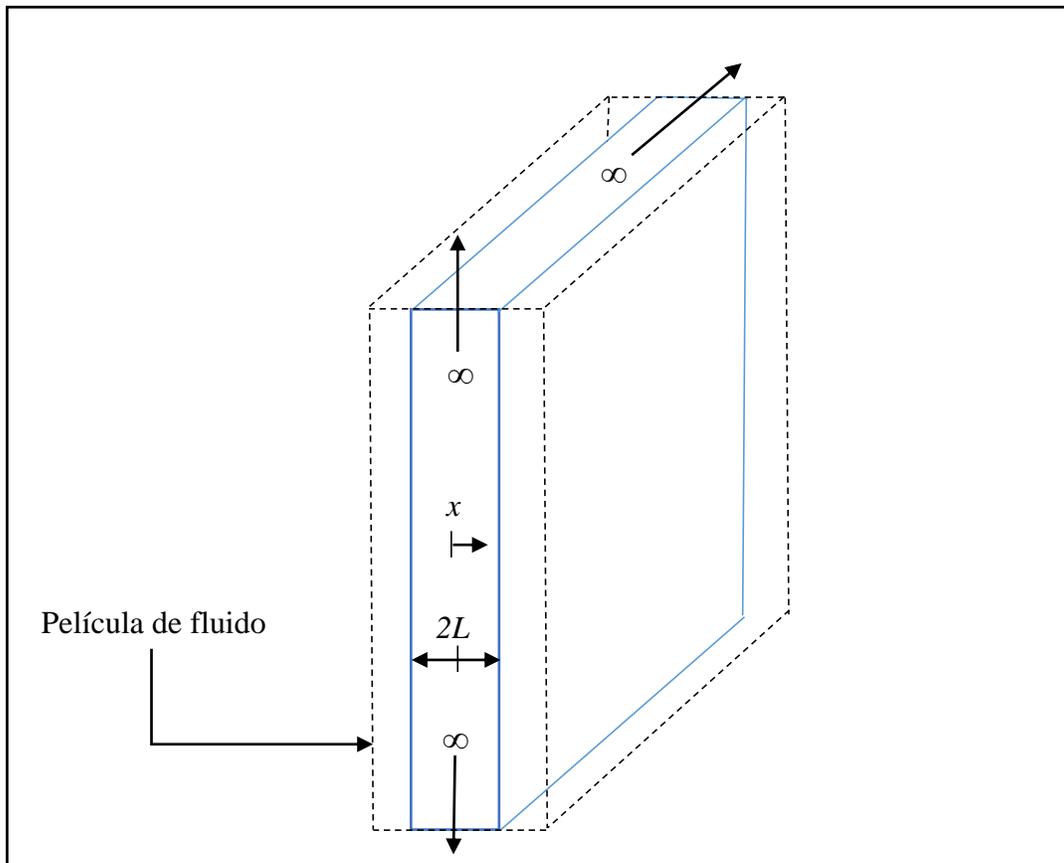
La ecuación de campo para placa infinita (**Figura 4**) es:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} \quad (2)$$

Al inicio del proceso, la placa se encuentra a temperatura uniforme  $T_0$  y la temperatura del medio se mantiene a  $T_\infty$ . El parámetro  $x$  es medido desde el centro geométrico de la placa y se considera que esta misma posee un espesor de  $2L$ . La transferencia de calor por conducción que se genera desde el interior de la placa hacia la superficie se considera igual a la transferencia de calor por convección desde la superficie hacia el fluido (Carslaw y Jaeger 1959). De esta manera, las condiciones iniciales y de frontera son las siguientes:

$$\begin{aligned} T(x, 0) &= T_0 \\ \frac{\partial T(0, t)}{\partial x} &= 0 \\ -k \frac{\partial T(L, t)}{\partial x} &= h [T(L, t) - T_\infty] \end{aligned} \quad (3)$$

La solución para la placa infinita está dada por la siguiente serie infinita (Carslaw y Jaeger 1959):



**Figura 4.** Placa infinita de espesor  $2L$  rodeada de fluido.

$$\frac{T - T_{\infty}}{T_0 - T_{\infty}} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2 \sin \lambda_n \cos \left( \lambda_n \frac{x}{L} \right)}{\lambda_n + \sin \lambda_n \cos \lambda_n} \exp(-\lambda_n^2 Fo) \quad (4)$$

Donde los valores característicos o eigenvalores  $\lambda_n$  están dados por  $\lambda_n \tan \lambda_n = Bi$  y el número de Biot y de Fourier están dados por las Ecuaciones 5 y 6, respectivamente.

$$Bi = \frac{hL}{k} \quad (5)$$

$$Fo = \frac{\alpha t}{L^2} \quad (6)$$

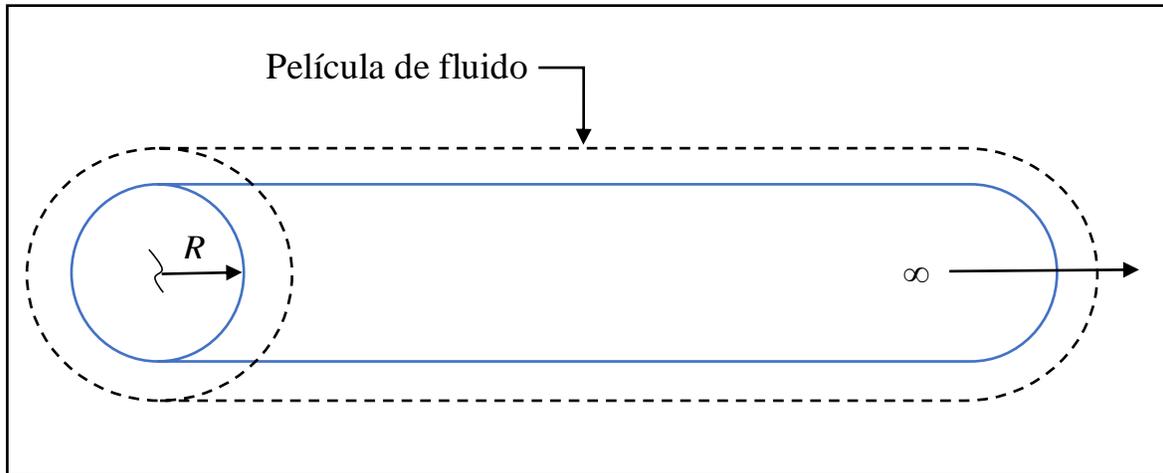
Donde  $h$  es el coeficiente convectivo de transferencia de calor del medio,  $L$  es la distancia entre la superficie de la placa y el centro geométrico de ella en m,  $k$  es la conductividad térmica de la placa en  $W m^{-1} K^{-1}$ ,  $\alpha$  es la difusividad térmica en  $m^2 s^{-1}$  y  $t$  es el tiempo del tratamiento (s).

#### b) Cilindro infinito

En el caso de cilindro infinito (**Figura 5**), se utiliza la ecuación de campo de Fourier en coordenadas cilíndricas:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \alpha \left( \frac{\partial^2 T}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial T}{\partial r} \right) \quad (7)$$

A partir de la **Ecuación 7** se puede estimar la temperatura usando la posición radial y el tiempo como función. Al inicio del proceso, el cilindro se encuentra a temperatura uniforme ( $T_0$ ) en cualquier punto radial ( $r$ ) y la temperatura del fluido se mantiene a  $T_{\infty}$ . El fenómeno de transferencia de calor por conducción que fluye desde el interior del cilindro



**Figura 5.** Cilindro infinito con radio  $R$ .

hacia la superficie es igual a la transferencia de calor por convección que se da desde la superficie hacia el fluido (Caro-Corrales y col 2002). Tomando en cuenta lo anterior, se obtienen las siguientes condiciones de inicio y frontera:

$$\begin{aligned}
 T(r, 0) &= T_0 \\
 \frac{\partial T(0, t)}{\partial r} &= 0 \\
 -k \frac{\partial T(R, t)}{\partial r} &= h [T(R, t) - T_\infty]
 \end{aligned} \tag{8}$$

Donde  $r$  es la posición en cualquier punto radial del cilindro (m),  $T_0$  es la temperatura inicial del cilindro ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $T_\infty$  es la temperatura del medio ( $^{\circ}\text{C}$ ),  $t$  es el tiempo (s) y  $R$  es el radio total del cilindro (m). Al resolver la **Ecuación 7** utilizando las condiciones de frontera y la condición inicial mencionadas anteriormente, se obtiene la solución analítica dada por la serie infinita siguiente (Crank 1975):

$$\frac{T - T_\infty}{T_0 - T_\infty} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2BiJ_0\left(\lambda_n \frac{r}{R}\right)}{(Bi^2 + \lambda_n^2)J_0(\lambda_n)} \exp(-\lambda_n^2 Fo) \tag{9}$$

Los valores característicos o eigenvalores  $\lambda_n$  se obtienen a partir de la Ecuación 10:

$$\lambda_n J_1(\lambda_n) = Bi J_0(\lambda_n) \tag{10}$$

Donde  $J_0$  y  $J_1$  son las funciones de Bessel de cero y primer orden y los números de Biot y de Fourier para el cilindro están dados por las Ecuaciones 11 y 12, respectivamente:

$$Bi = \frac{hR}{k} \tag{11}$$

$$Fo = \frac{\alpha t}{R^2} \quad (12)$$

### c) Cilindro finito

En el caso de la solución de la ecuación de Fourier para cilindro finito (**Figura 6**) se considera una transferencia de calor radial y axial simultáneamente. Para ello es utilizado el principio de superposición de soluciones.

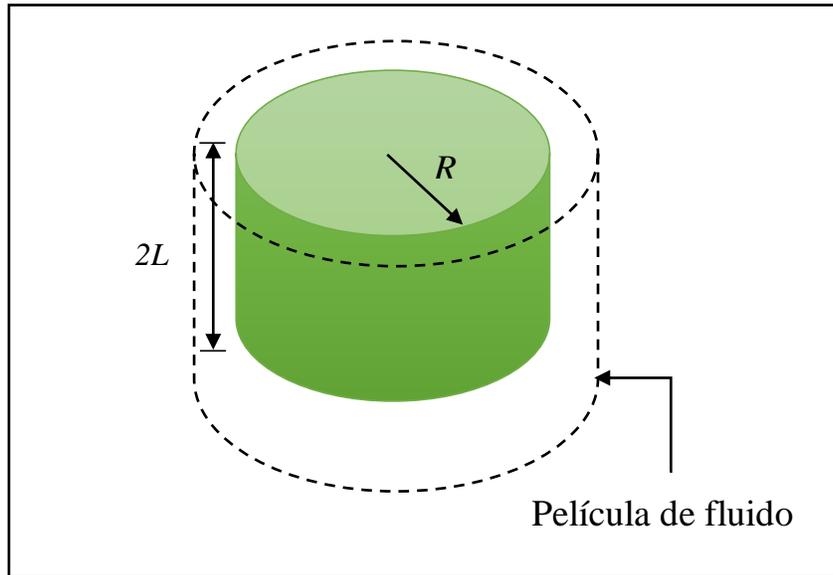
El principio de superposición de soluciones establece que es posible combinar las soluciones correspondientes a la transferencia de calor para cada una de las dimensiones ortogonales, pudiendo interpretar que un cilindro finito se representa como la intersección geométrica entre un cilindro infinito y una placa infinita (**Figura 7**). De manera analítica, la solución para la fracción de temperatura no alcanzada (FTNA) en cilindro finito se obtiene a partir de la multiplicación de la FTNA para placa infinita y FTNA para cilindro infinito, como se muestra en la **Ecuación 13**.

$$\left( \frac{T - T_\infty}{T_0 - T_\infty} \right)_{\text{Cilindro Finito}} = \left( \frac{T - T_\infty}{T_0 - T_\infty} \right)_{\text{Placa Infinita}} \left( \frac{T - T_\infty}{T_0 - T_\infty} \right)_{\text{Cilindro Infinito}} \quad (13)$$

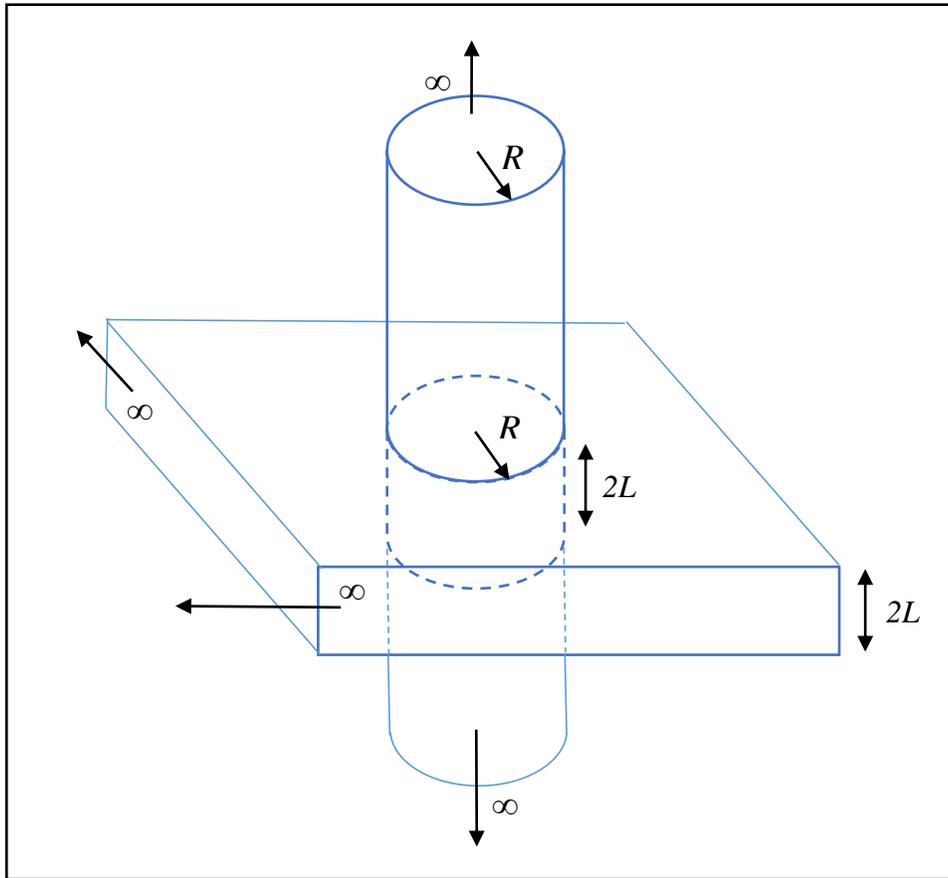
## E INACTIVACIÓN ENZIMÁTICA

### 1 Generalidades

El escaldado es un tratamiento térmico que consiste en exponer un tejido a una fuente de calor (agua caliente o vapor de agua) con el fin de inactivar enzimas y disminuir el metabolismo de frutas y hortalizas. Esto es causado por el efecto de la temperatura en las fuerzas que mantienen las estructuras terciarias y cuaternarias de las proteínas, eliminando



**Figura 6.** Cilindro finito.



**Figura 7.** Esquema de la intersección entre cilindro infinito y placa infinita.

su actividad (Schonhof y col 2007). Este tratamiento se lleva a cabo en un intervalo de 60 a 100 °C (algunas enzimas ya se ven afectadas a temperaturas de 50 °C), durante tiempos relativamente cortos, ya que si se sobreexpone el tejido a estas condiciones, puede que el tejido alcance el estado de pre-cocción, o cocción (Achondo 1991; Barrett y Theerakulkait 1995).

## **2 Importancia**

La inactivación enzimática, en el procesamiento de alimentos, es una etapa clave previa a la etapa fundamental del proceso en cuestión, tales como congelación, deshidratación y elaboración de conservas, entre otros (Woodroof 1988).

El tiempo de escaldado depende de diversos factores como son: temperatura a la cual se lleva a cabo el calentamiento, el coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ), temperatura inicial del producto, tamaño y geometría del producto, propiedades termofísicas y química del producto y el método de calentamiento (Woodroof 1988).

La energía transferida durante el proceso de escaldado tiene un efecto inhibitor a nivel enzimático, por desnaturalización térmica de las enzimas presentes en las hortalizas, provocando que la actividad metabólica disminuya casi por completo. Estas enzimas son las responsables en gran medida de reacciones indeseables, como formación de aromas, sabores o colores indeseables, y causan pérdidas en ciertos tipos de vitaminas y fitoquímicos, teniendo un efecto adverso en la calidad y valor nutrimental del producto (Barrett y Theerakulkait 1995). De igual manera, el escaldado permite la salida de gases atrapados en los espacios intracelulares del tejido (Ganthavorn y Powers 1988). En algunos

productos, el escaldado mejora el sabor y mantiene el color de algunas hortalizas (Fennema 2006).

## **F CINÉTICA DE INACTIVACIÓN TÉRMICA**

### **1 Generalidades**

Las enzimas, al ser proteínas, se pueden desnaturalizar con tratamientos térmicos, cumpliéndose uno de los objetivos primordiales del escaldado. La inactivación de las enzimas por tratamientos térmicos se debe a una disrupción de las fuerzas que mantienen la estructura terciaria y cuaternaria. La ecuación de Arrhenius utilizada para determinar la energía de activación de las reacciones enzimáticas de igual manera es empleada para la determinación de la "energía de activación de la inactivación térmica" (Jiménez 1993). Debido a que la magnitud de la energía de activación para los procesos de inactivación térmica es alta para las enzimas a estas condiciones de temperatura, la velocidad de inactivación aumenta rápidamente al aumentar la temperatura (Ediriweera y col 1987).

A través de la cinética de inactivación enzimática se pueden obtener distintas combinaciones de tiempo y temperatura para la enzima de interés. Un elemento esencial de información es la velocidad a que tiene lugar la inactivación de una enzima determinada a una temperatura dada (Chandia 2000).

La inactivación enzimática tiende a seguir una cinética de primer orden. Sin embargo, cuando existe en el medio más de una enzima, como es en el caso de los alimentos, pueden aparecer cinéticas más complejas. El fenómeno es necesario explicarlo con un modelo bifásico, el cual propone la separación de la gráfica de inactivación enzimática en dos periodos: termo-lábil y termo-resistente. Esto puede ser requerido

siempre y cuando el modelo simple no satisfaga correctamente las predicciones y lo obtenido mediante experimentación (Ling y Lund 1978).

## 2 Tiempo de reducción decimal ( $D_T$ )

El tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ) es el tiempo de tratamiento, a una temperatura específica ( $T$ ), en el que se logra disminuir la cantidad de microorganismos o actividad enzimática en un 90 %. De igual manera, se puede definir como el tiempo para que la línea de supervivencia atraviese un ciclo logarítmico (**Figura 8**) (Valentas y col 1997). El tiempo de reducción decimal está relacionado con la constante de velocidad de inactivación térmica ( $k$ ), la cual se puede obtener a partir de la **Ecuación 14**:

$$\frac{-da}{dt} = ka \quad (14)$$

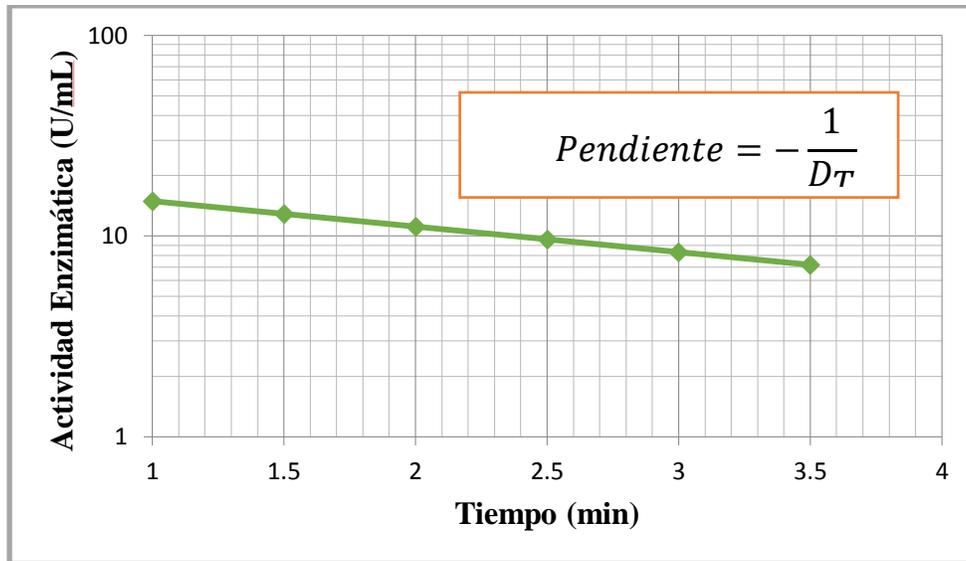
Donde  $a$  es la actividad enzimática al tiempo  $t$ ,  $k$  representa la constante de velocidad de inactivación térmica ( $\text{min}^{-1}$  ó  $\text{s}^{-1}$ ) y  $da/dt$  representa la variación de la actividad enzimática con el tiempo. Al resolver la **Ecuación 14**, y fijar los límites de  $a_0$  hasta  $a$ , asociados con tiempo 0 hasta tiempo  $t$ , respectivamente:

$$\ln\left(\frac{a}{a_0}\right) = -kt \quad (15)$$

Donde  $a/a_0$  representa el índice de inactivación enzimática. Al convertir de  $\ln$  a  $\log$ :

$$\log\left(\frac{a}{a_0}\right) = \frac{-kt}{\ln(10)} \quad (16)$$

De igual manera, el tiempo de reducción decimal se determina mediante la pendiente del gráfico de logaritmo de la actividad enzimática con la **Ecuación 17**:



**Figura 8.** Gráfico de la degradación de la actividad enzimática con respecto al tiempo.

$$\log(a) = \frac{-1}{D_T} t + \log(a_0) \quad (17)$$

La que puede ser reestructurada de la siguiente manera:

$$\log\left(\frac{a}{a_0}\right) = \frac{-1}{D_T} t \quad (18)$$

Al comparar las **Ecuaciones 16 y 18**, es posible llegar a la siguiente igualdad:

$$k = \frac{\ln(10)}{D_T} \quad (19)$$

Los valores de tiempo de reducción decimal para la Peroxidasa en brócoli son muy escasos. En la literatura se encuentra reportado intervalos de  $D_T$  de 16.0 a 3.96 min, en un intervalo de temperatura que va de los 70 a los 95 °C para brócoli (Morales-Blancas y col 2002), y para la Peroxidasa en otros alimentos se presentan dentro del intervalo de 7.61 a 0.27 min en el intervalo de 70 a 100 °C (Anthon y col 2002; Ganjloo y col 2011; Carvalho y Zapata 2014; Nicolau y col 2008). En la bibliografía se han publicado tiempos de reducción decimal desde 1666.6 a 3.4 min a temperaturas menores (50 a 95 °C) respectivamente para coliflor (Rayan y col 2011).

### **3 Constante de resistencia térmica (z)**

La constante de resistencia térmica (z) representa la sensibilidad de un microorganismo o enzima a la temperatura (Valentas y col 1997). Representa también el cambio que experimenta el valor  $D_T$  con la temperatura, y puede ser determinada a partir de la **Ecuación 20**:

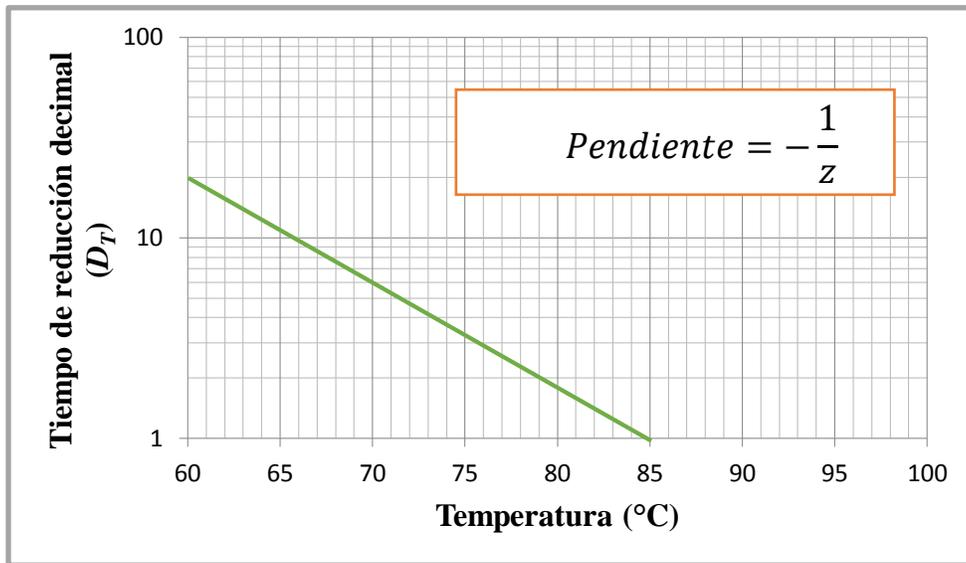
$$\log(D_T) - \log(D_0) = -\frac{1}{z}(T - T_0) \quad (20)$$

Donde  $D_T$  y  $D_0$  son los tiempos de reducción decimal a las temperaturas  $T$  y  $T_0$ .

El valor  $z$  corresponde al incremento de temperatura necesario para que la línea de termo destrucción atravesase un ciclo logarítmico y es igual al recíproco negativo de la pendiente de la misma (

**Figura 9)** (Valentas y col 1997).

Los valores encontrados para Peroxidasa en brócoli, al igual que para los de tiempo de reducción decimal, son muy variados. En la literatura se encuentra reportado para brócoli el valor  $z$  de 44 °C (Morales-Blancas y col 2002), y para Peroxidasa en otros alimentos se encuentra en un intervalo de 15.2 hasta 37.7 °C (Rayan y col 2011).



**Figura 9.** Gráfico de la disminución del tiempo de reducción decimal con respecto a la temperatura.

#### IV JUSTIFICACIÓN

En los últimos años se ha adjudicado una mayor importancia al consumo de brócoli, ya que se ha descubierto una serie de compuestos que tienen efecto benéfico en la prevención de diversas enfermedades crónico-degenerativas. Además, el brócoli es una hortaliza de gran importancia para el país, debido a que una gran parte de su producción es destinada a exportación en forma de brócoli congelado, otorgándole a México el 3° lugar a nivel mundial, teniendo como principal consumidor Estados Unidos de América (Krarup y col 1998).

Por otra parte, el brócoli fresco también se caracteriza por tener una vida de anaquel relativamente corta, debido a su alta velocidad metabólica, la que causa un cambio en el olor, color y sabor de esta hortaliza, así como también, en sus nutrimentos. Por esta razón, la principal forma de exportación del brócoli es en su presentación congelada. Sin embargo, previo al congelado es necesario aplicar una etapa de escaldado para alargar la vida de anaquel del producto.

La operación de escaldado tiene un efecto inhibitor a nivel enzimático, al desnaturalizar térmicamente las enzimas presentes en los vegetales, las cuales son responsables de reacciones indeseables como la degradación o alteración de las propiedades sensoriales, así como también, degradación en compuestos nutrimentales, teniendo un efecto adverso en su calidad (Barrett y Theerakulkait 1995).

Las propiedades termocinéticas son aquellas que representan el comportamiento de la mortalidad microbiana o inactivación enzimática en función de la temperatura. Estas propiedades son el tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ) y constante de resistencia térmica ( $z$ ).

Los valores de  $D_T$  y  $z$  son utilizados para poder predecir el tiempo y la temperatura de tratamiento que se usará en el escaldado; además, predicen la actividad enzimática residual que estará presente después del tratamiento térmico. A partir de los valores de  $D_T$  y  $z$ , se puede optimizar la operación de escaldado para lograr la mayor inactivación del metabolismo del producto y disminuir la pérdida de los compuestos nutrimentales importantes como vitaminas.

Conocer los parámetros termocinéticos al momento de escaldar es de suma importancia ya que con ellos se puede conocer la severidad a la que se somete el producto, y a su vez permite identificar las temperaturas y el tiempo que se necesita para tener la letalidad o inactivación deseada. Es por ello que en este estudio se determinaron y validaron de manera analítica y experimental el tiempo de reducción decimal a diferentes temperaturas y la constante  $z$  en Peroxidasa durante la operación de escaldado de floretes de brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica.

## V OBJETIVOS

### A OBJETIVO GENERAL

Determinar y validar los parámetros termocinéticos de Peroxidasa en brócoli (*Brassica oleracea* L.) cv. Itálica.

### B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Medir el tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ) de la actividad de Peroxidasa en brócoli (*Brassica oleracea* L.) cv. Itálica a diferentes temperaturas (50, 55, 60, 65 y 70 °C).

2.- Estimar la constante de resistencia térmica ( $z$ ) de Peroxidasa en brócoli (*Brassica oleracea* L.) cv. Itálica.

3.- Validar los parámetros termocinéticos al comparar la actividad remanente predicha a partir de historias de temperatura experimentales y estimadas con el método de elemento finito contra la determinada experimentalmente, en floretes de brócoli escaldados en agua caliente a 90 °C por 3 min, cilindros de brócoli a 80 °C por 2 min y floretes a 80 °C por 2 min.

## VI MATERIALES Y MÉTODOS

### A MATERIALES

#### 1 Materia prima

Fue utilizado como materia prima brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica (**Figura 10**), el cual fue adquirido de un supermercado de Culiacán, Sinaloa.

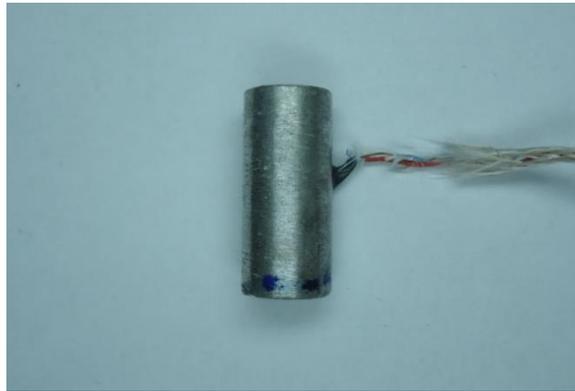
Para la selección del producto fueron tomados en cuenta criterios de homogeneidad (color, textura y compactibilidad de la cabeza de los floretes), estado de madurez número 2 en la escala de madurez propuesta por Cantwell y Suslow (2002), y que los floretes de brócoli estuvieran libres de defectos físicos que se pudieron haber generado posterior a la cosecha. Las hortalizas fueron transportadas al Laboratorio de Mediciones Termofísicas de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, en las instalaciones de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas en fechas requeridas para el desarrollo del trabajo experimental. Los floretes de brócoli se mantuvieron a una temperatura de refrigeración de 6 °C hasta el momento de su utilización.

#### 2 Cuerpo de aluminio

Para la determinación del coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) en los cilindros de brócoli, se utilizó un cuerpo de aluminio en forma de cilindro con 10 mm de diámetro y 22 mm de altura (**Figura 11**). Se introdujo un termopar tipo T en el interior del cilindro de aluminio para generar un registro de la temperatura al momento del tratamiento térmico.



**Figura 10.** Brócoli (*Brassica oleracea* L.) variedad itálica.



**Figura 11.** Cilindro de aluminio de 10 mm de diámetro y 22 mm de altura.

## **B MÉTODOS**

### **1 Preparación del extracto de Peroxidasa (POD)**

La preparación del extracto de Peroxidasa (POD) se realizó siguiendo la metodología propuesta por Zhang y col (2005). Se tomaron 10 g de muestra y se le agregó 2 g de Polivinilpolipirrolidona (PVPP). Posteriormente, se homogeneizó a 4 °C usando 20 mL de buffer de fosfato de sodio (0.05 M, pH = 7). El extracto se mantuvo durante 2 h en oscuridad a 4 °C en un mezclador serológico de vaivén (UNICO, TTR-200, EUA), se filtró y se centrifugó (Centrifuge 5810 R Eppendorf, ALE) a 11000×g por 25 min a 4 °C. La precipitación de las proteínas se realizó saturando 10 mL del sobrenadante con 7 g de sulfato de amonio [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] como agente precipitante. Esta mezcla se dejó en oscuridad durante 15 minutos a 4 °C en el mezclador serológico de vaivén. Luego, se centrifugó a 11000×g por 25 minutos a 4 °C. Posterior a la centrifugación se presentó un gel blanco en la superficie de la muestra. Este gel se retiró de manera muy cuidadosa, al igual que el sobrenadante dejando solo el precipitado en el fondo del tubo. Finalmente, al precipitado se le adicionó 20 mL de buffer de fosfato de sodio (0.05 M, pH = 7) y se mantuvo a 4 °C (Zhang y col 2005).

### **2 Preparación de los capilares**

Para que el extracto enzimático pudiera ser sometido a tratamiento térmico, alícuotas de éste fueron introducidas en capilares de cristal con dimensiones de 1.1 a 1.2 mm de diámetro interno y 75 mm de longitud por medio de una jeringa hipodérmica con dimensiones de 0.8 mm (21G) de diámetro por 32 mm de largo, manteniendo el capilar de manera horizontal para que el extracto lo llenase en su totalidad y evitar desbordamiento. Posteriormente, fueron sellados ambos extremos del capilar con adhesivo epóxico (Plasti

acero Devcon, R2-42) y se mantuvieron en reposo durante 2 horas para su curación (Rayan y col 2011).

### **3 Tratamiento térmico**

Los tubos capilares fueron sometidos a escaldado teniendo como factores: temperatura (50, 55, 60, 65 y 70 °C) y tiempo de escaldado (1.5, 2, 2.5, 3 y 3.5 min) en un baño María (Modelo 9500, Fisher Scientific, EUA). Al cumplir el tiempo de tratamiento, se procedió a colocar de inmediato los capilares en agua a una temperatura de 4 °C para detener la inactivación (Rayan y col 2011).

Al concluir el tratamiento térmico, el extracto que está dentro de los capilares fue recuperado quebrando ambos extremos y empujando el líquido con ayuda de una jeringa hipodérmica. A partir de este extracto se determinó la actividad enzimática de la Peroxidasa.

### **4 Determinación de la actividad enzimática de la Peroxidasa (POD)**

La actividad enzimática de la Peroxidasa (POD) se determinó a partir de la oxidación del guayacol en presencia de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) para formar un producto de color marrón conocido como tetraguayacol. La mezcla del ensayo consistió en 2.7 mL de buffer de fosfato de sodio (0.2 M, pH = 6.5), 0.1 mL de  $H_2O_2$  (0.1% V/V en agua), 0.15 mL de guayacol (4% V/V en agua) y 0.15 mL de extracto enzimático (López-López y col 2013). Los cambios en la absorbancia, en muestras a 25 °C, se determinaron a 470 nm, durante 3 min y fueron registrados en intervalos de 10 segundos utilizando un espectrofotómetro (Thermo Electron Corp Genesys 10 UV, Genesys 10-S, Madison, Wis., EUA) (Zhang y col 2005).

La actividad volumétrica ( $a_v$ ) en U mL<sup>-1</sup> fue calculada con la **Ecuación 21**:

$$a_v = \frac{\left(\frac{\Delta A}{t}\right) V_T}{\varepsilon l V_{Extr}} \quad (21)$$

donde  $\Delta A/t$  es la pendiente (min<sup>-1</sup>) del gráfico de absorbancia contra tiempo,  $\varepsilon$  es el coeficiente de extinción (25.5 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) (Thongsook y Barrett 2005),  $V_T$  es el volumen total de la reacción (3.1 mL),  $V_{Extr}$  es el volumen del extracto enzimático (0.15 mL) y  $l$  es el espesor de la celda (1 cm).

## 5 Determinación del tiempo de reducción decimal ( $D_T$ )

En la determinación del tiempo de reducción decimal se graficó el logaritmo de la actividad enzimática en función del tiempo de exposición a una temperatura específica y con un análisis de regresión lineal se obtuvo la pendiente, siendo ésta el recíproco negativo del  $D_T$ , de acuerdo con la **Ecuación 22**:

$$\log(a_v) = \frac{-1}{D_T} t + \log(a_{v0}) \quad (22)$$

Los resultados se reportaron en minutos (Valentas y col 1997).

## 6 Determinación de la constante de resistencia térmica ( $z$ )

Se realizó un análisis de regresión lineal entre el logaritmo del tiempo de reducción decimal y la temperatura de exposición específica y se obtuvo la pendiente. A partir de ésta se determinó la constante  $z$ , de acuerdo a la **Ecuación 23**:

$$\log(D_T) - \log(D_{T_0}) = -\frac{1}{z}(T - T_0) \quad (23)$$

Donde  $z$  es el recíproco negativo de la pendiente. Los resultados fueron expresados en grados Celsius (Valentas y col 1997).

## 7 Determinación de la energía de activación y factor de frecuencia

Se determinó la energía de activación ( $Ea$ ) y el factor de frecuencia ( $A$ ) para la constante de inactivación térmica ( $k$ ) de la enzima Peroxidasa a partir de la forma lineal de la ecuación de Arrhenius. Esta ecuación es utilizada para reiterar la dependencia de una constante de velocidad con respecto a la temperatura (Saravacos y Kostaropoulos 2002) (Anthon 2002). Dicha ecuación es la siguiente:

$$k = Ae^{-\frac{Ea}{RT}} \quad (24)$$

Donde:

$k$  = Constante cinética dependiente de la temperatura ( $\text{min}^{-1}$ )

$A$  = Factor de frecuencia o factor pre-exponencial ( $\text{min}^{-1}$ )

$Ea$  = Energía de activación ( $\text{J mol}^{-1}$ )

$R$  = Constante universal de los gases ( $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )

$T$  = Temperatura (K)

La constante  $A$  indica la frecuencia con la que se producen las colisiones entre moléculas,  $Ea$  indica el grado de dependencia o relación entre la constante cinética de interés con la temperatura. Entre más grande sea la energía de activación, mayor será la dependencia de la constante de interés con respecto a la temperatura.

Al transformar a su forma lineal la ecuación de Arrhenius, se tiene que:

$$\ln(k) = -\frac{E_a}{R} \frac{1}{T} + \ln(A) \quad (25)$$

Al sustituir la **Ecuación 19** en la **Ecuación 25** se tiene:

$$\ln\left(\frac{\ln 10}{D_r}\right) = -\frac{E_a}{R} \frac{1}{T} + \ln(A) \quad (26)$$

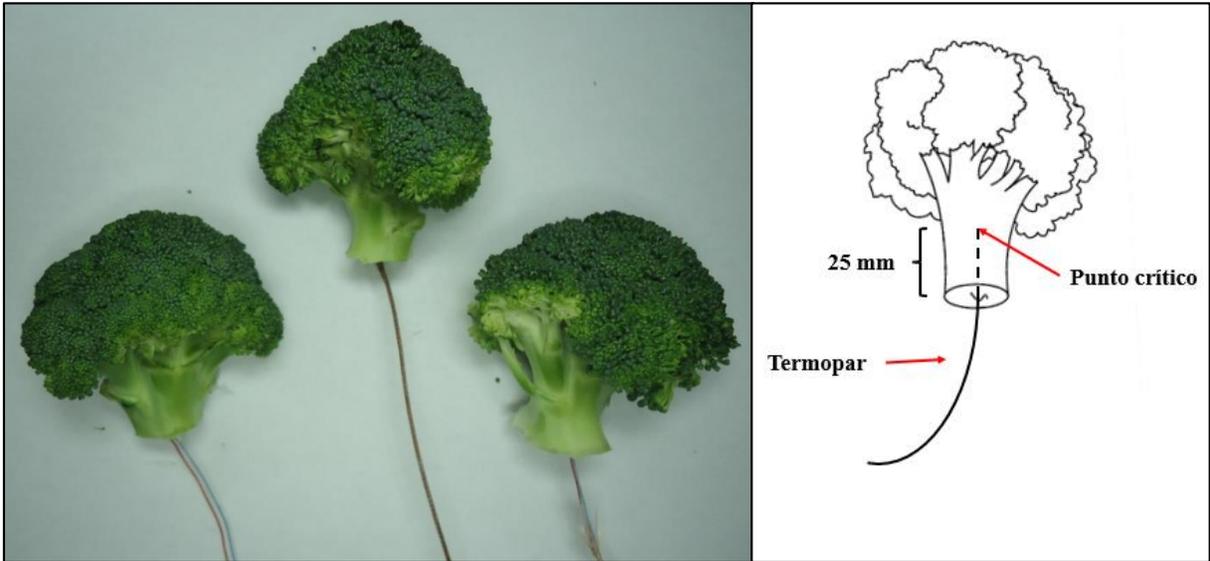
Después de transformar a logaritmo de base 10 y reacomodar:

$$\log(D_r) = \frac{E_a}{R \ln 10} \frac{1}{T} + \log(\ln 10) - \log(A) \quad (27)$$

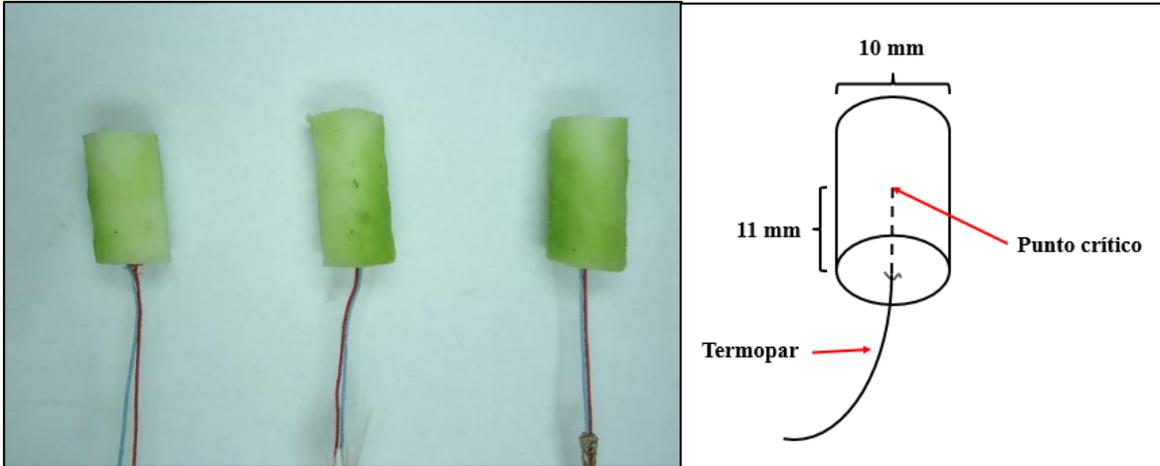
A partir de la pendiente obtenida de la **Ecuación 27** se calcula la  $E_a$  y del intercepto con el eje es calculado el factor de frecuencia ( $A$ ).

## 8 Inserción de los termopares

Para la inserción de los termopares fue utilizada la metodología propuesta por Iribesalazar y col (2015). Se realizó una incisión con una aguja quirúrgica fina hasta el punto crítico del florete de brócoli y del cilindro de brócoli, de manera que esta perforación sirviera como guía para el termopar. En el caso del florete, el termopar fue insertado desde la base del tallo hasta 25 mm de profundidad hacia el centro (punto crítico) (**Figura 12**) y en el caso del cilindro, el termopar fue insertado por una de las caras transversales, hasta llegar al centro geométrico, el cual coincide en este caso con el punto crítico (**Figura 13**). El cable del termopar fue fijado a la muestra con pegamento epóxico, para mayor seguridad en el aspecto de la movilidad del termopar y previniendo la entrada de agua. Concluido el tratamiento térmico, las muestras fueron seccionadas longitudinalmente para asegurar que los termopares estuvieran en el punto crítico.



**Figura 12.** Brócoli variedad itálica con termopares insertados a 25 mm de la base.



**Figura 13.** Cilindros de brócoli variedad itálica con termopares insertados a 11 mm de la base.

## 9 Determinación del coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) usando el método de parámetros concentrados

Para la determinación del coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) sobre el cilindro se utilizó el método de parámetros concentrados, el cual está basado en la suposición de que la geometría, el tamaño y la conductividad térmica de un material metálico se combinan de tal forma que la temperatura es igual en cualquier punto del interior, es decir, la temperatura no se encuentra en función de la posición. Además, la resistencia interna del material es despreciable comparada con la resistencia externa (Manrique 2002). Condiciones que se cumplen al emplear un cilindro de aluminio con las dimensiones de las muestras de brócoli.

El método de parámetros concentrados establece que (Iribe-Salazar y col 2015):

$$\frac{T - T_{\infty}}{T_0 - T_{\infty}} = e^{-\frac{hA}{\rho C_p V} t} \quad (28)$$

Para linealizar se aplicó logaritmo natural a ambos miembros de la ecuación:

$$\ln\left(\frac{T - T_{\infty}}{T_0 - T_{\infty}}\right) = -\frac{hA}{\rho C_p V} t \quad (29)$$

Donde  $T_0$  es la temperatura inicial del cilindro de aluminio,  $T_{\infty}$  es la temperatura del fluido, en este caso agua,  $A$  es el área del sólido,  $V$  es el volumen del sólido,  $\rho$  es la densidad del sólido,  $C_p$  es la capacidad calorífica específica del aluminio y  $h$  es el coeficiente convectivo de transferencia de calor. Los valores utilizados de propiedades termofísicas para el aluminio fueron:  $k = 237 \text{ W m}^{-1}\text{K}^{-1}$ ,  $C_p = 906.7 \text{ J kg}^{-1}\text{K}^{-1}$ ,  $\rho = 2702 \text{ kg m}^{-3}$  (Cengel 2003).

El cociente  $\frac{T-T_{\infty}}{T_0-T_{\infty}}$  es conocido como fracción de temperatura no alcanzada (FTNA), el que podría denominarse fracción remanente del gradiente de temperatura. A partir de la pendiente de la **Ecuación 29** se obtuvo el coeficiente  $h$ . Se utilizó un cuerpo de aluminio con forma cilíndrica de 10 mm de diámetro y 22 mm de largo, en el que fue introducido un termopar en el centro geométrico. Se realizaron 3 réplicas.

El cilindro de aluminio fue colocado en una red junto a cilindros de brócoli para simular un ambiente hidrodinámico similar al proceso normal de escaldado. El procedimiento comenzó en el momento que la temperatura de la muestra fue igual a la temperatura ambiente en agua que se encontraba en un intervalo de 19 a 21 °C ( $T_0 =$  temperatura promedio de 20 °C). Posteriormente, fueron sumergidos en un baño María (Modelo 9500, Fisher Scientific, EUA) a 80 °C ( $T_{\infty}$ ) durante 2 min, esto con el fin de imitar el proceso normal de calentamiento. Finalizado el calentamiento, los cilindros fueron enfriados inmediatamente en agua a una temperatura de 8 °C. Durante todo el proceso, la temperatura fue monitoreada cada segundo por un registrador de temperatura (Data Acquisition System modelo OMB-DAQ-56 de Omega Company, EUA).

En el caso de la determinación del coeficiente convectivo de transferencia de la etapa de hidrogenfriado se utilizó el método de la historia de temperatura, el cual toma en cuenta las propiedades termofísicas para brócoli presentadas en el **Cuadro 5**, la historia de enfriamiento experimental y las soluciones analítica de la ecuación de campo de Fourier en estado no estacionario para una placa infinita (**Ecuación 30**) y cilindro infinito (**Ecuación 32**), con sus respectivos eigenvalores (Caro-Corrales y col 2002).

**Cuadro 5.** Propiedades termofísicas del tallo de floretes de brócoli (*Brassica oleracea* L.) en función de la temperatura.

<b>Temperatura</b> (°C)	<b><i>k</i></b> (W m <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )	<b><i>C<sub>p</sub></i></b> (J kg <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup> )	<b><i>ρ</i></b> (kg m <sup>-3</sup> )
5	0.561	3216	1029
10	0.574	3385	1022
20	0.596	3470	1024
40	0.647	4104	1011
60	0.692	4535	1029
80	0.731	4813	1061

(Iribe-Salazar y col 2015)

$$\frac{T - T_{\infty}}{T_0 - T_{\infty}} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2 \operatorname{sen} \lambda_n \cos\left(\lambda_n \frac{x}{L}\right)}{\lambda_n + \operatorname{sen} \lambda_n \cos \lambda_n} e^{-\lambda_n^2 \frac{\alpha t}{L^2}} \quad (30)$$

$$\lambda_n \tan \lambda_n = Bi \quad (31)$$

$$\frac{T - T_{\infty}}{T_0 - T_{\infty}} = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2 Bi J_0\left(\lambda_n \frac{r}{R}\right)}{\left(Bi^2 + \lambda_n^2\right) J_0\left(\lambda_n\right)} e^{-\lambda_n^2 \frac{\alpha t}{R^2}} \quad (32)$$

$$\lambda_n J_1\left(\lambda_n\right) = Bi J_0\left(\lambda_n\right) \quad (33)$$

Se utilizó el método de Newton para encontrar los eigenvalores  $\lambda_n$  en 10 términos de la serie infinita, los que alimentaron cada una de las ecuaciones analíticas proporcionando la Fracción de Temperatura no Alcanzada (FTNA) para placa infinita y cilindro infinito, respectivamente. Al momento de multiplicarse se obtiene una intersección entre estas dos geometrías y el resultado es la FTNA para cilindro finito. Se comparó la historia de temperatura estimada y la historia de temperatura experimental, y se ajustó el coeficiente  $h$  que permitiera que la diferencia entre estas dos historias fuera la mínima posible.

## 10 Coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) para floretes de brócoli

El coeficiente convectivo de transferencia de calor utilizado en el presente estudio para los floretes de brócoli fue el reportado por Iribe-Salazar y col (2015), el cual fue para escaldado de  $1011 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  en todas las zonas externas del tallo,  $500 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  para las zonas externas entre tallos y para el hidrogenfriado  $468 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  en todas las zonas externas y  $280 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  para las zonas externas entre tallos.

## 11 Aplicación del tratamiento térmico sobre el cilindro y florete de brócoli, y determinación de la letalidad del tratamiento térmico

Se sometieron a tratamiento térmico floretes y cilindros de brócoli a temperatura de 80 °C durante 2 min, a los cuales se les colocó un termopar en el punto crítico (25 mm de la base del florete y en el centro geométrico para el cilindro) para monitorear y crear su historia de temperatura. Posteriormente, al haber transcurrido los 2 minutos se procedió a sumergirlos en agua a temperatura de 8 °C hasta que éste alcanzó la temperatura inicial (18.4 °C). La temperatura fue registrada cada segundo por el registrador de temperatura (Data Acquisition System OMB-DAQ-56, Omega Company, EUA).

Al haber concluido el tratamiento térmico, se tomó un cubo de 1 cm<sup>3</sup> del punto crítico del florete y del cilindro de brócoli, de los que se determinó la actividad enzimática volumétrica.

A partir de las historias de temperatura experimentales se determinaron las letalidades del tratamiento utilizando los parámetros termocinéticos medidos en el presente estudio. La letalidad se determinó partiendo de la siguiente ecuación (Aispuro-Coronel 2007):

$$F_0 = \int_0^t v_L dt \quad (34)$$

Para ello se calculó la velocidad letal a partir de la **Ecuación 35** (Aispuro-Coronel 2007):

$$v_L = 10^{\frac{T-T_0}{z}} \quad (35)$$

Donde  $T$  es la temperatura registrada,  $T_0$  es la temperatura de referencia y  $z$  es la constante de resistencia térmica determinada en el presente estudio.

Posteriormente, se graficó  $v_L$  con respecto al tiempo y se determinó el área bajo la curva que representa la letalidad, utilizando la **Ecuación 36** (Aispuro-Coronel 2007).

$$F_0 = \int_0^t v_L dt = \text{Área} = \Delta t \left( \frac{1}{2} v_{L0} + v_{L1} + v_{L2} + \dots + v_{Ln-1} + \frac{1}{2} v_{Ln} \right) \quad (36)$$

## 12 Determinación del porcentaje de actividad remanente de la Peroxidasa (POD)

Para la determinación de la actividad remanente de la Peroxidasa se partió de la siguiente ecuación (Aispuro-Coronel 2007):

$$\log a_v = -\frac{1}{D_T} t + \log a_{v0} \quad (37)$$

Donde:

$a_v$  = actividad volumétrica con respecto al tiempo de tratamiento ( $\text{U mL}^{-1}$ ).

$a_{v0}$  = actividad volumétrica inicial ( $\text{U mL}^{-1}$ ).

$t$  = tiempo de tratamiento (min).

$D_T$  = tiempo de reducción decimal a temperatura específica (min).

A partir de la **Ecuación 37** se despeja el tiempo  $t$ :

$$t = D_T \log \frac{a_{v0}}{a_v} \quad (38)$$

El tiempo de tratamiento también se puede definir como:

$$t = n D_T \quad (39)$$

Donde  $n$  es el número de reducciones decimales, al eliminar  $t$  de estas ecuaciones:

$$n = \log \frac{a_{V0}}{a_V} \quad (40)$$

Al despejar el cociente:

$$\frac{a_{V0}}{a_V} = 10^n \quad (41)$$

Por otra parte, el porcentaje de actividad remanente [ $a_{rem}(\%)$ ] se define como:

$$a_{rem}(\%) = \frac{a_V}{a_{V0}} 100 \quad (42)$$

Al sustituir la **Ecuación 41** en la **Ecuación 42** queda:

$$a_{rem}(\%) = (10^{-n})100 \quad (43)$$

Cuando el tiempo de tratamiento representa la letalidad del tratamiento se obtiene  $n$  de la siguiente manera (**Ecuación 44**):

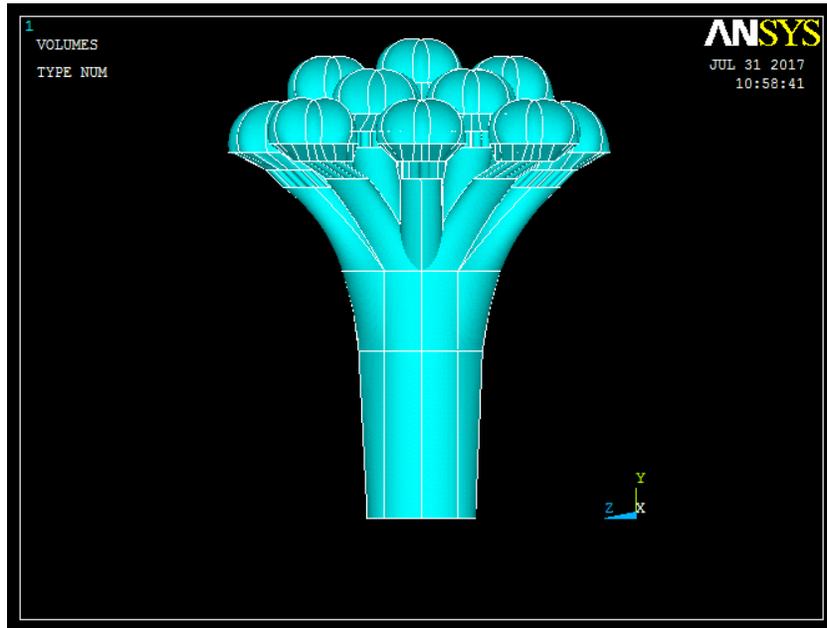
$$n = \frac{F_0}{D_T} \quad (44)$$

### **13 Simulación de la transferencia de calor en florete y cilindro de brócoli por el método de elemento finito.**

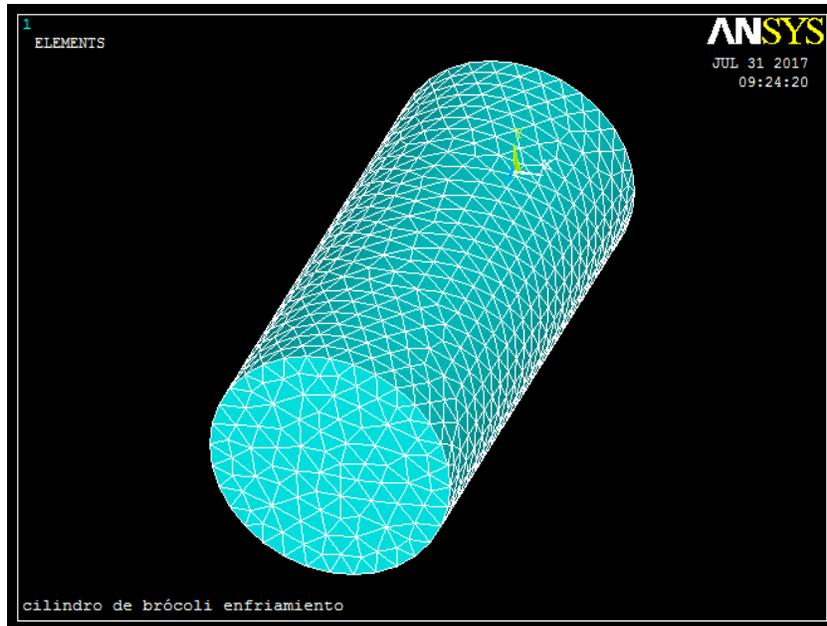
La simulación de la transferencia de calor del florete y cilindro de brócoli se realizó en el software ANSYS (ANSYS/ED, versión 14.0), con el fin de obtener las historias de

temperatura estimadas. Se consideró un modelo geométrico tridimensional de florete y cilindro de brócoli. Se ubicaron las coordenadas  $(x, y, z)$  donde fueron colocados los termopares en las muestras. Para el florete de brócoli se utilizó el modelo propuesto por Iribe-Salazar y col (2015). Se utilizó un elemento en forma de tetraedro de 10 nodos. Se empleó 0.001 m como tamaño de elemento para el tallo de mayor diámetro y 0.0005 m para los tallos de menor tamaño (**Figura 14**). Para simular la transferencia de calor por conducción en el interior del florete se introdujeron las propiedades termofísicas para tallo e inflorescencia, las cuales dependen de la temperatura. Los datos utilizados de  $k$ ,  $C_p$  y  $\rho$  se muestran en el **Cuadro 5** (Iribe-Salazar y col 2015). Se utilizó un coeficiente convectivo de transferencia de calor para escaldado de  $1011 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  en todas las zonas externas del tallo,  $500 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  para las zonas externas entre tallos y para el hidrogenfriado  $468 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  en todas las zonas externas y  $280 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  para las zonas externas entre tallos. Se indicó las propiedades del sistema: temperatura del fluido ( $T_\infty$ ) de  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  para escaldado,  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  para el hidrogenfriado y temperatura inicial del florete de brócoli ( $T_0$ ) de  $18.4 \text{ }^\circ\text{C}$ . Estos valores fueron aplicados en todos los nodos del sistema.

Para el cilindro de brócoli se utilizó un elemento en forma de tetraedro de 10 nodos (Tet de 10 nodos). Se construyó un cilindro con dimensiones de 10 mm de diámetro por 22 mm de profundidad. Se empleó 0.001 m como tamaño de elemento (**Figura 15**). Para simular la transferencia de calor por conducción en el interior del cilindro se introdujeron las propiedades termofísicas para el tallo, las cuales dependen de la temperatura. Los datos utilizados de  $k$ ,  $C_p$  y  $\rho$  se muestran en el **Cuadro 5**. Se utilizaron los coeficientes convectivos de transferencia de calor para escaldado e hidrogenfriado obtenidos de la



**Figura 14.** Modelo tridimensional del florete de brócoli.



**Figura 15.** Modelo tridimensional del cilindro de brócoli.

manera descrita en el apartado 9 de esta sección, para todas las zonas externas del cilindro. Se indicó las propiedades del sistema: temperatura del fluido ( $T_{\infty}$ ) de 80 °C para escaldado, 8 °C para el hidrogenfriado y temperatura inicial del florete de brócoli ( $T_0$ ) de 18.4 °C. Estos valores fueron aplicados en todos los nodos del sistema.

Para ambos casos, se registró la temperatura cada segundo con un registrador de temperatura (Data Acquisition System modelo OMB-DAQ-56 de Omega Company, EUA). Las coordenadas de los nodos de interés para el florete y el cilindro de brócoli fueron de 0, 0.025, 0.025 m y 0, 0, 0.011 m, respectivamente.

#### **14 Validación de los parámetros termocinéticos $D_T$ y $z$ .**

La validación de los parámetros termocinéticos se realizó al comparar la actividad remanente de Peroxidasa predicha con las historias de temperatura experimentales, la actividad remanente de Peroxidasa predicha con la historia de temperatura estimada con el método de elemento finito y la actividad enzimática determinada experimentalmente. Esto fue realizado para el cilindro y el florete de brócoli. Además, se utilizaron los datos experimentales reportados por Iribe-Salazar y col (2015) para las condiciones de escaldado de 90 °C por 3 min seguido de un enfriamiento a 8 °C.

#### **15 Diseño experimental.**

Para los parámetros termocinéticos se utilizó un diseño completamente al azar con los factores tiempo de escaldado (1.5, 2, 2.5, 3 y 3.5 min) y temperatura (50, 55, 60, 65 y 70 °C). Las respuestas fueron la actividad remanente ( $a_{rem}$ ) de la Peroxidasa y el  $D_T$ . En la validación de los parámetros termocinéticos se utilizaron dos diseños completamente al azar; para cilindros (80 °C, 2 min) y floretes (80 °C, 2 min) de brócoli, en cada uno, el

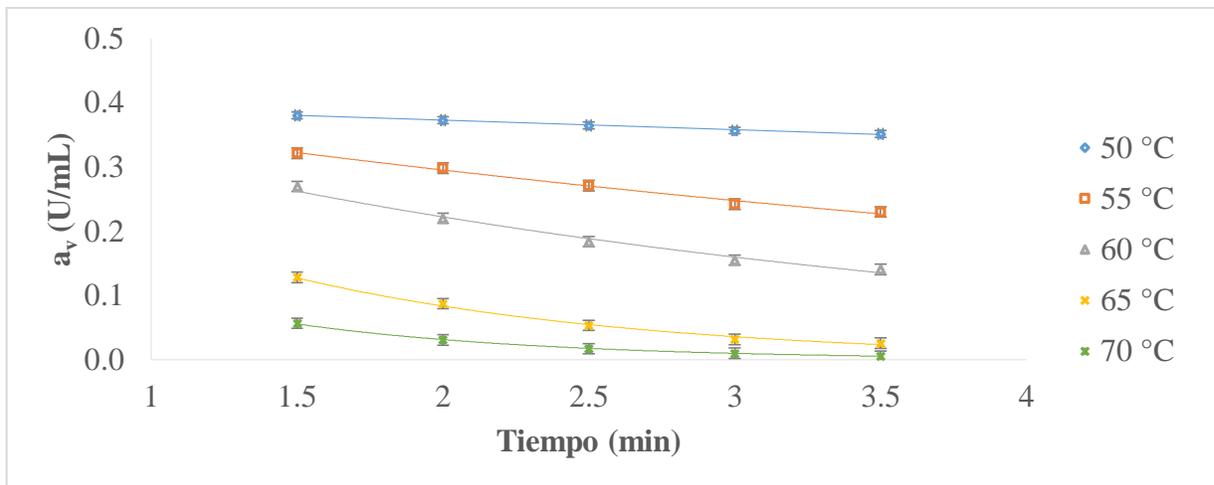
factor fue el método de determinación de la actividad remanente de la Peroxidasa con tres niveles (predicción con la historia de temperatura experimental, predicción con la historia de temperatura estimada con el método del elemento finito y experimental) y la respuesta fue la  $a_{rem}$  de la Peroxidasa. La comparación de medias se realizó con la prueba de Fisher ( $n = 3, \alpha = 0.05$ ) (Montgomery 1991), con el programa STATGRAPHICS PLUS 6.0.

## VII RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A PARÁMETROS TERMOCINÉTICOS

#### 1 Actividad enzimática de la Peroxidasa

La actividad enzimática inicial (extracto sin tratamiento) fue de  $0.41 \pm 0.01 \text{ U mL}^{-1}$ , que es superior a la reportada por Morales-Blancas y col (2002), de  $0.328 \pm 0.07 \text{ U mL}^{-1}$ , y a lo reportado por Iribe-Salazar y col (2015), de  $0.312 \text{ U mL}^{-1}$ . En la **Figura 16** se presenta el gráfico de la actividad volumétrica de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura y el tiempo de escaldado. En él se puede apreciar que al momento de aumentar la temperatura de escaldado la pendiente se vuelve más pronunciada. De igual manera, al momento de aumentar el tiempo de escaldado, la actividad volumétrica de la enzima Peroxidasa disminuye de manera exponencial. La actividad volumétrica estuvo entre  $0.38$  y  $0.006 \text{ U mL}^{-1}$  para los tratamientos de  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $1.5 \text{ min}$  y  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $3.5 \text{ min}$ , respectivamente. Estos tratamientos fueron los límites mínimo y máximo respectivamente utilizados para el presente estudio. Sin embargo, para la temperatura de  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  se observa que la pendiente no es muy pronunciada, debido a que esta temperatura no es lo suficientemente alta como para observar cambios en los tiempos utilizados en el presente estudio. A temperaturas mayores de  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  el grupo hemo de la enzima Peroxidasa, que se encarga del transporte de los electrones al momento de la degradación del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) se separa de la matriz proteínica de manera total eliminando de esta manera la actividad enzimática. A medida que el tratamiento se va haciendo más severo, la actividad enzimática va disminuyendo de manera exponencial. A temperaturas mayores a los  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  la actividad remanente de la Peroxidasa se hace pequeña y en un tiempo corto, los



**Figura 16.** Actividad volumétrica de la enzima Peroxidasa en función del tiempo de escaldado y temperatura (LSD = 0.016 U mL<sup>-1</sup>,  $\alpha = 0.05$ ).

cambios de absorbancia no pueden ser apreciados con facilidad, aumentando de esta manera la variabilidad en las mediciones (Zambrano y col 2011).

Ganjloo y col (2011) y Fortea y col (2009) encontraron para enzima Peroxidasa en guayaba sin semilla y uva, respectivamente, la misma tendencia de la actividad enzimática en función de la temperatura de tratamiento y el tiempo de exposición. Sin embargo, estos autores emplearon temperaturas mayores a las utilizadas en el presente estudio. Dichos autores aplicaron temperaturas de trabajo de 80 a 95 °C y 60 a 80 °C, respectivamente. Esto puede ser debido a dos motivos: el primero de ellos es que como son especies de frutos diferentes a la trabajada en el presente estudio, las enzimas pueden tener una diferente conformación tridimensional, como también diferente estructura molecular, lo que la hace más termoresistente; el segundo motivo es la metodología utilizada para la preparación de la muestra previa al tratamiento térmico. Los autores reportan que el tratamiento fue aplicado previo a la extracción de la enzima, a diferencia del presente estudio, donde el primer paso fue extraer la enzima Peroxidasa y posteriormente se aplicó el tratamiento térmico. La presencia de la matriz orgánica en la que está la enzima puede impactar la magnitud de la resistencia térmica, reflejándose en la actividad remanente de la Peroxidasa.

Ahmed y col (2010) encontraron, de igual forma, el mismo comportamiento en la disminución de la actividad enzimática con respecto a la temperatura y al tiempo de tratamiento en extractos de florete de coliflor. Estos autores aplicaron un intervalo de 50 a 95 °C y a esta última temperatura aún encontraron una pequeña actividad remanente. Esto puede ser debido a que la especie de hortaliza es diferente (coliflor), lo que puede modificar la morfología y la estructura química de las enzimas, y a la metodología utilizada para la extracción de las enzimas. Los autores reportan que la extracción fue realizada solamente

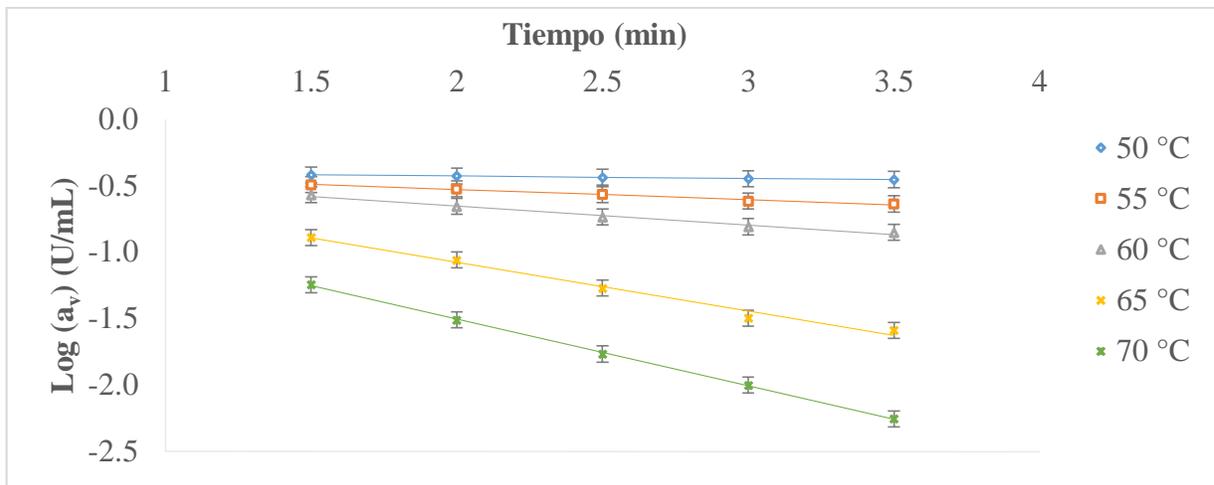
con una solución buffer de fosfato y una serie de filtraciones y centrifugaciones, esto no asegura la pureza de las enzimas, lo que provoca que los demás componentes que se encuentran en el extracto funcionen como una resistencia térmica.

## 2 Tiempo de reducción decimal ( $D_T$ )

En la **Figura 17** se muestra el logaritmo de la actividad volumétrica de la enzima Peroxidasa en función del tiempo y la temperatura de escaldado. En ella se observa que al aumentar la temperatura de escaldado, la pendiente del logaritmo de la actividad volumétrica va incrementando de  $-0.018$  a  $-0.50 \text{ U mL}^{-1} \text{ min}^{-1}$  para temperaturas de  $50$  y  $70$  °C, respectivamente ( $R^2 > 0.94$ ). Cuando el tiempo de escaldado va en aumento, el logaritmo de la actividad volumétrica va disminuyendo de manera lineal, observándose el comportamiento exponencial del fenómeno con respecto a este factor.

A partir de las pendientes de los gráficos presentados en la **Figura 17**, fue posible determinar el tiempo de reducción decimal ( $D_T$ ) para cada una de las temperaturas trabajadas en el presente estudio. En el **Cuadro 6** se presenta el tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa, teniendo como factor la temperatura de escaldado. En ella se puede observar que el intervalo de tiempo de reducción decimal fue de  $57.0$  a  $2.00$  min para las temperaturas de  $50$  y  $70$  °C, respectivamente.

Se puede observar que al igual que la actividad volumétrica, al momento de aumentar la severidad del proceso, en este caso al aumentar la temperatura, disminuye el tiempo necesario para reducir en un  $90$  % la actividad volumétrica. Al poseer la característica de ser exponencial, este efecto provoca que al aumentar de  $50$  a  $70$  °C el tiempo de reducción decimal disminuye de  $57$  a  $2$  min.



**Figura 17.** Logaritmo de la actividad volumétrica de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura y tiempo de tratamiento. (LSD = 0.12 U mL<sup>-1</sup>,  $\alpha = 0.05$ ).

**Cuadro 6.** Tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura.

<i>T</i> (°C)	<i>D<sub>T</sub></i> (min)
50	57.0 <sup>a</sup>
55	13.2 <sup>b</sup>
60	6.64 <sup>c</sup>
65	2.73 <sup>c</sup>
70	2.00 <sup>c</sup>

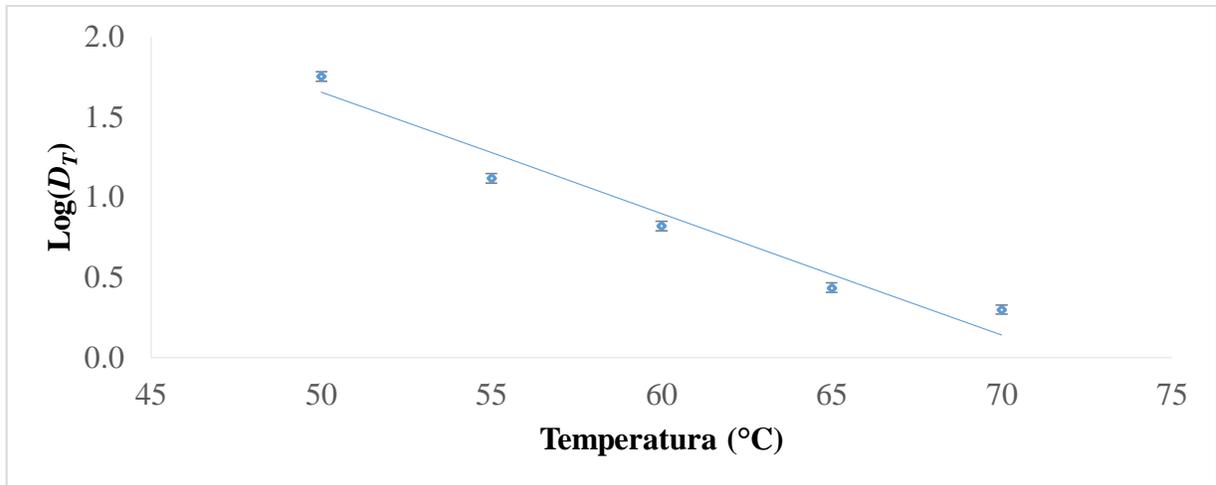
(LSD = 5.20 min,  $\alpha = 0.05$ ).

Morales-Blancas y col (2002) reportaron para brócoli tiempos de reducción decimal de 16, 10.7, 5.65 y 3.96 min para temperaturas de 70, 80, 90 y 95 °C, respectivamente. A 70 °C, la diferencia (16 min contra 2 min) puede atribuirse a la metodología utilizada para ambos casos. Los autores reportan que la extracción de la enzima se realizó de forma diferente a lo presentado en este estudio, obteniendo una mezcla de enzimas y otros componentes solubles en el buffer de pH 6.5, lo que funciona como un efecto protector para la Peroxidasa.

### **3 Constante de resistencia térmica ( $z$ )**

En la **Figura 18** se presenta el logaritmo del tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura de escaldado. Al aumentar la temperatura de escaldado, el logaritmo del tiempo de reducción decimal va decreciendo de manera lineal, mostrando el comportamiento exponencial del factor temperatura de escaldado sobre el tiempo de reducción decimal. A partir de una regresión lineal aplicada a los datos que aparecen en la **Figura 18** se obtuvo la constante de resistencia térmica, la cual fue de  $13.9 \pm 0.28$  °C.

Adams y col (1991) proponen para enzimas, en general, un intervalo para constante de resistencia térmica ( $z$ ) de 10 a 50 °C. El valor encontrado en el presente estudio se encuentra dentro del intervalo, teniendo una diferencia de 3.9 °C por encima del valor inferior. Además, entre más pequeña sea la constante de resistencia térmica, la enzima es más termorresistente.



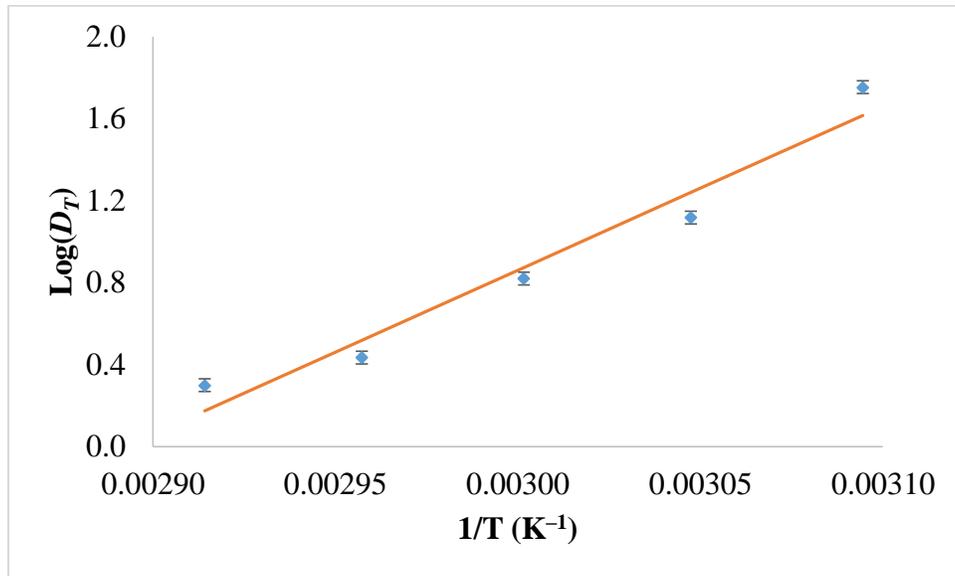
**Figura 18.** Logaritmo del tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa en función de la temperatura (LSD = 0.06,  $\alpha = 0.05$ ).

Toledo y col (2007) reportaron para Peroxidasa en hortalizas, en general, constante de resistencia térmica promedio de 28 °C. La diferencia entre este valor y el presentado puede deberse a la gran diversidad de valores de constante de resistencia térmica presentes en las hortalizas. Además, las metodologías utilizadas para la determinación son distintas entre sí.

Morales-Blancas y col (2002) reportan para la enzima Peroxidasa en brócoli, una constante de resistencia térmica de 41 °C, siendo muy diferente a lo encontrado en el presente estudio. Esto es debido a la metodología utilizada por los autores, como se mencionó anteriormente. En dicha investigación se aplicó un tratamiento térmico previo a la extracción de la enzima, influyendo el material orgánico en la transferencia de calor. Sin embargo, el valor de  $z$  publicado por estos autores, resultó ser mayor al del presente estudio, esto puede ser debido a que trabajaron con temperaturas mayores a los 70 °C, provocando que la pendiente entre los puntos fuese menor. Sin embargo, Ahmed y col (2011) reportan para coliflor, constante de resistencia térmica de 15.3 °C, siendo muy similar a lo encontrado en el presente estudio.

## **B ENERGÍA DE ACTIVACIÓN ( $E_a$ ) Y FACTOR DE FRECUENCIA ( $A$ )**

A partir de la pendiente obtenida de la regresión lineal de  $\text{Log}(D_T)$  contra  $1/T$  (**Figura 19**), de acuerdo con la **Ecuación 27**, se calculó la energía de activación ( $E_a$ ), la cual fue de  $153 \pm 3.1 \text{ kJ mol}^{-1}$  y el factor de frecuencia o pre-exponencial fue de  $3.15 \times 10^{23} \text{ min}^{-1}$ . Este valor de  $E_a$  indica una alta dependencia de la constante con respecto a la temperatura.



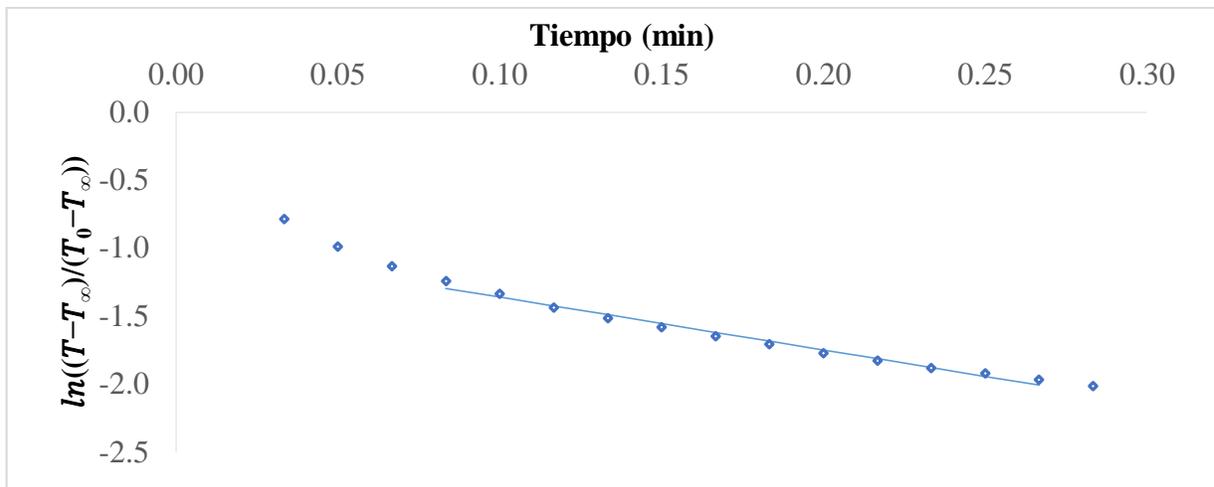
**Figura 19.** Logaritmo del tiempo de reducción decimal de la enzima Peroxidasa en función del recíproco de la temperatura (LSD = 0.06,  $\alpha = 0.05$ ).

Existen distintos valores de energía de activación reportados en la bibliografía para la Peroxidasa en general. Ganthavorn y col (1991) publicaron, para los espárragos,  $140 \text{ kJ mol}^{-1}$ , Regaldo y col (1999), para coles de Bruselas encontraron  $172 \text{ kJ mol}^{-1}$  y Thongsook y Barrett (2005) para extractos ácidos, neutros y básicos de brócoli, valores de 388, 189 y  $269 \text{ kJ mol}^{-1}$ , respectivamente. De igual manera, Ahmed y col (2011) encontraron un valor de energía de activación para la Peroxidasa en coliflor de  $156 \text{ kJ mol}^{-1}$ , el cual fue el valor que más se aproximó al reportado en el presente estudio.

## **C COEFICIENTE CONVECTIVO DE TRANSFERENCIA DE CALOR**

### **1 Coeficiente convectivo de transferencia de calor ( $h$ ) para cilindros de brócoli**

En la **Figura 20** se muestra el gráfico de la Fracción de Temperatura No Alcanzada (FTNA) en función del tiempo utilizado para determinar el coeficiente convectivo de transferencia de calor durante el proceso de escaldado para los cilindros de brócoli. El coeficiente convectivo fue de  $326 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$ . Este valor concuerda con lo reportado en la bibliografía. Hubbard y Farkas (1999) encontraron para cilindros de frituras elaboradas a partir de papas por inmersión un coeficiente convectivo de  $300 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$ . Para la etapa de hidrogenfriado se encontró un coeficiente convectivo de  $270 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  para cilindros de brócoli el cual fue inferior a lo reportado por Iribe-Salazar y col (2015), reportando para floretes de brócoli un valor de  $468 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$  en la fase de hidrogenfriado.



**Figura 20.** Gráfico de fracción de temperatura no alcanzada contra tiempo durante el proceso de escaldado de cilindros de brócoli (80 °C por 2 min.).

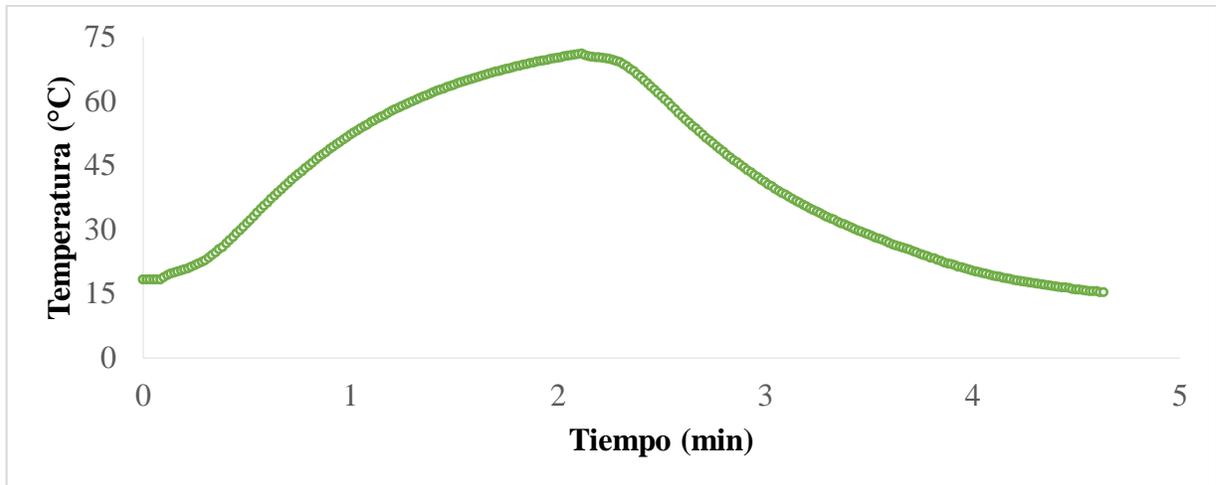
## **D HISTORIA DE TEMPERATURA**

### **1 Historia de temperatura de cilindros de brócoli**

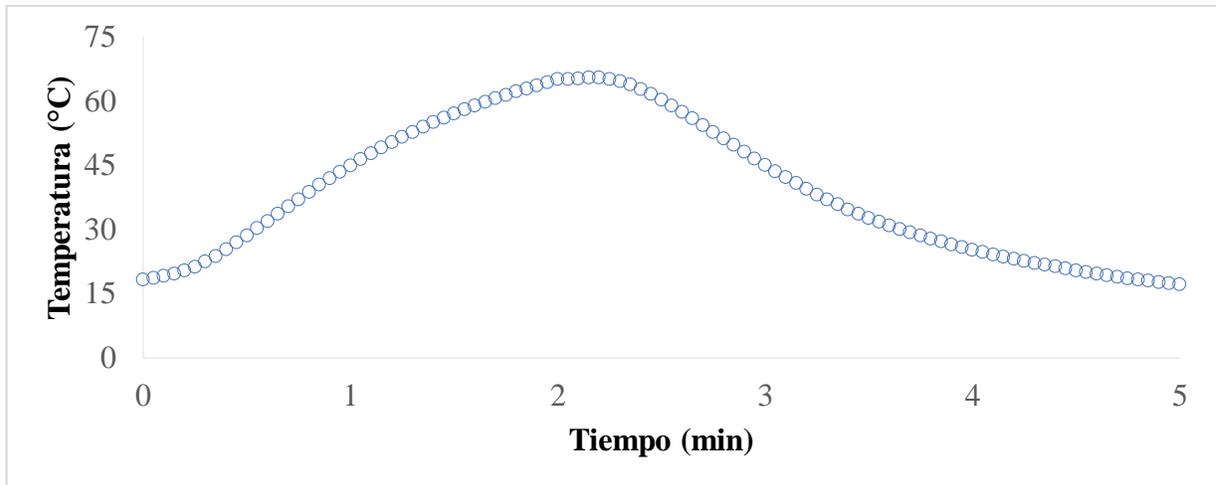
En la **Figura 21** se presenta el gráfico de la historia de temperatura del cilindro de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C hasta llegar a la temperatura inicial a los 4.2 min. La temperatura inicial del proceso fue de 18.4 °C y la temperatura máxima alcanzada en este proceso fue de 71.1 °C, la cual se alcanzó a los 2.1 min después de iniciado el proceso de calentamiento. La temperatura máxima no concuerda con el tiempo de calentamiento, debido que aunque ya no esté presente el calor del medio, el sentido del flux de calor es hacia el punto crítico, tardando tiempo en cambiar de dirección.

### **2 Historia de temperatura del florete de brócoli**

En la **Figura 22** se presenta el gráfico de historia de temperatura para el escaldado del florete de brócoli a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C por 3 min. En él se puede observar que la temperatura máxima alcanzada en el punto crítico del brócoli fue de 65.5 °C. La temperatura alcanzada fue mayor en el cilindro de brócoli comparado con el florete, debido a las dimensiones de la muestra, al ser más pequeño el cilindro, permite que en el punto crítico eleve su temperatura con mayor rapidez.



**Figura 21.** Historia de temperatura experimental de cilindros de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C por 2.5 min.



**Figura 22.** Historia de temperatura experimental de floretes de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C por 3 min.

## **E EFECTO LETAL**

### **1 Efecto letal en cilindro de brócoli**

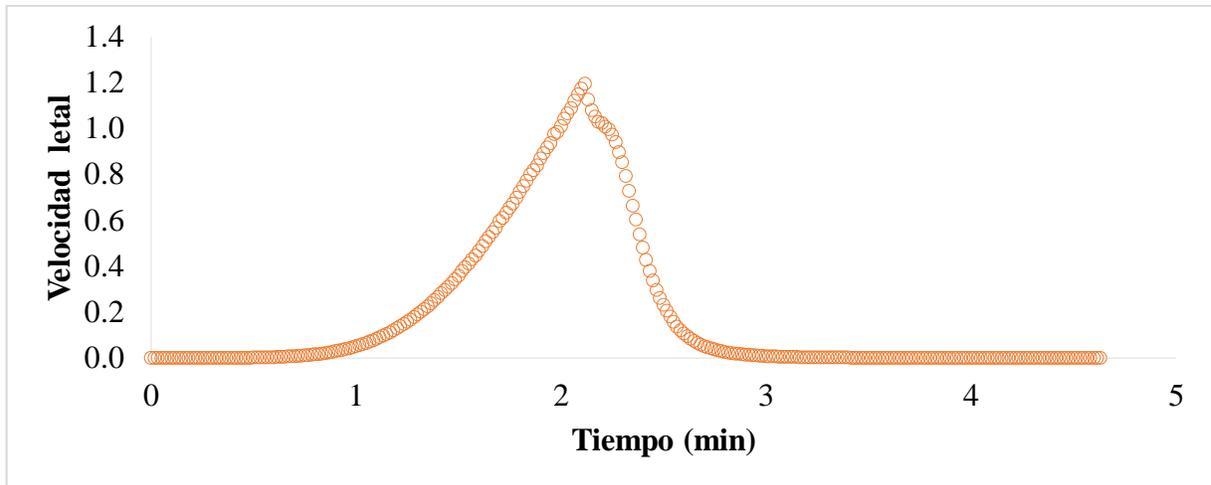
En la **Figura 23** se muestra el gráfico de la velocidad letal del cilindro de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C. Para el cilindro de brócoli, se encontró una letalidad ( $F_0$ ) o área total bajo la curva de  $0.88 \pm 0.04$  min letales, lo que indica que al elegir como referencia el tiempo de reducción decimal a 70 °C, el cual es 2 min, el número de reducciones decimales fue  $0.44 \pm 0.02$ , lo que predice una actividad remanente de  $36.3 \pm 1.9$  %.

### **2 Efecto letal en florete de brócoli**

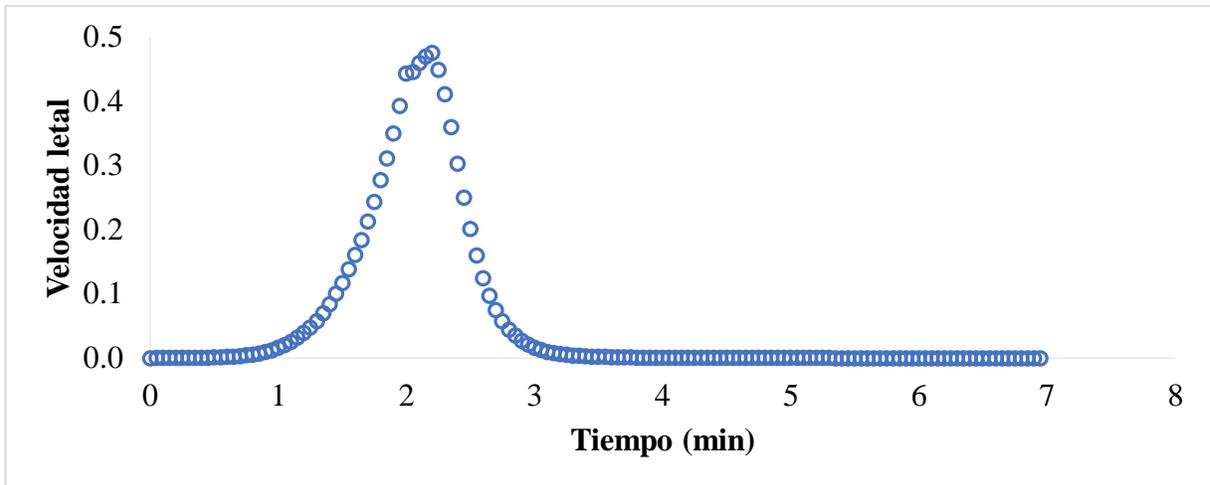
En la **Figura 24** se muestra la velocidad letal ejercida durante el escaldado a 80 °C por 2 min seguido de hidrogenfriado a 8 °C para floretes de brócoli. El valor más alto de velocidad (0.47) se presentó a los 2.2 min. Este tiempo coincide con la temperatura más alta alcanzada en el punto crítico en el calentamiento.

En el caso de los floretes de brócoli, se encontró una letalidad ( $F_0$ ) o área total bajo la curva de  $0.40 \pm 0.01$  min, lo que indica que si se elige como referencia el tiempo de reducción decimal a 70 °C, que es 2 min, el número de reducciones decimales fue  $0.2 \pm 0.005$ , lo que predice una actividad remanente de  $63.1 \pm 0.73$  %.

Se puede observar que el proceso ejerció un mayor efecto letal sobre la actividad enzimática en el cilindro de brócoli, debido a que la distancia entre el medio de calentamiento y el punto frío es más corta en el cilindro de brócoli comparado con la que existe en el florete, permitiendo que el calor llegue más rápido.



**Figura 23.** Velocidad letal del cilindro de brócoli durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C.



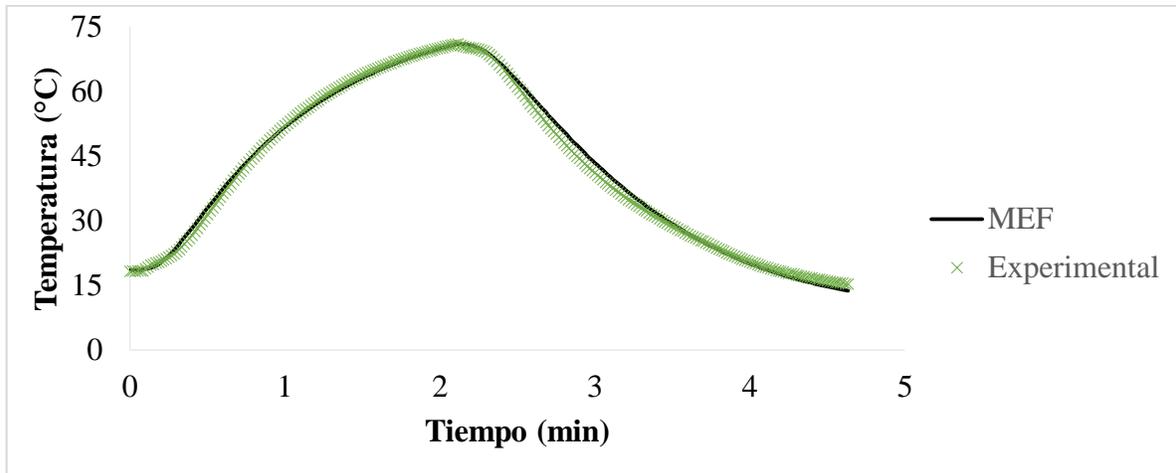
**Figura 24.** Velocidad letal durante el escaldado a 80 °C por 2 min e hidrogenfriado a 8 °C para el florete de brócoli.

## **F SIMULACIÓN DE LA TRANSFERENCIA DE CALOR**

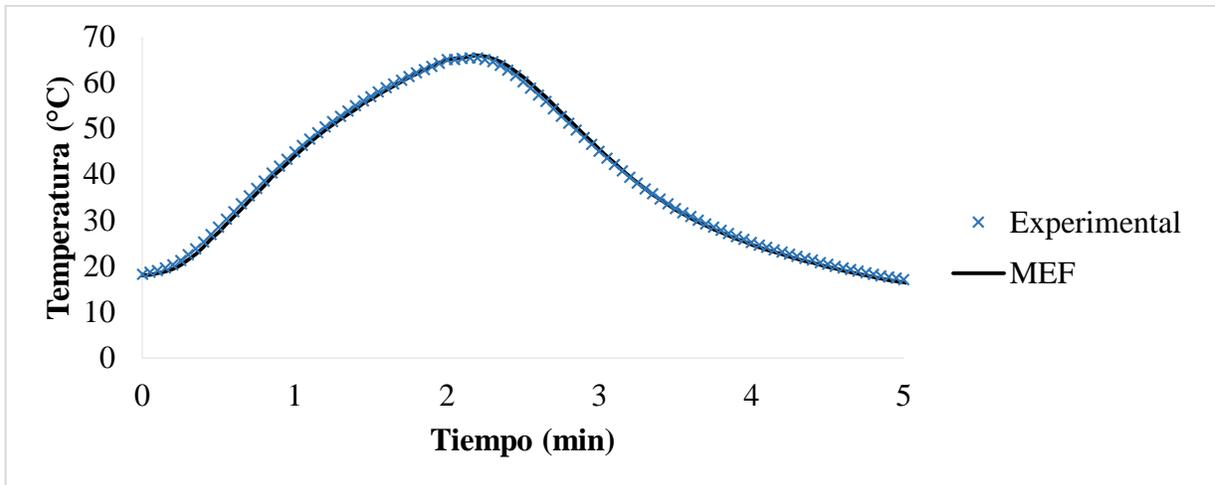
### **1 Análisis con el método de elemento finito**

En las **Figura 25** y **Figura 26** se presentan las historias de temperatura proporcionadas por el método de elemento finito para cilindros y floretes de brócoli, respectivamente. En ellas se muestra la superposición de los gráficos de las historias experimentales con las predicciones correspondientes. Se observa que las predicciones realizadas con elemento finito se ajustan de manera adecuada a los datos experimentales, tanto para el cilindro de brócoli, como para los floretes de brócoli. Por tal motivo, se puede afirmar que la simulación fue satisfactoria para ambos casos, dando seguridad al aplicar este método a geometrías irregulares para las cuales no existe solución analítica adecuada de la ecuación de Fourier.

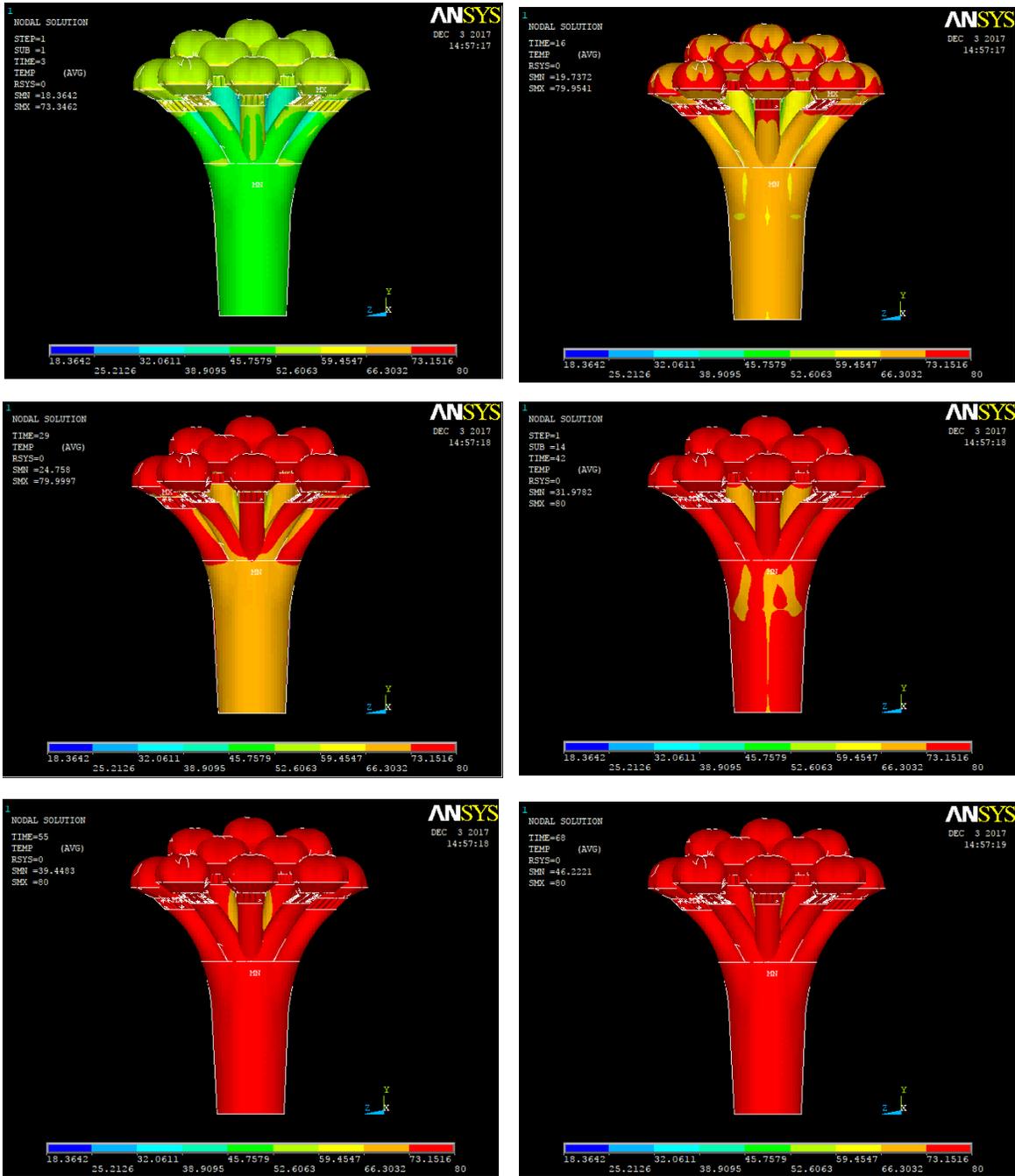
De igual manera, en la **Figura 27** se muestran los perfiles de temperatura de la etapa de calentamiento en la superficie del florete de brócoli, donde se puede apreciar que a los 68 segundos de haber iniciado el tratamiento, la temperatura de la superficie se aproxima a la temperatura del medio. En la **Figura 29** se presentan los perfiles de temperatura de la etapa de calentamiento en el interior del florete de brócoli, donde se puede observar que a 68 segundos de haber iniciado el tratamiento térmico, el punto crítico se encuentra aproximadamente a 45 °C, contrastando con la superficie que se encuentra a 73 °C. En la etapa de enfriamiento se puede observar el mismo comportamiento. A 202 segundos se puede observar (**Figura 28**) que la superficie del brócoli se encuentra a una temperatura cercana a los 8 °C, 30 °C menor a la que se encuentra en el punto crítico (**Figura 30**).



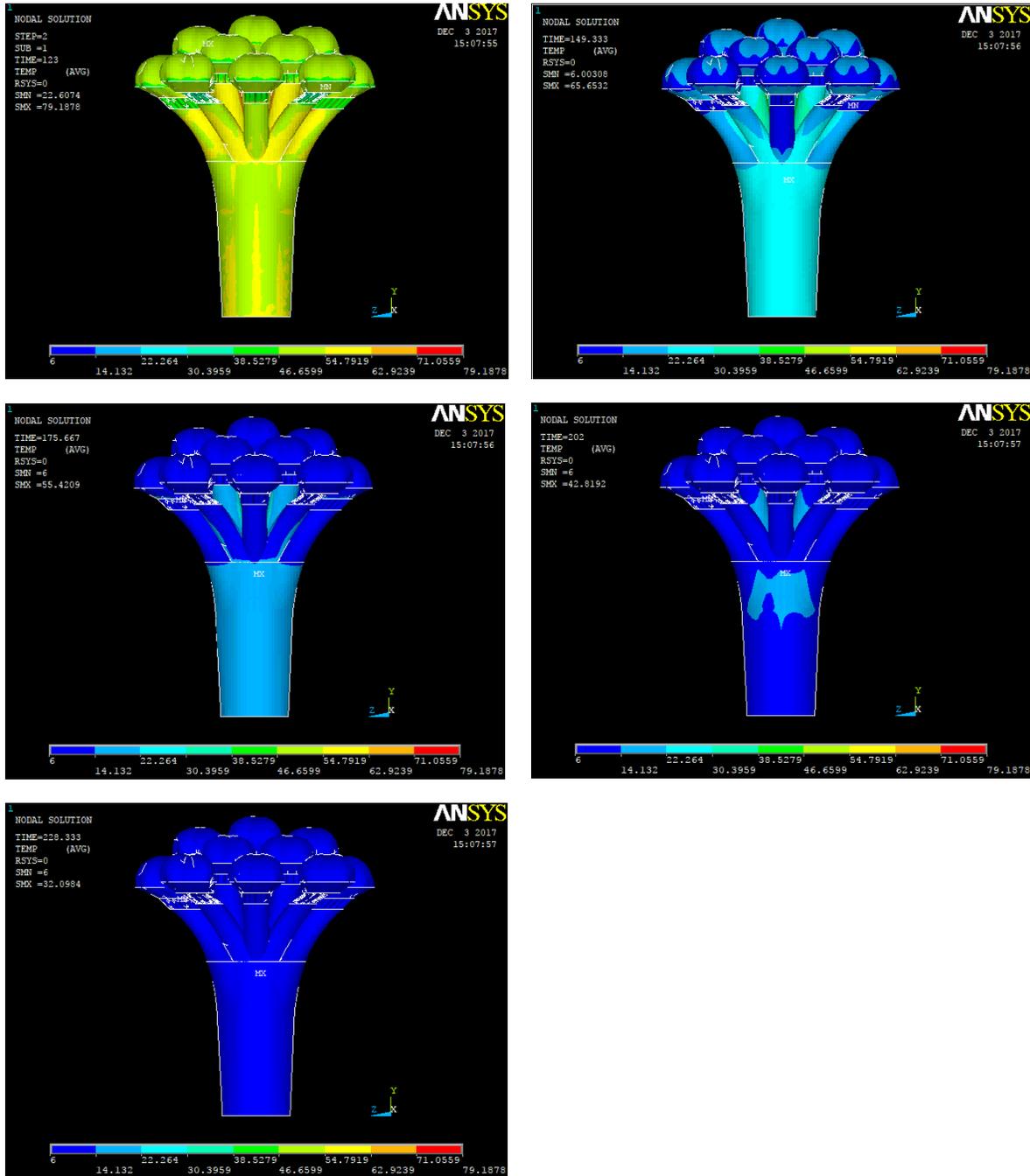
**Figura 25.** Historia de temperatura estimada del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



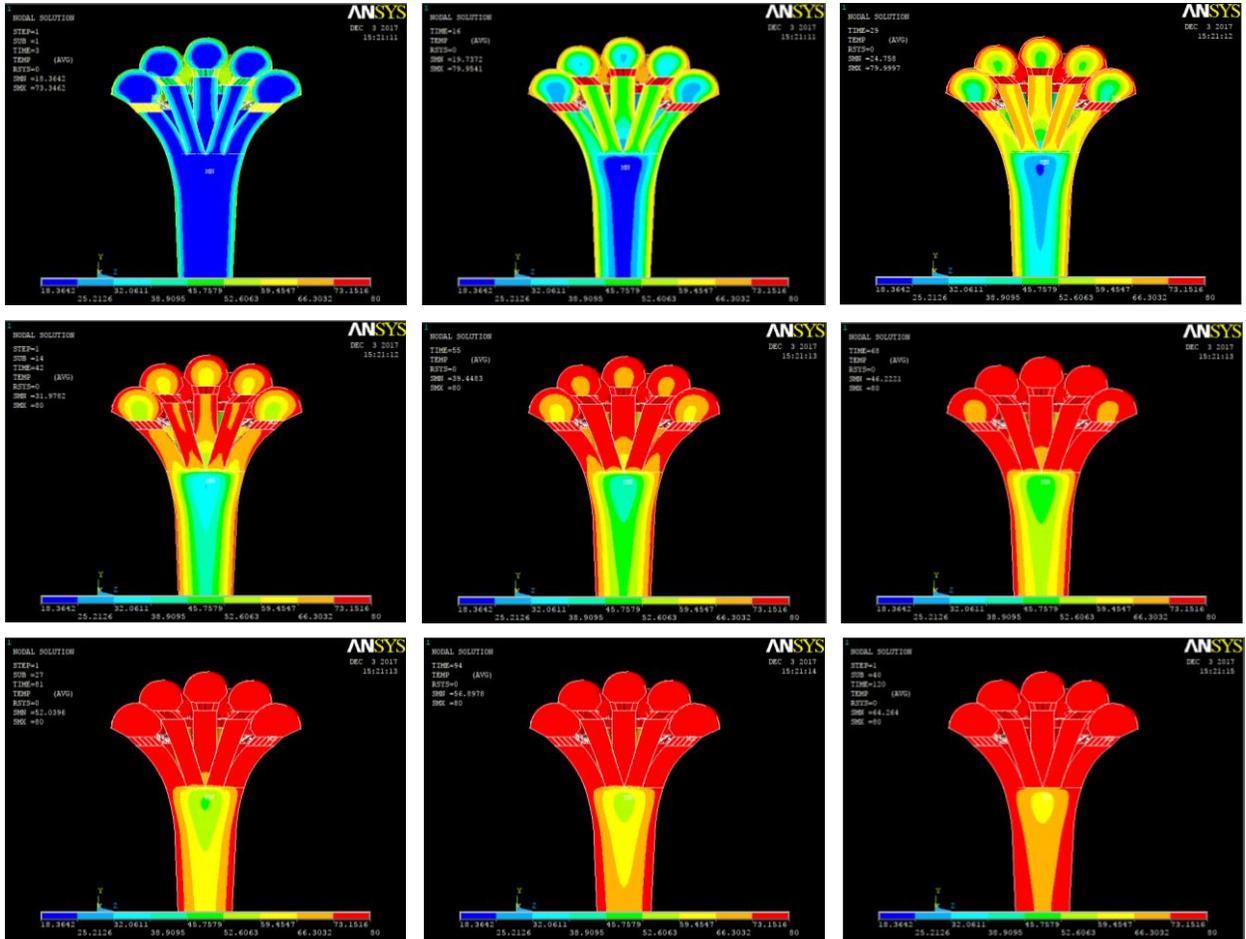
**Figura 26.** Historia de temperatura estimada de floretes de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



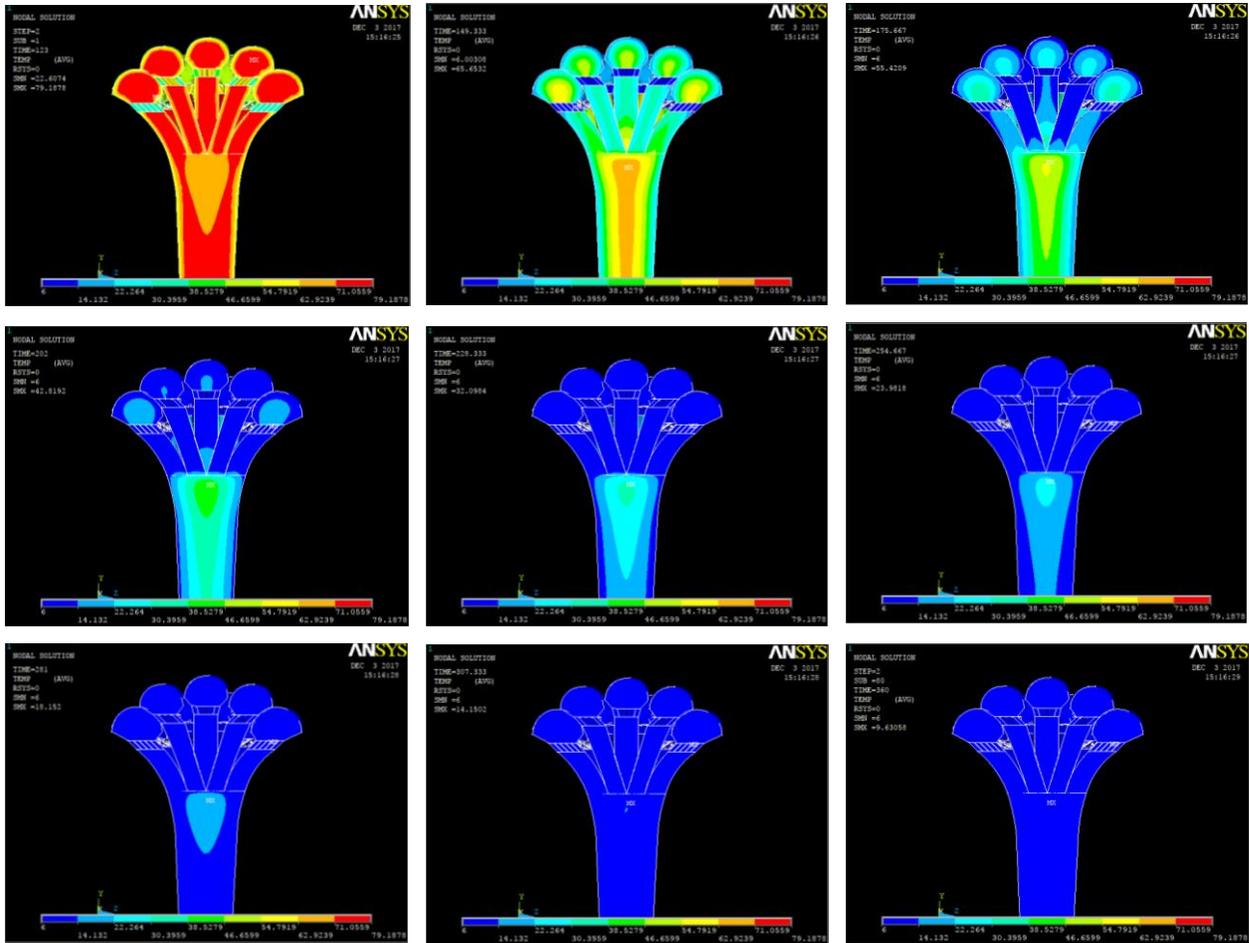
**Figura 27.** Perfil de temperatura en la etapa de calentamiento de la superficie del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



**Figura 28.** Perfil de temperatura en la etapa de enfriamiento de la superficie del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



**Figura 29.** Perfil de temperatura en la etapa de calentamiento en el interior del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



**Figura 30.** Perfil de temperatura en la etapa de enfriamiento en el interior del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).

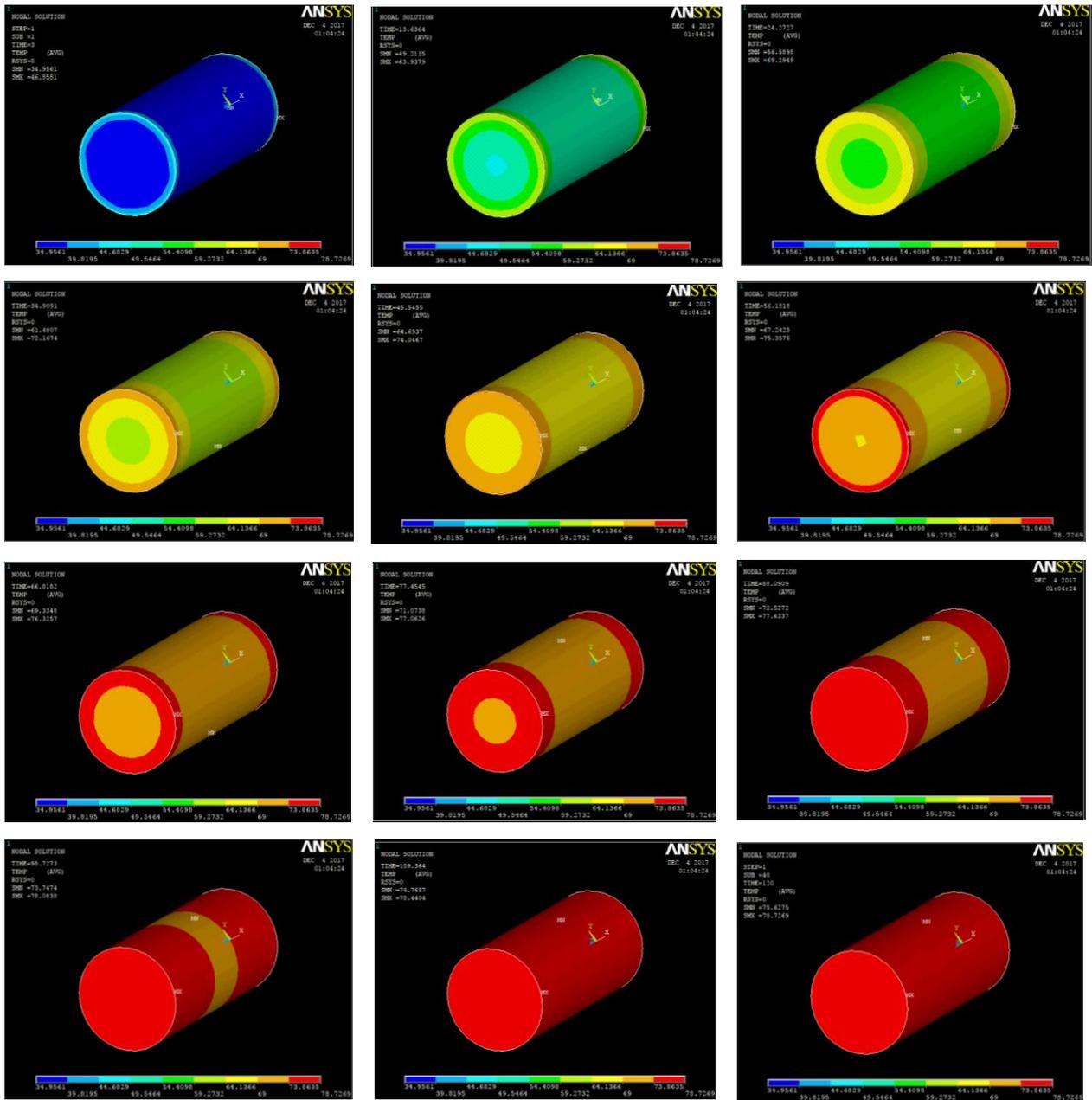
En la **Figura 31** y en la **Figura 32** se muestran los perfiles de temperatura en las etapas de calentamiento y enfriamiento del cilindro de brócoli, en los que se puede apreciar la gama de colores que va desde el rojo en los vértices del cilindro hacia el azul localizado en los vértices del mismo. El color rojo representa la temperatura mayor y el azul la temperatura menor. Se puede observar que la temperatura asciende con mayor velocidad en la parte más cercana a los vértices del cilindro y se extiende hacia el centro del mismo.

En las **Figura 33** y **Figura 34** se muestran los gráficos de la velocidad letal contra el tiempo para las historias de temperatura y las predicciones generadas con el método de elemento finito. Los datos mostrados en las **Figura 25** y **Figura 26** se utilizaron para construir dichos gráficos. A partir del área bajo la curva de dichos gráficos se pudo determinar la letalidad de los diferentes procesos. Se puede observar que en los puntos más altos de velocidad letal se refleja una perturbación, debido a la manipulación de las muestras al momento de cambiarlas de escaldado a hidrogenofriado. Esto se detecta tanto con el florete como con el cilindro de brócoli.

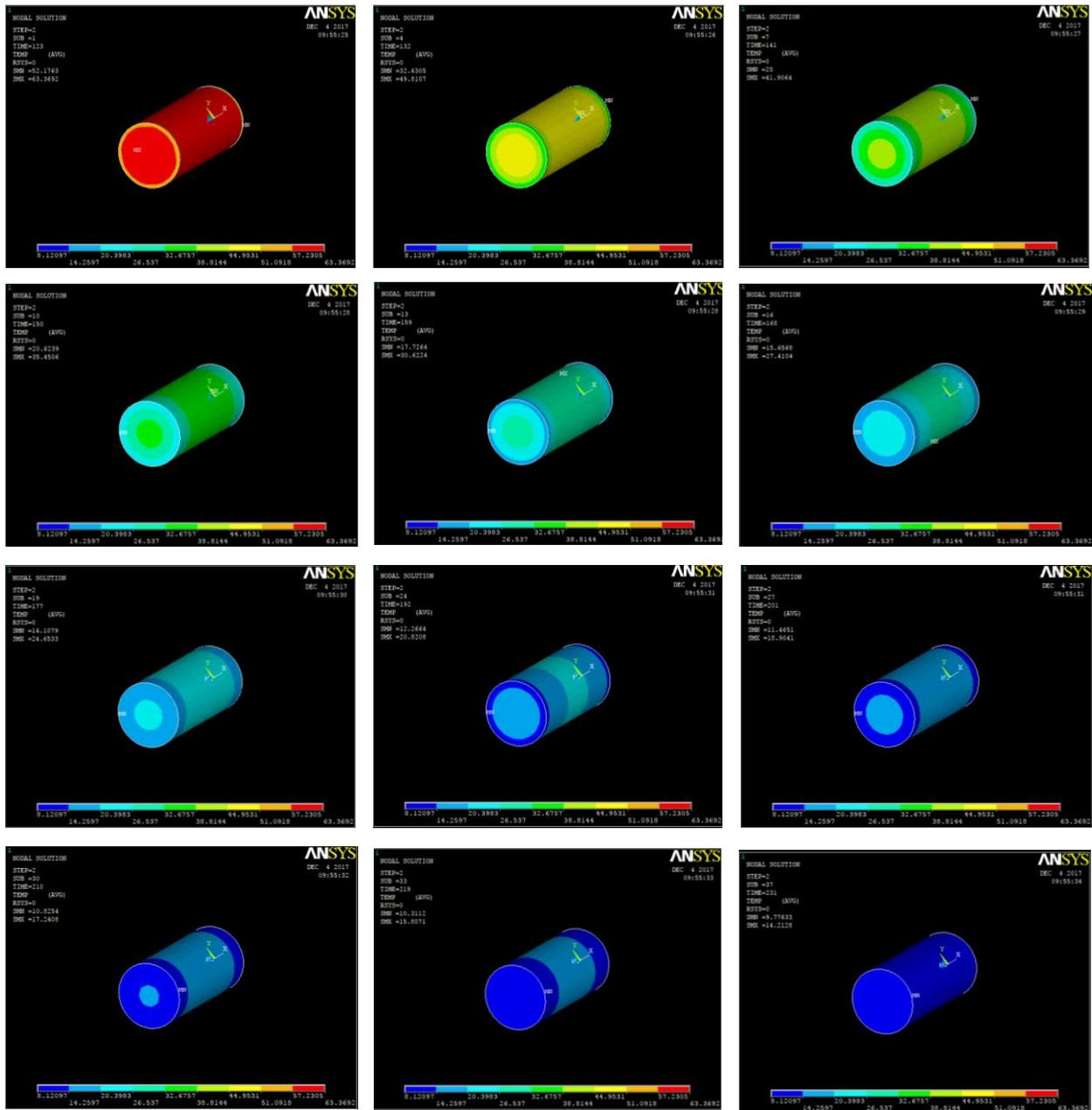
## **G VALIDACIÓN DE LOS PARÁMETROS TERMOCINÉTICOS**

En el **Cuadro 7** se muestra la actividad remanente para los distintos experimentos realizados. En la primera columna se muestran los resultados obtenidos para el tratamiento de floretes de brócoli reportados por Iribe-Salazar y col (2015). En ella se observa que la actividad remanente predicha en esta investigación con el elemento finito fue de 0.005 %, siendo muy similar a lo encontrado experimentalmente (0.008 %) por dichos autores. En la segunda columna del **Cuadro 7** se muestra la actividad remanente de la enzima Peroxidasa para cilindros de brócoli a condiciones de escaldado de 80 °C por 2 min obtenido con la

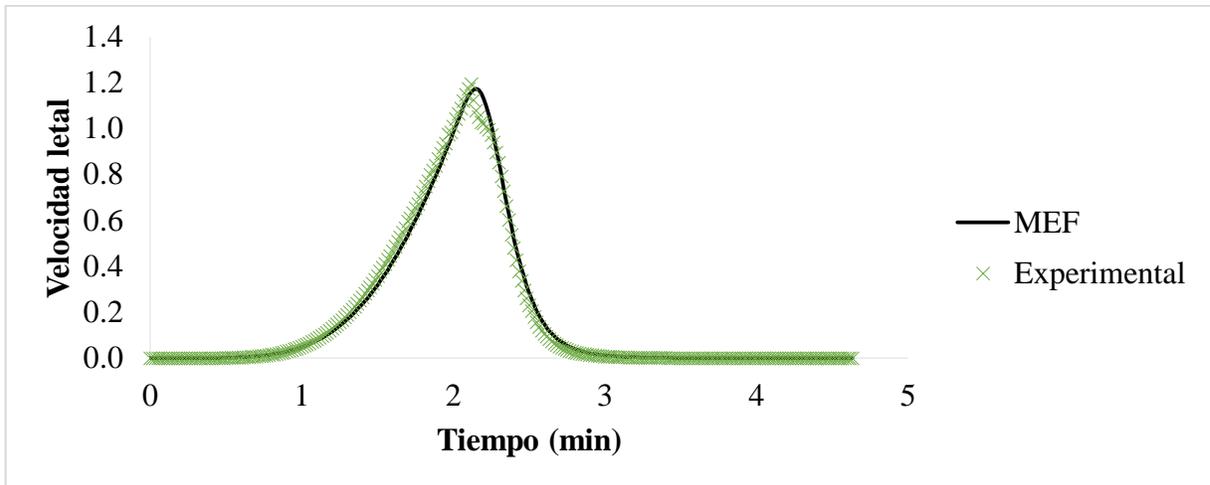




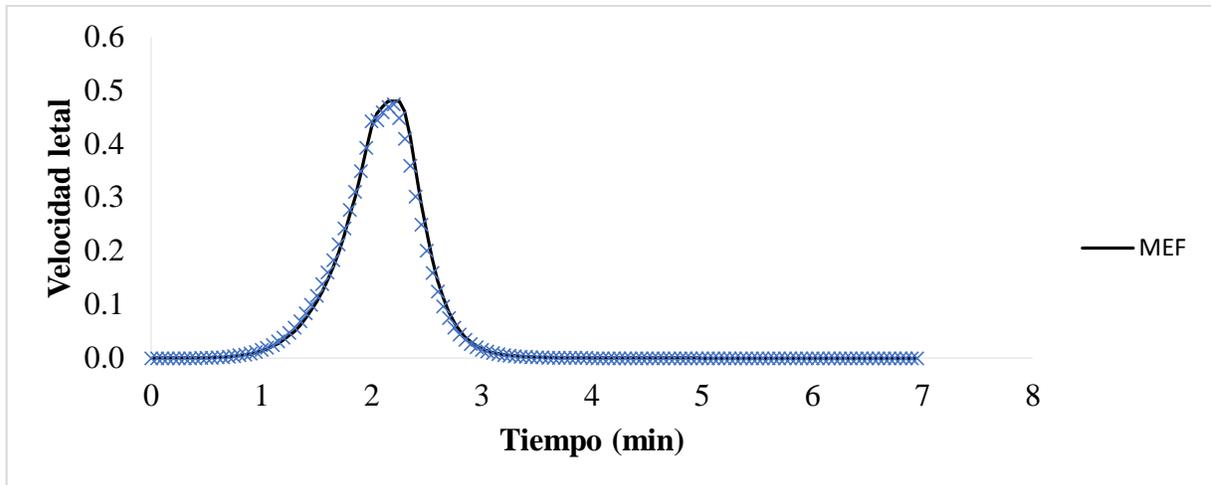
**Figura 31.** Perfil de temperatura en la etapa de calentamiento de la superficie del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



**Figura 32.** Perfil de temperatura en la etapa de enfriamiento de la superficie del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



**Figura 33.** Velocidad letal estimada del cilindro de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).



**Figura 34.** Velocidad letal estimada del florete de brócoli utilizando el método de elemento finito (MEF).

**Cuadro 7.** Actividad remanente de la enzima Peroxidasa en diferentes tratamientos.

<b>Método de obtención de la actividad remanente (%)</b>	<b>Florete de brócoli (90 °C, 3 min)</b>	<b>Cilindro de brócoli* (80 °C, 2 min)</b>	<b>Florete de brócoli** (80 °C, 2 min)</b>
<b>Historia de temperatura experimental</b>	–	36.3 <sup>a</sup>	63.1 <sup>a</sup>
<b>Método de elemento finito</b>	0.005	36.4 <sup>a</sup>	62.6 <sup>a</sup>
<b>Determinación experimental</b>	0.008	37.0 <sup>a</sup>	63.8 <sup>a</sup>

\* LSD = 5.8 %

\*\* LSD = 4.8 %

Nota: Letras diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ( $\alpha = 0.05$ ).

historia de temperatura experimental, historia de temperatura predicha con el método de elemento finito y de manera experimental. La actividad remanente obtenida con las historias de temperatura experimental y predicha mediante el método de elemento finito no muestra diferencia significativa con la encontrada de manera experimental. Los resultados fueron 36.3, 36.4 y 37.0 % de actividad remanente (LSD = 5.8 %), respectivamente.

De igual manera, para la validación por medio de floretes de brócoli escaldados a 80 °C por 2 min se encontró que la actividad remanente determinada a partir de la historia de temperatura experimental, historia de temperatura predicha con el método de elemento finito y de manera experimental fue de 63.1, 62.6 y 63.8 %, respectivamente. No se encontró diferencia significativa (LSD = 4.8 %,  $\alpha = 0.05$ ) entre ellos.

## VIII CONCLUSIONES

Los parámetros termocinéticos de la enzima Peroxidasa en brócoli fueron: tiempo de reducción decimal de 57.0, 13.2, 6.64, 2.73 y 2.00 min a 50, 55, 60, 65 y 70 °C, respectivamente, y constante de resistencia térmica de  $13.9 \pm 0.28$  °C.

La energía de activación para la enzima Peroxidasa en brócoli fue de  $153 \pm 3.1$  kJ mol<sup>-1</sup> y el factor de frecuencia o pre-exponencial fue de  $3.15 \times 10^{23}$  min<sup>-1</sup>.

En el escaldado (90 °C, 3 min) de floretes de brócoli, la diferencia entre la actividad enzimática remanente predicha usando historias de temperatura simuladas por el método de elemento finito y la reportada por Iribe-Salazar y col (2015) fue de 0.003 %.

En el escaldado de brócoli a 80 °C por 2 min, tanto en cilindros como en floretes, no hubo diferencia significativa entre las actividades enzimáticas remanentes predichas, usando historias de temperatura experimentales y simuladas por el método de elemento finito, respecto a la experimental.

Estas comparaciones permiten validar la robustez de los parámetros termocinéticos estimados, en distintos tratamientos y geometría de brócoli, por lo que se puede concluir que los parámetros termocinéticos reportados en el presente estudio son adecuados para la enzima Peroxidasa en brócoli.

## IX BIBLIOGRAFÍA

- Achondo J. 1991. Equipos utilizados en el proceso de escaldado. Curso: Aspectos relevantes en la congelación de productos hortofrutícolas. Fundación Chile. Santiago. 13p.
- Adams JB. 1991. Review: Enzyme inactivation during heat processing of food-stuffs. *International Journal of Food Science and Technology* 26(1): 1-20.
- Ahmed MM, Amal A, Adel AS, Zakarya AS. 2011. Thermal inactivation kinetics of quality-related enzymes in cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis). *European Food Research and Technology* 232:319–326.
- Aispuro-Coronel FJ. 2007. Cinética de la muerte térmica de la mosca mexicana de la fruta (*Anastrepha ludens* Loew), bajo un modelo de acumulación de tiempo letal en un proceso hidrotérmico de mango [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma de Sinaloa. FCQB-MCTA. 114 p.
- Altunkaya A, Gokmen V. 2008. Effect of various inhibitors on enzymatic browning, antioxidant activity and total phenol content of fresh lettuce (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry* 107: 1173- 1179.
- Anthon GE, Sekine Y, Watanabe N, Barrett DM. 2002. Thermal Inactivation of Pectin Methylesterase, Polygalacturonase, and Peroxidase in Tomato Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50:6153-6159.
- AVOCITRUS. 2017. Quality as tradition. España: AVOCITRUS. Disponible de: <https://avocitrus.eu/es/producto/brocoli/>. Consultado el 22 de julio del 2017.
- Barrett DM, Theerakulkait C. 1995. Quality indicators in blanched, frozen, stored vegetables. *Food Technology* 49(1):62-65.

- Brown KL, Ayres C. 1982. Thermobacteriology of UHT processed foods, In: Developments in Food Microbiology. 1<sup>a</sup> ed. London: Applied Science Publishers. pp. 119–152.
- Campusano AM. 1999. Evaluación del comportamiento agronómico de siete cultivares de brócoli (*Brassica oleracea* var. itálica Plenck) [Tesis de Licenciatura]. Chile: Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 64 p.
- Cantwell M, Suslow T. 2002. Broccoli: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. University of California: Cantwell M, Suslow T. Disponible en: [http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity\\_Resources/Fact\\_Sheets/Datastores/Vegetables\\_English/?uid=6&ds=799](http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/Datastores/Vegetables_English/?uid=6&ds=799). Consultado en: 3 Noviembre 2017.
- Caro-Corrales J, Cronin K, Abodayeh K, Gutiérrez-López G, Ordorica-Falomir C. 2002. Analysis of random variability in biscuit cooling. Journal of Food Engineering 54:147–56.
- Carslaw HS, Jaeger JC. 1959. Conduction of Heat in Solids. 2<sup>a</sup> ed. Nueva York: Oxford University Press. 520 p.
- Carvalho C, Zapata CP. 2014. Kinetic and Thermodynamic of Thermal Inactivation of the Peroxidase, Polyphenoloxidase and Inulinase Activities during Blanching of Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) Juice. Food Bioprocess Technol 7:3560-3568.
- Cengel YA. 2003. Transferencia de calor. 2<sup>a</sup> ed. México: Mc Graw Hill. 932 p.
- Chandia V. 2000. Modelo Bifásico para la determinación de los Parámetros Termocinéticos de la Desactivación de las Enzimas Peroxidasa y Lipoxigenasa en Zanahoria (*Daucus carota*), Brócoli (*Brassica oleracea* cultivar itálica) sometidos a diversos

- tratamientos de escaldado[Tesis de Licenciatura] Chile: Universidad Austral de Chile. 98p.
- Costa ML, Civello PM, Chaves AR, Martínez GA. 2005. Effect of hot air treatments on senescence and quality parameters of harvested broccoli (*Brassica oleracea* L. var itálica) heads. *Journal of the Science and Food Agriculture* 85: 1154-1160.
- Crank J. 1975. *The Mathematics of Diffusion*. 2a ed. 9ª reimpresión 1995. Oxford: Clarendon Press. 347 p.
- Ediriweera N, Akiyama Y, Saio K. 1987. Inactivation of lipoxygenase in soybeans with retention of protein solubility. *Journal of Food Science* 52(3):685-690.
- FAOSTAT. 2017. Base de datos estadísticos de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Disponible en <http://www.fao.org>.
- Fennema O. 2006. *Química de los alimentos*. 2ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A. 1280 p.
- Fernández-León MF. 2012. Evolución de los parámetros de calidad físico-química y funcional de distintas brassicas sometidas a diferentes tratamientos postcosecha [Tesis doctoral]. España: Universidad de Extremadura. 301 p.
- Fleischmann A, Darsow M, Degtyarenko K, Fleischmann W, Boyce S, Axelsen KB, Bairoch A, Schomburg D, Tipton KF, Apweiler R. 2004. IntEnz, the integrated relational enzyme database. *Nucleic acids research* 32(1): 434-437.
- Forsyth J, Apenten RO, Robinson D. 1999. The thermostability of purified isoperoxidases from *Brassica oleracea* var. gemmifera. *Food chemistry* 65(1):99-109.
- Forte MI, López-Miranda S, Serrano-Martínez A, Carreño J, Núñez-Delicado E. 2009. Kinetic characterisation and thermal inactivation study of polyphenol oxidase and peroxidase from table grape (*Crimson seedless*). *Food Chemistry* 113:1008-1014.

- Foust AS, Wenzel LA, Clump CW, Maus L, Andersen LB. 1987. Principios de Operaciones Unitarias. 1ª ed. 4ª reimpresión 1993, México: CECOSA. 715 p.
- Funamoto Y, Yamauchi N, Shigyo M. 2003. Involvement of peroxidase in chlorophyll degradation in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.) and inhibition of the activity by heat treatment. *Postharvest Biology and Technology* 28: 39-46.
- Ganjloo A, Rahman RA, Osman A, Bakar J, Bimakr M. 2011. Kinetics of Crude Peroxidase Inactivation and Color Changes of Thermally Treated Seedless Guava (*Psidium guajava* L.). *Food Bioprocess Technol* 4:1442-1449.
- Ganthavorn C, Powers J. 1988. Changes in peroxidase activity, hexanal, ascorbic acid and free sulfhydryl in blanched asparagus during frozen storage. *Journal of Food Science* 53(5):1403-1405.
- Ganthavorn C, Nagel C, Powers JR. 1991. Thermal inactivation of asparagus lipoxygenase and peroxidase. *Journal of Food Science* 56:47-49.
- Hasperué HJ. 2012. Rol del metabolismo de hidratos de carbono en la senescencia postcosecha de brócoli [Tesis de doctorado]. Argentina: Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Exactas. 133 p.
- Heldman DR, Singh RP. 1981. *Food Process Engineering*. 2a ed. USA: AVI, Westport, Connecticut. 416 p.
- Holman JP. 1997. *Transferencia de Calor*. 2ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 613 p.
- Hurbbard LJ, Farkas BE. 1999. A method for determining the convective heat transfer coefficient during immersion frying. *Journal of Food Process Engineering* 22:201-214.

- Iribe-Salazar R, Caro-Corrales J, Hernández-Calderón O, Zazueta-Niebla J, Gutiérrez-Dorado R, Carrasco-Escalante M, Vázquez-López Y. 2015. Heat Transfer during Blanching and Hydrocooling of Broccoli Florets. *Journal of Food Science* 80(12):2774-2781.
- Jaramillo N, Diaz D. 2006. El cultivo de las crucíferas: Brócoli, coliflor, repollo, col china. 1ª ed. Colombia: Litomadrid. 176 p.
- Jiménez E. 1993. Utilización de la Enzima Lipoxigenasa y Peroxidasa como Índice en el Blanqueado de Espárragos verdes (*Asparagus officinalis* L.) [Tesis de licenciatura]. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina. 207 p.
- King GA, Morris SC. 1994. Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 119: 1000-1005.
- Krarup C, Moreira I, Contreras P, Matte M, Rodríguez M. 1998. Hortalizas de estación fría. Biología y diversidad cultural. P. Universidad Católica de Chile, Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Santiago de Chile. Disponibilidad en: [http://www.puc.cl/sw\\_educ/hort0498](http://www.puc.cl/sw_educ/hort0498). Consultado el 12 de junio del 2017.
- Kreith F, Manglik MR, Bohn MS. 1970. Principios de Transferencia de Calor. 7ª ed. Reimpresión en 2012. México: Cengage Learning. 250 p.
- Lemoine ML, Civello M, Martínez G, Chaves AR. 2007. Influence of a postharvest V-C treatment on refrigerated storage of minimally processed broccoli (*Brassica oleracea* var *italica*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 1132-1139.
- Liing A, Lund D. 1978. Determining kinetic parameters for thermal inactivation of heat-resistant and heat-labile isozymes from thermal destruction curves. *Journal of Food Science* 43(4):1307-1310.

- López-López M, Vega-Espinoza A, Ayón-Reyna L, López-Valenzuela J, Vega-García M. 2013. Combined effect of hot water dipping treatment, N-acetylcysteine and calcium on quality retention and enzymatic activity of fresh-cut apple. *Journal of Food, Agriculture & Environment* 11(2):243-248.
- Manrique V. 2002. *Transferencia de calor*. 2ª ed. México: OXFORD. 304 p.
- Montgomery DC. 1991. *Diseño y análisis de experimentos*. México: Grupo Editorial Iberoamérica. 589 p.
- Morales-Blancas EF, Chandia VE, Cisneros-Zevallos L. 2002. Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxigenase from broccoli, green asparagus and carrots. *Journal of Food Science* 67:146-54.
- Nicolau K, Wilhelms JA, Vitoriano P, Tadini CC. 2008. Inactivation Kinetics of Polyphenol Oxidase and Peroxidase in Green Coconut Water by Microwave Processing. *Journal of Food Engineering* 88:169-176
- Nishikawa F, Kato M, Hyodo H, Ikoma Y, Sigiura M, Yano M. 2003. Ascorbate metabolism in harvested broccoli. *Journal of Experimental Botany* 54: 2439-2448.
- Olivera DF, Viana SZ, Marani CM, Ferreyra RM, Mugridge A, Chaves AR, Mascheroni RH. 2008. Effect of blanching on the quality of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* L. gemmifera DC) after frozen storage. *Journal of Food Engineering* 84(1):148-155.
- Pixabay. 2014. Brócoli. USA: Pixabay. Disponible de: <https://pixabay.com/es/br%C3%B3coli-planta-verde-los-alimentos-494753/>. Consultado el 22 de julio del 2017.
- Podszędek A. 2007. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology* 40(1):1-11.

- Rayan AM, Gab-Alla AA, Shatta AA, El-Shamei ZA. 2011. Thermal inactivation kinetics of quality-related enzymes in cauliflower (*Brassica oleracea* var. botrytis). *European Food Research and Technology* 232(2):319-326.
- Regaldo C, Arvizu OP, Garcia-Almendarez BE, Whitaker JR. 1999. Purification and properties of two acid peroxidases from brussels sprouts (*Brassica oleraceae* L.). *Journal food biochemistry* 23:435-450.
- Robinson DS. 1991. Peroxidases and catalases in foods. En: Robinson DS, Eskin NAM. *Oxidative enzymes in foods*. Amsterdam: Elsevier Applied Science. p. 1-47.
- Saravacos GD, Kostaropoulos AE. 2002. *Handbook of food processing equipment*. 2<sup>a</sup> ed. Grecia: Springer. 687p.
- Schmidt HH, Pennacchiotti MI. 2001. Las enzimas en los alimentos. Su importancia en la química y la tecnología de los alimentos. Repositorio académico de la Universidad de Chile. Disponible en: [http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias\\_quimicas\\_y\\_farmaceuticas/schmidth02/parte08/02.html](http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/schmidth02/parte08/02.html)
- Schonhof I, Kläring H, Krumbein A. 2007. Effect of temperature increase under low radiation conditions on phytochemicals and ascorbic acid in greenhouse grown broccoli. *Science Direct Agriculture, Ecosystems and Environment* 119:103-111.
- SIAP. 2017. Servicio de Información Agroalimentario y Pesca. México. Disponible en <http://www.siap.gob.mx>.
- Thongsook T, Barrett DM. 2005. Purification and partial characterization of broccoli (*Brassica oleracea* Var. Itálica) peroxidases. *Journal of agricultural and food chemistry* 53(8):3206-3214.
- Toledo RT. 2007. *Fundamentals of Food Processing Engineering*. 3<sup>a</sup> ed. USA: Springer Science y Business Media. 570 p.

- Valentas KJ, Rotstein E, Singh RP. 1997. Handbook of Food Engineering Practice. 1<sup>a</sup> ed. New York: CRC Press. 736 p.
- Vallejo F, Tomás-Barberán FA, García-Viguera C. 2002. Potential bioactive compounds in health promotion from broccoli cultivars grown in Spain. Journal of the Science of Food and Agriculture 82(11):1293-1297.
- Woodroof JG. 1988. Harvesting, handling, and storing vegetables. En: Luh BS, Woodroof JG. Commercial Vegetable Processing. 2<sup>a</sup> ed. New York: Van Nostrand Reinhold. pp 135-174.
- Zambrano J, Maffei M, Valera A, Materano W, Quintero I. 2011. Optimización de las condiciones de almacenamiento sobre el contenido de ácido ascórbico en brócoli. Revista de la Facultad de Agronomía 28 (1), 661-669.
- Zhang Z, Pang X, Xuwu D, Ji Z, Jiang Y. 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. Food Chemistry 90(1):47-52.