



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**“Aplicación de pectina de tejocote como  
estabilizante en la elaboración de un helado de  
mamey.”**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

**P R E S E N T A:**

**JAIRO ZAID SANTAMARIA TORRES**

ASESOR: M. EN C. SELENE PASCUAL BUSTAMANTE

COASESOR: DRA. CAROLINA MORENO RAMOS

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

**Aplicación de pectina de tejocote como estabilizante en la elaboración de un helado de mamey.**

Que presenta el pasante: **Jairo Zaid Santamaria Torres**

Con número de cuenta: 307162999 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de Diciembre de 2017.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	I.B.Q. Saturnino Maya Ramírez	
<b>VOCAL</b>	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Selene Pascual Bustamante	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	I.A. Miriam Edith Fuentes Romero	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga\*

## **DEDICATORIA**

**Por las grandes enseñanzas y el amor que me han dado; dedico  
este trabajo a:**

- **A mis padres**
- **A mis hermanos**
- **A mis sobrinos**
- **A mis abuelos**

## AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Arturo y Juana, por darme la vida, por impulsarme a ser una mejor persona y un profesionalista, por todos los momentos felices que me han dado durante mi vida. Por la mejor herencia que puede un padre dejar a sus hijos; el estudio. Lo más importante por amarme tanto y a pesar de mis errores seguir conmigo. NUNCA SUELTEN MI MANO.

A mis hermanos †Jonathant y Jesús por su apoyo, su alegría, sus ocurrencias, porque en cada uno de mis tropiezos me da la mano para levantarme y seguir adelante, porque me enseñan que por más difícil y complicada se ponga la vida hay que sonreír. John, siempre estás en mi mente y corazón, gracias por cuidarme; TE EXTRAÑO. Jesús nunca te des por vencido; CUMPLE TUS METAS.



A mis abuelitos; Arcadio, †Seberianat, †Albertot y †Juanat; quienes a pesar de sus carencias formaron a mis padres y me dan un ejemplo de luchar por lo que quiero y de ser mejor.

A todos mis tíos, que inculcan en sus hijos y sobrinos el amor por la familia y la alegría.

A la UNAM por ser una segunda casa y a aquellos maestros que de CCH Azcapotzalco y FES Cuautitlán que sin dudar compartieron sus conocimientos, me dieron consejos y apoyo en mi formación académica.

A la M. en C. Selene Pascual Bustamante y a la Dra. Carolina Moreno Ramos, por su tiempo, su dedicación, apoyo y paciencia para poder concluir este proyecto.

Al I. B. Q. Saturnino Maya, a la M. en C. María Amaya, a la Dra. Andrea Trejo y a la I. A. Miriam Fuentes, por el tiempo dedicado a la revisión de la tesis y por sus enseñanzas dentro de las aulas.

A D. A. M. por los años que hemos estado juntos, las vivencias y momentos que cada día vivimos, gracias por todo lo bueno y malo; ya que hemos aprendido de eso. Gracias por el amor que me das

A M. R. J. por el compañerismo y la amistad brindada desde el comienzo de la carrera, tu puedes no te des por vencido.

A mis amigos Sergio, Uriel y Jasiel; que desde la prepa han estado conmigo, creciendo juntos, aprendiendo de la vida y por su amistad que nunca se ha perdido y espero nunca se pierda. GRACIAS AMIGOS POR ESTAR AQUÍ

A cada uno de los compañeros de la FESC, de quienes me llevo un aprendizaje.

# ÍNDICE

RESUMEN .....	X
INTRODUCCIÓN .....	XII
1. ANTECEDENTES .....	1
1.1. Tejocote .....	1
1.1.1. Características de tejocote .....	2
1.1.2. Composición química .....	2
1.1.3. Producción de tejocote en México .....	4
1.1.4. Usos de tejocote .....	5
1.2. Pectina .....	5
1.2.1. Materia prima para la obtención de pectina .....	8
1.2.2. Métodos de extracción .....	9
1.2.3. Tipos de pectina .....	10
1.2.4. Características generales de la pectina .....	12
1.2.5. Propiedades funcionales de la pectina .....	14
1.2.6. Uso de pectinas .....	15
1.3. Helado .....	16
1.3.1. Historia del helado .....	18
1.3.2. Fabricación de helado .....	19
1.3.3. Tipos de helados .....	19
1.3.4. Ingredientes de la mezcla del helado .....	20
1.3.5. Cristalización .....	22
1.3.6. Recristalización .....	25
2. OBJETIVOS .....	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS .....	29

3.1. Cuadro metodológico.....	29
3.2. Material biológico.....	30
3.3. Tratamiento de muestras.....	31
3.3.1. Escaldado de tejocote.....	31
3.3.2. Extracción de pectina de tejocote por el método enzimático.....	32
3.3.3. Elaboración de helado.....	35
3.3.4. Técnicas analíticas de pectina.....	38
3.3.5. Técnicas analíticas de helado.....	42
4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	45
4.1. Determinación de pectina.....	45
4.2. Caracterización de pectina.....	46
4.2.1. Rendimiento de pectina de tejocote con diferentes concentraciones de complejo enzimático.....	46
4.2.2. Determinación de grados de esterificación.....	48
4.2.3. Determinación de grupos metoxilo presentes en las pectinas obtenidas del tejocote.....	51
4.2.4. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico presente en las pectinas de tejocote.....	53
4.2.5. Determinación de contenido de cenizas en las pectinas.....	55
4.3. Caracterización de helado de mamey con pectina de tejocote como estabilizante.....	58
4.3.1. Evaluación de overrun del helado de mamey.....	58
4.3.2. Evaluación de estabilidad por el método de pérdida de peso.....	59
4.3.3. Análisis microbiológico.....	61
4.3.4. Evaluación sensorial de helado de mamey con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%).....	62

4.3.5. Comparación de tamaño de cristal durante la cristalización en el helado de mamey con pectina de tejocote como estabilizante y un helado comercial (Häagen-Dazs).....	68
4.3.6. Tamaño de cristal durante la recristalización de helado de mamey comparado con un helado comercial (Häagen-Dazs).....	70
4.3.7. Comparación sensorial de helado de mamey con pectina de tejocote como estabilizante y un helado comercial (Häagen-Dazs).....	73
5. CONCLUSIONES. ....	81
6. RECOMENDACIONES.....	83
ANEXOS .....	84
ANEXO 1: Formato de evaluación sensorial para los helados de mamey con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%) como estabilizante.....	84
ANEXO 2: Formato de evaluación sensorial de helado de mamey con pectina de tejocote (0.5%) y helado comercial (Häagen-Dazs). ....	85
7. REFERENCIAS.....	86

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Árbol de tejocote.....	1
<b>Figura 2.</b> Tejocote <i>Crataegus</i> spp con forma elipsoide. ....	2
<b>Figura 3.</b> Producción de tejocote en México.....	4
<b>Figura 4.</b> Estructura de pectina.....	6
<b>Figura 5.</b> Estructura de la pared celular.....	7
<b>Figura 6.</b> Manzana y corteza de cítrico, materia prima para la obtención de pectina. ....	8
<b>Figura 7.</b> Estructura de pectina de alto grado de metoxilo con más del 50% de grado de esterificación. ....	11
<b>Figura 8.</b> Estructura de pectina de bajo grado de metoxil, con menos del 50% de grado de esterificación.....	11
<b>Figura 9.</b> Representación esquemática del modelo de " caja de huevo" de gelificación.....	12
<b>Figura 10.</b> Ejemplo de helados.....	18
<b>Figura 11.</b> Estructura de mezcla de helado.....	23
<b>Figura 12.</b> Estructura de helado.....	24
<b>Figura 13.</b> Crecimiento de cristales de hielo en agua, subenfriamiento creciente de izquierda a derecha. ....	24
<b>Figura 14.</b> Coalescencia.....	26
<b>Figura 15.</b> Maduración Ostwald, a) Cristales a -10°C, b) calentamiento a -7°C, los cristales más pequeños se derriten, c) después enriado a -10°C, los cristales se forman de nuevo, los cuales se convierten en cristales grandes.....	26
<b>Figura 16.</b> Tejocote ( <i>Crataegus</i> spp.) .....	30
<b>Figura 17.</b> Mamey ( <i>Mammea</i> L.) .....	30
<b>Figura 18.</b> Complejos enzimáticos, Macerex y Zymapect. ....	31
<b>Figura 19.</b> Diagrama de proceso de la extracción de pectina por el proceso enzimático.....	33
<b>Figura 20.</b> Diagrama de proceso de helado.....	36

<b>Figura 21.</b> Rendimiento de pectina de tejocote extraídas con los diferentes complejos (Macerex y Zymapect). A) Rendimiento de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) rendimiento de pectinas extraídas con el complejo Zymapect.....	47
<b>Figura 22.</b> Grado de esterificación de la pectina de tejocote. A) Porcentaje de grados de esterificación de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de grados de esterificación de pectinas extraídas con el complejo Zymapect.....	50
<b>Figura 23.</b> Grupos metoxilo presentes en la pectina de tejocote. A) Porcentaje de grupos metoxilo de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de grupos metoxilo de pectinas extraídas con el complejo Zymapect.....	52
<b>Figura 24.</b> Porcentaje de ácido galacturónico presente en las pectinas de tejocote A) Porcentaje de ácido galacturónico de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de ácido galacturónico de pectinas extraídas con el complejo Zymapect.....	54
<b>Figura 25.</b> Contenido de cenizas presentes en las pectinas de tejocote extraídas con los complejos. A) Porcentaje de cenizas de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de cenizas de pectinas extraídas con el complejo Zymapect.....	56
<b>Figura 26.</b> Comparación de overrun de helado de mamey, con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%) como estabilizante.....	59
<b>Figura 27.</b> Comparación de estabilidad (pérdida de peso) de helado de mamey, con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%) como estabilizante y helado comercial (Häagen- Dazs).....	60
<b>Figura 28.</b> Evaluación de olor en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.....	62
<b>Figura 29.</b> Evaluación de olor extraño en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.....	63

<b>Figura 30.</b> Evaluación de sabor en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones. ....	64
<b>Figura 31.</b> Evaluación de sabor extraño en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.....	65
<b>Figura 32.</b> Evaluación de dureza en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones. ....	66
<b>Figura 33.</b> Evaluación de cremosidad en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.....	67
<b>Figura 34.</b> Comparación de tamaño de cristal de helado con pectina de tejocote como estabilizante y helado comercial (Häagen-Dazs). ....	68
<b>Figura 35.</b> Cristal de helados enfocados en el microscopio. a) Helado de mamey con pectina de tejocote b) Helado comercial (Häagen-Dazs, con un), con enfoque 20x. ....	69
<b>Figura 36.</b> Comparación de tamaño de cristal durante la recristalización de helado con pectina de tejocote como estabilizante y helado comercial (Häagen-Dazs) durante la recristalización. ....	71
<b>Figura 37.</b> Cristal de helados durante la recristalización enfocados en el microscopio. a) Helado de mamey con pectina de tejocote b) Helado comercial (Häagen-Dazs) con enfoque 20x. ....	72
<b>Figura 38.</b> Evaluación de olor en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).....	74
<b>Figura 39.</b> Evaluación de olor extraño en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).....	75
<b>Figura 40.</b> Evaluación de sabor en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).....	76
<b>Figura 41.</b> Evaluación de sabor extraño en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs). ....	77
<b>Figura 42.</b> Evaluación de la dureza en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).....	78
<b>Figura 43.</b> Evaluación de la cremosidad en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs). ....	79

**Figura 44.** Evaluación del color en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs)..... 80

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición química de tejocote. ....	3
<b>Tabla 2.</b> Comparación de contenido de pectina en diferentes fuentes de extracción. .....	3
<b>Tabla 3.</b> Características generales de la pectina. ....	13
<b>Tabla 4.</b> Propiedades funcionales de la pectina.....	15
<b>Tabla 5.</b> Funcionalidad y usos de la pectina. ....	16
<b>Tabla 6.</b> Tipos de helados.....	20
<b>Tabla 7.</b> Formulaciones propuestas para la elaboración del helado. ....	35
<b>Tabla 8.</b> Contenido de pectina en cascara de naranja y tejocote.....	45
<b>Tabla 9.</b> Promedio y desviación estándar del parámetro olor de los helados de mamey.....	63
<b>Tabla 10.</b> Promedio y desviación estándar del parámetro olor extraño de los helados de mamey. ....	64
<b>Tabla 11.</b> Promedio y desviación estándar del parámetro de sabor de los helados de mamey.....	64
<b>Tabla 12.</b> Promedio y desviación estándar del parámetro de sabor extraño de los helados de mamey. ....	65
<b>Tabla 13.</b> Promedio y desviación estándar del parámetro de dureza de los helados de mamey.....	66
<b>Tabla 14.</b> Promedio y desviación estándar de cremosidad de los helados de mamey.....	67
<b>Tabla 15.</b> Promedio y desviación estándar de olor en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).....	74
<b>Tabla 16.</b> Promedio y desviación estándar de olor extraño en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs). ....	75
<b>Tabla 17.</b> Promedio y desviación estándar de sabor en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs). ....	76
<b>Tabla 18.</b> Promedio y desviación estándar de sabor extraño en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs). ....	77

<b>Tabla 19.</b> Promedio y desviación estándar de la dureza en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).....	78
<b>Tabla 20.</b> Promedio y desviación estándar de la cremosidad en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs). ....	79
<b>Tabla 21.</b> Promedio y desviación estándar del color en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).....	80

## RESUMEN

El tejocote es un fruto que se produce en las zonas montañosas de México. La cantidad desechada de este producto después de las fiestas decembrinas son elevadas (70%), debido a esto se decidió darle una aplicación alterna. Por lo tanto, se propuso utilizar la pectina de tejocote en un helado de mamey, con la finalidad de retrasar la cristalización y recristalización dentro de su estructura, y optimizar la extracción de pectina por el método enzimático. Para realizar la extracción de pectina se empleó el método enzimático con los siguientes complejos enzimáticos a diferentes cantidades; Macerex marca ENMEX (3, 9 y 15  $\mu\text{L}$ ) y Zymapect marca ENMEX (0.5, 2.5 y 3.5  $\mu\text{L}$ ). Se evaluaron las características fisicoquímicas (grado de metoxilación y grado de esterificación), químicas (% de ácido galacturónico y cenizas) y rendimiento a la pectina. Posteriormente se elaboró el helado empleando diferentes concentraciones de pectina (0.5, 1.0 y 1.5 %), para después caracterizar el producto mediante overrun y estabilidad (por medio de la pérdida de peso), así como la cristalización y recristalización del mismo, finalmente determinar si hubo efecto positivo en la adición de pectina sobre el helado. El rendimiento máximo de pectina obtenida fue de 7.13% con el complejo enzimático Macerex a una cantidad de 3  $\mu\text{L}$  y un rendimiento mínimo de 5.53% con el complejo enzimático Zymapect con una cantidad de 3.5  $\mu\text{L}$ . Se evaluaron las propiedades fisicoquímicas de las pectinas logrando como datos relevantes 7.82% de grupos metoxil con el complejo Macerex a una cantidad de 3  $\mu\text{L}$  y en el porcentaje de grados de esterificación un valor de 95.98% con el mismo complejo, pero con una cantidad de 15  $\mu\text{L}$ . De los resultados de las características químicas, se obtuvo un valor máximo de 64.91% de ácido galacturónico y un valor mínimo de 3.53% de cenizas con el complejo Macerex a una cantidad de 3  $\mu\text{L}$ , estos resultados se consideraron por su relación que es entre mayor ácido galacturónico y menor cantidad de ceniza la pectina tendrá mayor pureza. Debido a las características químicas y al mayor rendimiento se decidió utilizar la pectina extraída con el complejo Macerex, a una cantidad de 3  $\mu\text{L}$ , para la elaboración del helado de mamey con 3 diferentes concentraciones de este polisacárido (0.5, 1.0 y 1.5%).

Del análisis de propiedades físicas, overrun y estabilidad por pérdida de peso, se obtuvo el valor máximo de overrun (4.19%) en el helado adicionado con pectina al 1.5%, fue el más estable teniendo una pérdida de peso de 2.34%; teniendo diferencia significativa con el helado comercial (Häagen-Dazs), 0.44%. Posteriormente se realizaron análisis microbiológicos, de cuenta de coliformes totales y de microorganismos aerobios, de los cuales se obtuvo ausencia de ambos microorganismos. En la evaluación sensorial de los helados desarrollados con diferentes concentraciones de pectina, los panelistas no detectaron diferencia entre ellos; por lo cual se utilizó el helado con 0.5% de pectina de tejocote para evaluar el tamaño de cristal, durante la cristalización y recristalización, con el helado comercial (Häagen-Dazs). Se procedió a evaluar el tamaño del cristal después de ser elaborado y después de una segunda congelación (recristalización) comparándolo con un helado comercial (Häagen-Dazs), teniendo como resultado durante la cristalización 1.241 mm para el helado de mamey y 0.9733mm para el helado comercial sin presentar diferencia significativa; en cambio en la recristalización el tamaño de cristal del helado de mamey es de 0.6720mm y el helado comercial 1.287 mm presentando diferencia significativa y por lo que se observó la pectina de tejocote se puede emplear como un buen estabilizante ya que retrasa la cristalización en la estructura del helado.

**Palabras claves:** Pectina, cristalización, recristalización, extracción de pectina, método enzimático, complejos enzimáticos, grado de metoxilación, grado de esterificación, porcentaje de ácido galacturónico, cenizas, overrun, estabilidad.

## INTRODUCCIÓN

El tejocote es un fruto subvalorado en México, que después de las celebraciones del Día de Muertos y Fiestas Navideñas, un porcentaje superior al 70% de producción no llega a comercializarse, por lo que la industrialización del tejocote es una opción para el aprovechamiento del mismo. De la composición del fruto el contenido de calcio, vitamina C, vitamina B y su alto contenido de pectina (Jiménez, 2014).

En las últimas décadas, las sustancias pécticas han adquirido una gran importancia sobre todo en la industria alimentaria. La pectina juega un papel fundamental del procesamiento de los alimentos como aditivo; utilizados como aditivos y como fuente de fibra dietética (D'Addosio *et al.*, 2005). La extracción de pectina es un proceso fisicoquímico complejo. Dentro de los métodos de extracción de pectina existe uno de bajo costo el cual consiste en la extracción enzimática, empleando pectinesterasa o pectinmetilesterasa, la cual convierte a las pectinas de alto metoxilo en pectinas de bajo metoxilo sin la despolimerización de la molécula de pectina (Márquez, 2000).

Adriana Cárdenas en una entrevista realizada por Macedo (2002), menciona que las nuevas fuentes de pectina pueden ser muy atractivas desde el punto de vista económico prueba de ello es que la última década el volumen de exportación de pectina ha sido superior a la importación, ya que creció de 981 toneladas en 1993, a 4 mil 515 en 1999.

Las pectinas se utilizan en alimentos congelados para retrasar la formación y crecimiento de cristales, así como la pérdida de la consistencia del producto cuando se descongela (Girbés y Jiménez, 2013).

Por lo que el objetivo del presente trabajo es la extracción de pectina de tejocote y su aplicación en la elaboración de un helado de mamey, para retrasar la cristalización y recristalización del producto.

# 1. ANTECEDENTES

## 1.1. Tejocote.

De la amplia variabilidad de plantas en México, un gran número corresponden a los frutales, siendo el tejocote uno de los frutales que tradicionalmente se consumen (López *et al*, 2008). El tejocote es una fruta de origen mexicano, su nombre proviene del Náhuatl “Texocotl”, que significa piedra agria, de la familia *Crataegus pubescens* (Salazar, 2013).

El árbol de este fruto se encuentra ampliamente distribuido a lo largo y ancho de la República Mexicana en altitudes que oscilan de los 400 hasta los 3000 metros sobre nivel del mar y principalmente en climas fríos y templados. En general se clasifican en dos tipos: criollos y cultivados, los primeros se encuentran ubicados entre los 14 y 32° de latitud norte, y los segundos entre los 19 y 20° de latitud norte (López *et al.*, 2008), un ejemplo del árbol se encuentra en el Centro de Asimilación Tecnológica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, mostrado en la Figura 1. La amplia variedad de características que presenta el tejocote, hace posible el aprovechamiento de este cultivo (Nieto *et al.*, 2008).



**Figura 1.** *Árbol de tejocote.*

**Fuente:** Elaboración propia.

### 1.1.1. Características de tejocote.

El tejocote es una fruta hermafrodita, de una forma redonda, aunque existen otras variantes, periforme elipsoide, pentagonal y oval; en la Figura 2 se muestra un ejemplo del tejocote *Crataegus spp* con forma elipsoide. De un diámetro ecuatorial de 5 a 59 mm y diámetro polar de 5 a 48 mm. La epidermis es homogénea, de color amarillo, anaranjado a rojo oscuro o chapeado con rojo de variable tonalidad e intensidad (Pérez, 2014), del cual las semillas están rodeadas por un endocarpio o hueso leñoso; son de color café y lisas; dentro del fruto se encuentran de 4 a 6 en cada fruto (Nieto *et al.*, 2008).



**Figura 2.** *Tejocote Crataegus spp* con forma elipsoide.  
Fuente: Elaboración propia

### 1.1.2. Composición química.

Edwards *et al.* (2012) mencionan que el tejocote contiene azúcares como glucosa, sacarosa y fructosa, siendo ésta última la más abundante, otros componentes mencionados dentro de esta cita se encuentran flavonoides, ácidos orgánicos y fenólicos; su composición química se muestra en la Tabla 1. Los principales flavonoides son derivados glicosilados y vitexinas.

**Tabla 1.** Composición química de tejocote.

Componente	Porcentaje (%)
Humedad	69.14
Carbohidratos	24.81
Grasas	0.80
Proteína	3.5
Cenizas	1.75

Fuente: Edward *et al.*, 2012.

Además, aporta una gran cantidad de sustancias benéficas para la nutrición, como el calcio, que protege a los huesos y dientes, además de favorecer la flexibilidad de los músculos, la coagulación sanguínea y la transmisión de impulsos a través del sistema nervioso; contiene vitamina C y B; es diurético y antiespasmódico; ayuda a disminuir el nivel de colesterol en la sangre. Cabe señalar que este fruto contiene grandes cantidades de *pectina*, sustancia que tiene varios usos industriales, entre los que destacan su utilización como agente espesante para la elaboración de gelatinas y mermeladas (Jiménez, 2014), en la Tabla 2 se encuentra la comparación en las cantidades de pectina en la manzana, los cítricos y el tejocote.

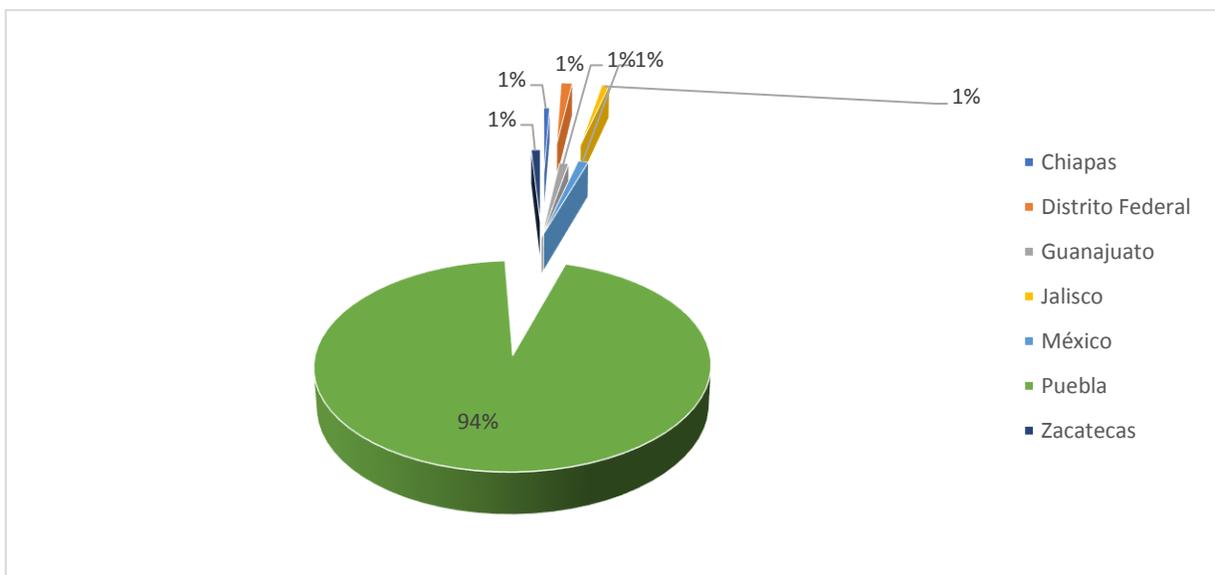
**Tabla 2.** Comparación de contenido de pectina en diferentes fuentes de extracción.

Fuente de pectina	Porcentaje de pectina (%)	Referencia bibliográfica
Manzana	15-20	Muñoz, 2011
Cítricos	30-35	Muñoz, 2011
Tejocote	26-28	Aceves <i>et al.</i> , 1987

### 1.1.3. Producción de tejocote en México.

El género de la planta que produce tejocote es *Crataegus spp* crecen en las zonas montañosas de la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre Occidental y la Sierra Madre del Sur, así como en el Eje Neo-Volcánico (Núñez *et al.*, 2008).

Los estados productores del tejocote son: Chiapas (0.62%), Distrito Federal (1.21%), Guanajuato (0.88%), Jalisco (0.79%), México (1.02%), Puebla (94.56%) y Zacatecas (0.92%). Siendo Puebla el estado con mayor producción de México, aportando a la economía mexicana \$5,570.21 (miles de pesos) por producción (SIAP, 2014), mostrando estos valores gráficamente en la Figura 3.



**Figura 3.** Producción de tejocote en México.

Fuente: SIAP, 2014.

Jiménez (2014), destaca que después de la celebración de día de muertos y de las Fiestas Navideñas, un porcentaje superior al 70% de producción de tejocote no llega a comercializarse, por lo que la industrialización es una opción para su aprovechamiento.

#### **1.1.4. Usos de tejocote.**

La amplia diversidad de características que presenta el tejocote, hace posible el aprovechamiento de este cultivo, presentando un importante potencial todavía sin explorar, el fruto tiene uso alimenticio, forrajero, ornamental, medicinal y para la extracción de pectinas y otros compuestos orgánicos utilizados en la industria alimentaria (Nieto *et al.*, 2008).

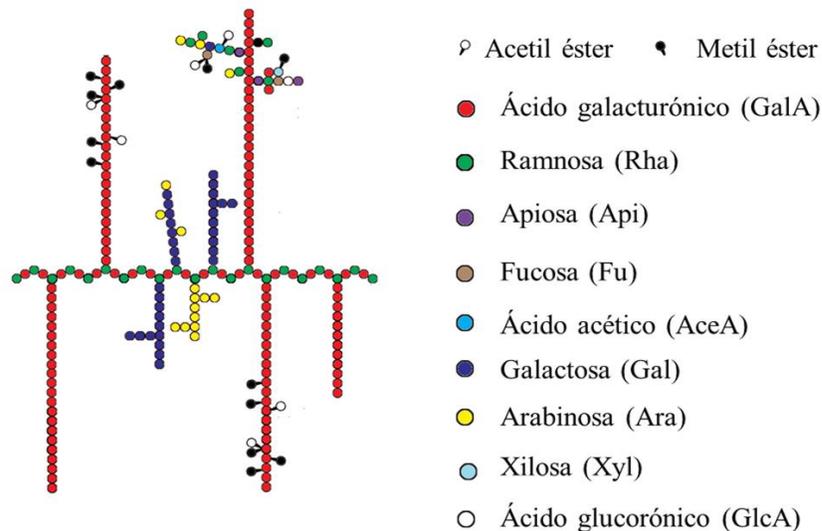
También con este fruto se elaboran papillas a nivel casero, así como ate de tejocote, bebidas calientes (ponche de frutas) y se utiliza la pulpa de tejocote como agente gelificante en lugar de pectina cítrica comercial, esta tradición es artesanal la cual se practica desde hace siglos en nuestro país (Pérez, 2014).

#### **1.2. Pectina.**

La palabra pectina proviene del nombre griego “pectos” que significa solidificado o coagulado; este término es designado a los ácidos pécticos solubles en agua con variación en el contenido de metil ester y en el grado de neutralización, los cuales son capaces de formar geles con azúcar y ácido en condiciones adecuadas (Kertesz, 1951; Soriano, 2004). En 1790 Vauquelin descubrió la pectina como una sustancia soluble presente en los zumos de fruta, pero no fue hasta 1824 cuando Branconnot continuó el trabajo, llamo a esta sustancia ácido péctico, ya que tiene propiedades gelificantes cuando se le añade a la solución (Soriano, 2004).

Las pectinas son un grupo de heteropolisacáridos vegetales con una estructura básica de ácidos D-galacturónicos, aproximadamente 65%, como se muestra en la Figura 4, unidos por enlaces  $\alpha$ -D- (1-4), en la cual algunos carboxilos pueden estar esterificados con metilos; es decir, las pectinas son ácidos pectinicos con diferentes grados de esterificación y pueden contener 1000 o más unidades de ácido galacturónico. Existen 3 elementos estructurales que están involucrados la composición de la molécula de pectina: la homogalacturona, enlazada con el  $\alpha$ -D-

ácido galacturónico mediante un enlace 1-4, galacturona con diferente organización de cadenas laterales y ramnogalacturona con una base que consiste en unidades de disacáridos (Fennema, 2000; Belitz, *et al*, 2009; Badui, 2015).



**Figura 4. Estructura de pectina.**

Fuente: Willats *et al.*, 2006.

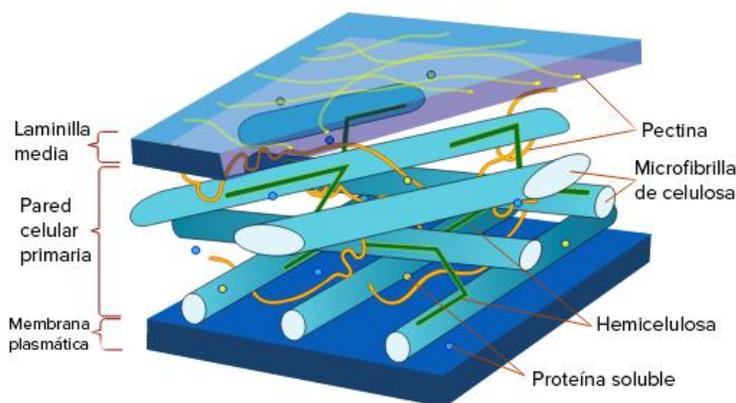
Las sustancias pectínicas son las responsables de la consistencia, turbidez y apariencia de los jugos de frutas. También son responsables de incrementar la viscosidad de los jugos, la cual afecta a la concentración del mismo y en la filtración (Rodríguez y Narciso, 2012).

La masa molecular de las sustancias pectínicas está dentro del rango de 25 a 360 kDa. Estas se clasifican en cuatro tipos (Rodríguez y Narciso, 2012):

- *Protopectina*: es la sustancia pectínica insoluble en agua presente en tejido intacto. Las sustancias pectínicas no tienen un peso molecular definido.
- *Ácido pectínico*: es un polímero soluble que contiene una cantidad despreciable de grupos metoxil. Estas son llamadas pectatos.

- *Ácido pectínico*: es la cadena poligalacturónica que contiene unidades de galacturonato metilado de mayores de 0% y menores de 75%.
- *Pectina*: Es el material polimérico en el cual al menos, 75% de grupos carboxilo de las unidades galacturónicas son esterificados con metanol

A la pectina se le conoce también como producto químico que se obtiene de materia prima vegetal, principalmente de frutas, utilizadas para darles propiedades de gel a los productos y como estabilizantes (Devia, 2003). Están presentes en la pared celular y en medio de la lamela de muchas plantas, donde son frecuentemente asociadas con otros componentes de la pared celular, tales como celulosa, hemicelulosa y lignina; ejemplificado en la Figura 5. Los polisacáridos presentes en la pared celular muestran estructuras complejas, incluyendo una diversidad de azúcares naturales que se enlazan con el “tronco” principal de ácido galacturónico (Stephen, 2006).



**Figura 5.** Estructura de la pared celular.

**Fuente:** Rodrigues y Narciso, 2012.

Las pectinas son usualmente purificadas y separadas del extracto ácido de la planta, el cual contiene la pectina así mismo una cantidad considerable de componentes no pectídicos, normalmente estas son sales y polisacáridos neutrales (Guo y

Hecheng, 2015), relacionados con sus propiedades funcionales y las características de la pectina.

### 1.2.1. Materia prima para la obtención de pectina.

La extracción de pectina a nivel laboratorio y con fines de investigación generalmente involucra condiciones dóciles y pasos más complejos, que aquellas que se realizan a nivel industrial (Stephen, 2006).

Los residuos de manzana y las cortezas de cítricos (Figura 9) son las materias primas tradicionalmente usadas para la extracción industrial de pectinas. Ambos materiales contienen altas cantidades de sustancias pécticas y están disponibles en abundancia como residuos de producción de jugo. Sin embargo, estos frutos producen pectinas ligeramente diferentes lo cual hace que la una o la otra sea más adecuada para aplicaciones específicas, aunque ambas tienen buen reconocimiento de deseabilidad y propiedades comerciales atractivas. La piel de manzana seca, generalmente contienen entre un 15 a un 20 % de pectina, mientras que las cortezas de cítricos rinden de un 30 a un 35 % de pectina (Muñoz, 2011).



**Figura 6.** *Manzana y corteza de cítrico, materia prima para la obtención de pectina.*

**Fuente:** Devia, 2003.

Dentro de las extracciones hay un interés general en el uso de desechos obtenidos de bio-industrias, para minimizar problemas ambientales y para la degradación de grandes cantidades de biomasa para producir productos con valor agregado. Por esto el interés dentro de los últimos años y se han buscado opciones para la industrialización del polisacárido, aunque los resultados que se han obtenido no han sido de gran significancia. Algunos ejemplos incluyen la obtención de pectina de pulpa de remolacha, residuos de girasol y pulpa de oliva (Stephen, 2006).

### **1.2.2. Métodos de extracción.**

La extracción de la pectina es un método tecnológico de bajo costo, el cual es utilizado para la obtención de moléculas que son utilizadas como aditivos para el sector alimenticio o productos nutracéuticos (Prakash, 2015). Existen varios tipos de extracción tales como:

*Hidrólisis ácida:* Este tipo de extracción se basa en una hidrólisis, separación y recuperación de la pectina; la protopectina se hidroliza en medio ácido diluido, en caliente, removiendo así, no solo la pectina, si no también, otros productos tales como polisacáridos neutros y gomas. El grado de esterificación final, depende de la temperatura, del pH y de la duración del tratamiento ácido; pudiendo obtenerse pectinas fuertemente metiladas o pectinas débilmente metiladas (Maldonado *et al.*, 2010).

*Métodos fisicoquímicos:* Un método fisicoquímico es mediante un agente quelante para remover los cationes que constituyen a los ácidos pécticos, y el otro mediante el uso de ácido para romper los puentes de hidrógeno entre celulosa y los ácidos pécticos (Márquez, 2000)

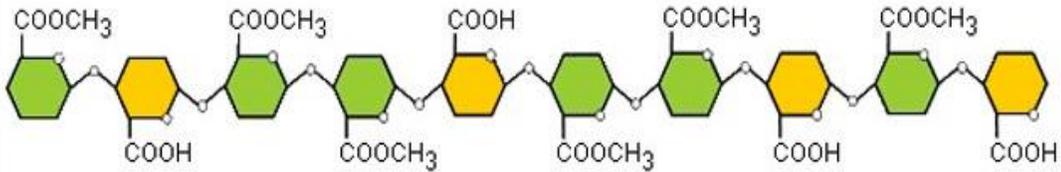
*Asistida por microondas:* Existe un pre-tratamiento del material vegetal con calentamiento con microondas, el cual permite incrementar el rendimiento de pectina durante la extracción. El rendimiento se debe a la desintegración parcial del

tejido vegetal y al hidrolisis de protopectina y, en segundo lugar, a la rápida inactivación de enzimas pectolíticas (González, 2014).

*Extracción enzimática:* El método enzimático emplea pectinesterasa o pectinmetilesterasa, la cual convierte las pectinas de alto metoxilo en pectinas de bajo metoxilo sin la despolimerización de la molécula de pectina (Márquez, 2000). Las enzimas pectolíticas o pécticas, llamadas comúnmente pectinasas, constituyen un complejo sistema de enzimas que incluye hidrolasas, liasas y oxidasas, que intervienen en la degradación o modificación de la pectina (González, 2014).

### **1.2.3. Tipos de pectina.**

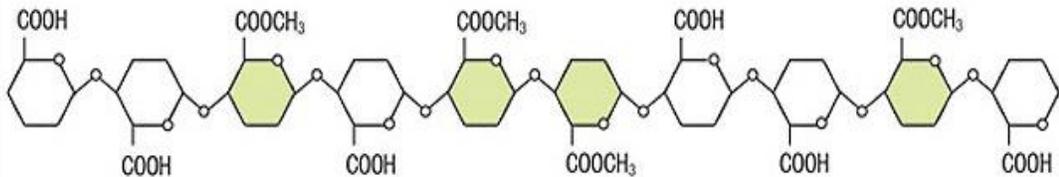
***Pectina de alto metoxil:*** Por definición las preparaciones en las que más de la mitad de los grupos carboxílicos están en forma de grupos metiléster (-COOCH<sub>3</sub>) son clasificadas como pectinas de alto metoxil. Los grupos carboxílicos no esterificados estarán presentes como una mezcla de libres (-COOH) y en forma de sal (-COO-Na<sup>+</sup>) (Fennema, 2000). Estas pectinas gelifican dentro de un intervalo de pH de 2.0 – 3.5 y con 60 a 65% de sacarosa. Los geles se estabilizan mediante diversos enlaces débiles; los carboxilos crean puentes de hidrógeno entre sí o con los hidroxilos de una molécula vecina de pectina o del disacárido (Badui, 2015). La gelificación de este tipo de pectinas es un proceso complejo, que involucra diferentes interacciones intermoleculares. Son obtenidos principalmente de concentraciones altas de sucralosa (55-75%), o de otros solutos similares y a un bajo pH (2.5-3.5) (Stephen, 2006), dando un ejemplo de la estructura de este tipo de pectina en la Figura 6.



**Figura 7.** Estructura de pectina de alto grado de metoxilo con más del 50% de grado de esterificación.

Fuente: Willats et al., 2006

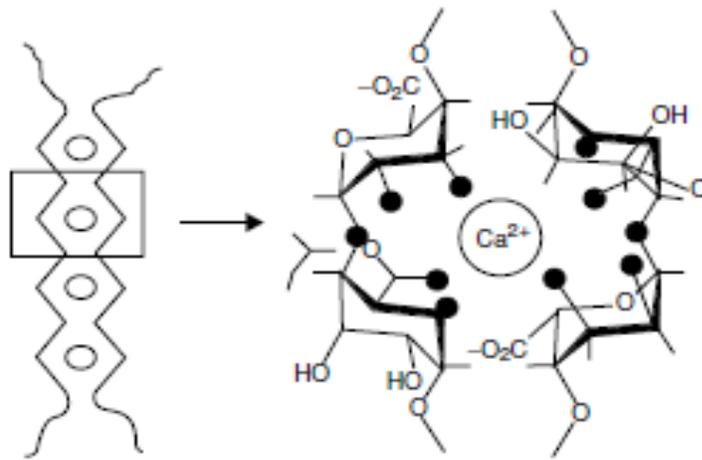
**Pectina de bajo metoxil:** Las preparaciones en las que menos de la mitad de los grupos carboxílicos están en forma de grupo metiléster se denominan pectina de bajo metoxil (Belitz, 2006), mostrando un ejemplo de su estructura en la Figura 7.



**Figura 8.** Estructura de pectina de bajo grado de metoxil, con menos del 50% de grado de esterificación.

Fuente: Willats et al., 2006

La gelificación de pectinas de bajo metoxil requieren de iones de calcio y un pH de 3 a 6.5, ya que en estas condiciones los carboxilos se encuentran ionizados y pueden establecer uniones iónicas con otras moléculas de pectina mediante sales divalentes; se crea la estructura básica del gel en la que los hidroxilos de los residuos del ácido galacturónico retienen agua por medio de puentes de hidrógeno (Fennema, 2000). Su gelificación es mediante cationes divalentes, de los cuales el más relevante es calcio, esto es el clásico mecanismo de gelificación de las pectinas de bajo metoxilo. Un mecanismo de calcio enlazándose a los grupos carboxilo ionizados en la cadena de pectina; esto similar a una caja de huevo, tal como en la Figura 8, como en el alginato (Stephen, 2006).



**Figura 9.** Representación esquemática del modelo de "caja de huevo" de gelificación.

Fuente: Stephen, 2006.

El tipo de pectina será determinado por la fuente de extracción y el método de extracción.

#### 1.2.4. Características generales de la pectina.

Debido a las características de la pectina, mencionadas en la Tabla 3, la recuperación de este polisacárido puede ser mediante el empleo de etanol o de isopropanol, otra variante de su recuperación consiste en adicionar sulfato de aluminio y amonio, pero en este sistema requiere un tratamiento extra con etanol acidificado con ácido clorhídrico para extraer los residuos de aluminio (Badui, 2015).

**Tabla 3. Características generales de la pectina.**

Tipo de característica		Descripción
Características físicas		La pectina debe tener un color blanco amarillento y sin olor, además de una textura de aspecto viscoso o mucilagoso, así mismo su tamaño de partículas deberá estar comprendido entre malla 60 y 80 <sup>a</sup> .
Características químicas	Peso molecular	La funcionalidad de la pectina está relacionada directamente con su peso molecular y la conformación de la misma, Como cualquier otro polisacárido natural, exhibe una gran heterogeneidad con su peso molecular. Las pectinas con el mismo peso molecular pueden exhibir volúmenes hidrodinámicos diferentes debido a la diferencia de los grados de esterificación <sup>b</sup> .
	Función biológica	Las pectinas en medios acuosos no son moléculas estables; dependiendo del pH y temperatura, las moléculas de pectina pueden experimentar reacciones químicas y modificaciones. Dentro de condiciones acidas pueden ocurrir hidrolisis de diferentes grados. Bajo condiciones alcalinas, o incluso a pH cerca de 7, especialmente a temperaturas elevadas, puede ocurrir una degradación <sup>b</sup> .

**Fuente:** <sup>a</sup> Badui, 2015; <sup>b</sup> Stephen, 2006.

La pectina contiene grupos carboxílicos que existen en los residuos de ácido urónicos que están libres o sales formadas con sodio, potasio o calcio. Debido a la presencia de grupos carboxílicos libres, las soluciones pectídicas exhiben un pH ácido; una solución de 1% puede tener un pH de alrededor de 2.7 a 3 (Stephen, 2006). Dentro de estas estructuras pueden medirse características fisicoquímicas y químicas, tales como:

*Grado de esterificación:* El grado de polimerización y el de esterificación influyen en la resistencia de los geles, la viscosidad de las disoluciones y la velocidad de formación del gel. La resistencia de los geles aumenta con el peso molecular y disminuye con el grado de esterificación. Las pectinas poco esterificadas necesitan

valores muy bajos de pH o presencia de calcio. Sin embargo, precisan menores concentraciones de azúcar que las más esterificadas (Vian, 2006).

*Ácido galacturónico:* La riqueza de la pectina en ácido galacturónico, es un parámetro para definir la fuerza del precipitado y comprobar la pureza del producto. El contenido de ácido galacturónico se determina mediante métodos oficiales (Navarro, 1985; Pagan, 2001; Gamboa, 2009; León y Riveros, 2014).

*Cenizas:* Es un criterio que evalúa la pureza de las pectinas, el contenido de cenizas afecta la habilidad de la pectina a gelificarse (Miyamoto y Chang, 1992).

*Grupos metoxilo:* La principal aplicación de las pectinas en la industria radica en su capacidad de formar geles firmes. Así las pectinas ricas en grupos metoxilo gelifican tanto en medio acuoso como hidroalcoholicos ricos en azúcar (60 -85%). En cambio, las pectinas pobremente metiladas pueden gelificar, pero a condición que estén presentes iones alcalinotérreos (Bello, 2000).

Debido a sus características fisiológicas existen dos tipos de pectina, las de bajo metoxil y alto metoxil.

#### **1.2.5. Propiedades funcionales de la pectina.**

La pectina ha sido utilizada como agente espesante, gelificante y estabilizantes (Tabla 4), por su solubilidad, en suspensiones o emulsiones. Estos sistemas tienen como principal función, controlar las propiedades sensoriales de los alimentos (Stephen, 2006). Su posible aplicación depende de factores intrínsecos como su peso molecular y su grado de esterificación; por factores extrínsecos, tales como sales disueltas, la presencia de azúcares; y el pH (Badui, 2015).

**Tabla 4. Propiedades funcionales de la pectina**

<b>Propiedad funcional</b>	<b>Descripción</b>
<b>Solubilidad</b>	La solubilidad de la pectina aumenta con un incremento en el grado de esterificación y con un decremento en su peso molecular. Las pectinas con un grado de esterificación del 20% son precipitadas por soluciones de cloruro de sodio, con un grado de esterificación del 50% por soluciones de cloruro de calcio y con un grado de 70% por cloruro de aluminio o cobre <sup>a</sup> .
<b>Agente espesante</b>	La viscosidad de las soluciones de pectina depende de la concentración de la misma, debido a la naturaleza polieléctrica del biopolímero, exhibe un comportamiento peculiar que difiere considerablemente de polisacáridos neutrales. La reducción de viscosidad de la pectina en ausencia de sal, es debido a la repulsión electrostática <sup>b</sup> .
<b>Agente gelificante</b>	La temperatura de gelificación y la resistencia del gel incrementan a mayor concentración de pectina, el incremento de la cantidad de sólidos solubles y el contenido de calcio en el sistema. La gelificación de pectinas de alto metoxilo sucede dentro de un pH menor a 3 y en presencia de una concentración alta de azúcar, estas son empleadas en jaleas con alto contenido de azúcar, al contrario de las pectinas con bajo metoxilo se necesitan iones de calcio, gelifican en un rango amplio de pH o sin azúcar <sup>b</sup> .
<b>Agente estabilizante</b>	Su efecto estabilizante es relacionado con la interacción interfacial entre la micela de pectina y caseína. Llegando a ser utilizada en productos como en bebidas de leche acidificada y yogurt por su bajo pH <sup>b</sup> .

**Fuente:** <sup>a</sup> Badui, 2015; <sup>b</sup> Stephen, 2006.

### 1.2.6. Uso de pectinas.

Las pectinas dan lugar a geles termorreversibles en presencia de sacarosa a pH bajo (pectinas de alto metoxilo) o iones calcio (pectinas de bajo metoxilo). Este polisacárido tiene un gran interés tecnológico para el sector de la alimentación (Yuste y Garza, 2003) su uso dependerá para que se quiera utilizar, algunos de sus usos son mencionados en la Tabla 5.

**Tabla 5. Funcionalidad y usos de la pectina.**

<b>Funcionalidad</b>	<b>Usos</b>
<b>Agente gelificante</b>	Se utiliza en la elaboración de mermeladas, jaleas y confituras, frutas en conserva, productos de panadería y pastelería, bebidas y otros alimentos
<b>Espesante</b>	
<b>Emulsificante</b>	
<b>Estabilizante</b>	
<b>Substituto</b>	Este polisacárido es útil para reemplazar grasas y azúcares en la elaboración de los alimentos bajos en calorías.

**Fuente:** Yutse y Garza, 2003.

Adriana Cárdenas, en una entrevista realizada por Macedo (2002), menciona que la pectina se usa para retardar la cristalización de alimentos congelados, como en el caso de las cubiertas para helado necesario para elaborar helado de crema.

### **1.3. Helado.**

El helado es un sistema coloidal complejo que consta de una fase dispersa; conformada por células de aire, cristales de hielo y glóbulos de grasa dispersos; la cual se encuentra inmersa en una fase continua de alta viscosidad (Posada *et al.* 2012; Pintor y Totosa, 2013). Este producto producido mediante la congelación con o sin agitación de una mezcla pasteurizada, compuesta por una combinación de ingredientes lácteos pudiendo contener grasas vegetales, frutas, huevo y sus derivados, saborizantes, edulcorantes y otros aditivos (NOM-243-SSA1-2010).

Es conocido como sistema coloidal debido a la incorporación de aire a los helados, él cual es conocido como espuma. Estas son dispersiones de gases en líquidos, las proteínas se estabilizan formando películas flexibles, cohesivas alrededor de las burbujas de gas. Durante el batido, las proteínas se absorben a la interfaz gracias a sus dominios hidrófobos, lo que va unido a un plegamiento parcial. Las espumas se rompen porque las burbujas grandes crecen a expensas de las pequeñas. La

estabilidad de una espuma depende de la firmeza de la película proteica y de su permeabilidad a los gases. La firmeza está condicionada por la cantidad de moléculas absorbidas y por la capacidad de las moléculas absorbidas para asociarse (Belitz, 2006).

Las propiedades formadoras y estabilizadoras de espumas de las proteínas pueden mejorarse por modificación física y química. La hidrólisis enzimática parcial conduce a moléculas pequeñas que difunden con mayor rapidez, a una mejor solubilidad y a la liberación de grupos hidrófobos (Belitz, 2006).

La diferencia entre un helado y una nieve es que se incorpora aire a la mezcla de los ingredientes, sin esto simplemente una nieve de leche, con el aire incorporado se convierte en un sistema coloidal complejo. El cual consiste en una espuma semisólida de celdas de aire rodeadas por grasa emulsificada junto con una red de diminutos cristales de hielo que están rodeados por un líquido acuoso en forma de sol. El aire combinado con una baja temperatura (-40°C) y grasa hidrogenada se transforma en un líquido a un espumoso sólido agregándole sus saborizantes y estabilizadores, obtenemos un helado (Ruiz *et al.*, 2012), un ejemplo de helado se muestra en la Figura 10.



**Figura 10.** Ejemplo de helados.

Fuente: Clarke, 2004.

### **1.3.1. Historia del helado.**

En la época de los faraones de Egipto, en determinadas ocasiones se tomaba en copas de plata y oro una mezcla compuesta por zumos de fruta y nieve, que servía para calmar los ardores de las pesadas digestiones de los comensales. Cuentan que un discípulo de Mahoma congelaba zumo en unas vasijas por agitación, estando dicha vasija rodeada de hielo triturado. Esta forma de hacer helado ha perdurado casi hasta nuestros días, por lo que se puede considerar a la cultura musulmana como la principal responsable de la aparición de este delicioso alimento (Madrid y Cenzano, 2003)

El helado pasa a América desde Europa; el padre de los helados en EU es Jacob Fussel, que en su ciudad natal de Baltimore comienza la fabricación industrial de helados, abriendo pronto otras factorías en Washington y New York (Madrid y Cenzano, 2003)

### **1.3.2. Fabricación de helado.**

Se dice que un ama de casa americana inventó en 1846 una máquina para fabricar helado accionado con una manivela. En 1851, Jacob Fussel, un emprendedor lechero de Baltimore comenzó a fabricar helados en escala industrial. Fundó establecimientos en Washington y Nueva York. Antes de esto el americano J. Berkin ya había patentado en 1834 la idea de utilizar una sustancia de fácil ebullición para la producción de frío y volver a condensar los vapores de la misma para luego volver a evaporarla. Ferdinand Carrée perfeccionó en 1876 el aparato compresor y utilizó por primera vez en 1867 el amoniaco.

Con estos avances a finales del siglo XIX la firma americana *Italo Machiony* hacia llegar los helados a sus clientes por medio de carritos de mano (Clarke, 2004).

### **1.3.3. Tipos de helados.**

Clarke (2004) menciona que el helado se puede dividir en 4 categorías principales, según los ingredientes utilizados:

- Helados hechos exclusivamente a partir de productos lácteos.
- Helados que contienen grasa de origen vegetal.
- Sorbetes hechos con zumos de frutas, grasa láctea y sólidos grasos no lácteos.
- Sorbetes hechos con agua, azúcar y concentrados de fruta.

La composición de los helados varía en los diferentes países, en las localidades y en el mercado de cada país. Dado lo anterior es difícil establecer una formulación concreta para el helado y nacen los diferentes tipos de helados (Goof y Hartel, 2013), los cuales se encuentran en la Tabla 6.

**Tabla 6. Tipos de helados.**

Tipo de helado	Descripción
<p><b>Helado mantecado</b></p> 	<p>Es la clase de helado más consumida en Alemania. En este tipo de helado la tasa de proteína corresponde al 11.3% de extracto seco, entre los productos estudiados el aire batido oscila entre el 100% y 120%<sup>a</sup>.</p>
<p><b>Helado mantecado desengrasado</b></p> 	<p>Se diferencia del helado mantecado en el contenido de la grasa (3%). Hay relativamente pocos productos de esta clase en el mercado<sup>b</sup>.</p>
<p><b>Helado de leche</b></p> 	<p>Este tipo de helado representa la clase más importante en los helados elaborados artesanalmente. El helado de leche se distingue de las demás variedades porque debe de llevar una tasa mínima de 70% de leche íntegra. Esta fracción de leche proporciona al helado una tasa de grasa de 2.4% y un contenido de extracto seco lácteo de 6%<sup>c</sup>.</p>
<p><b>Helado de fruta</b></p> 	<p>El helado de fruta debe contener como mínimo una fracción de fruta del 20%, que en el caso del helado de limón será del 10%. De acuerdo con los componentes de la leche y el grado de batido, se distinguen 4 tipos de helado de fruta de fabricación industrial<sup>d</sup>.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Con componentes lácteos y con aire batido</li> <li>➤ Con pocos componentes lácteos y con aire batido. <i>Shertbet</i></li> <li>➤ Sin componente lácteo, con aire batido. <i>Sorbete</i></li> <li>➤ Sin componente lácteo, sin aire batido.</li> </ul>
<p><b>Helado de crema</b></p> 	<p>El helado de crema carece de importancia, ya que solo se oferta en muy raras ocasiones. Este helado se fabrica muchas veces agregando huevo, como por ejemplo al obtener productos con la denominación de "al estilo pastelería"<sup>c</sup>.</p>
<p><b>Helado de nata</b></p> 	<p>El helado de nata debe contener como mínimo un 60% de ésta. Ella da como resultado un helado con alta cantidad de grasa, 18%<sup>b</sup>.</p>
<p><b>Helados especiales</b></p>	<p>Dentro de esta clase de helados se encuentran los siguientes<sup>a</sup>:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>Helados de dieta</i></li> <li>➤ <i>Helado de yogurt</i></li> <li>➤ <i>Helado blando</i></li> </ul>

**Fuente:** <sup>a</sup>Goof y Hartel, 2013; <sup>b</sup>Marshal, Goof y Hartel, 2003; <sup>c</sup>Arbuckle, 1999, <sup>d</sup>Clarke, 2004

#### 1.3.4. Ingredientes de la mezcla del helado.

Para elaborar un helado de la más alta calidad, es necesario tener ingredientes de buena calidad, la mezcla tiene que ser formulada y balanceada para proveer la funcionalidad apropiada en cada uno de los componentes (Goff y Hartel, 2013). El

sabor fresco y cremoso deseado, solo se puede conseguir mediante el uso de ingredientes que son seleccionados cuidadosamente (Marshall *et al.*, 2003).

Los ingredientes del helado son clasificados en 3 grupos:

**1. Ingredientes principales** (presente en cantidades sustanciales):

- *Proteína láctea*: La proteína láctea tiene 2 funciones importantes en el helado. En primer lugar, son capaces de estabilizar emulsiones y espumas. En segundo lugar, contribuyen al característico sabor lácteo al helado (Arbuckle, 1999).
- *Azúcares*: Los azúcares tienen dos funciones en el helado. Hacen el producto más dulce y controlan la cantidad de hielo, concediendo al helado su suavidad (Clarke, 2004).
- *Grasas*: Durante la congelación del helado, la emulsión de grasa que existe en la mezcla se desestabilizará parcialmente teniendo como resultado de la acción emulsionante; la incorporación de aire, la cristalización de hielo y las altas fuerzas de cizallamiento de las cuchillas en el cilindro dinámico del congelador. Esta coalescencia parcial es necesaria para dar la textura y la estructura del helado, la cual es similar a la de una crema batida (Goff y Hartel, 2013).
- *Agua*: El agua es el medio en el cual todos los ingredientes sean disueltos o dispersados. Durante el congelamiento y endurecimiento la mayor parte del agua es convertida en hielo (Arbuckle, 1999; Clarke, 2004).

**2. Ingredientes secundarios** (presentes en pequeñas cantidades):

- *Emulsificantes*: Su función difiere notablemente de los estabilizantes. Son usados para; mejorar el batido de la mezcla, producir helados secos y rígidos, aumentar la resistencia y la fusión rápida y proporciona la textura suave en el producto terminado (Marshall *et al.*, 2003; Goff y Hartel, 2013).

- **Colores:** Los colores son agregados para resaltar el color existente y para asegurar la uniformidad del mismo entre lotes (Arbuckle, 1999).
- **Sabores:** Son utilizados como soluciones de compuestos de aromas y sabor. Algunos son liposolubles y otros son solubles en agua. Son obtenidos de forma natural o artificial (Clarke, 2004).
- **Estabilizantes:** Los estabilizantes tienen diversos efectos benéficos durante la elaboración, almacenaje y el consumo del helado. Algunos de estos efectos no son específicos, es decir, se logran aumentando la viscosidad de la fase matriz, independientemente del estabilizador utilizado. Los principales propósitos de los estabilizantes son:
  - Para ayudar en la suspensión de la partícula de los sabores.
  - Para producir una espuma estable.
  - Produce suavidad en la textura durante el consumo.
  - Facilitar la incorporación de aire durante el proceso.
  - Ayuda a producir una espuma estable.
  - Reduce la tasa de fusión.
  - *Para retardar o reducir el crecimiento de hielo y cristales durante períodos de fluctuación de temperatura.*

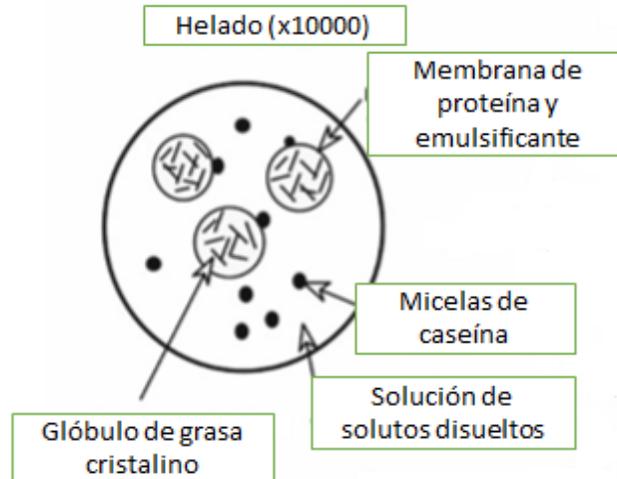
Entre lo estabilizante más utilizados se encuentran; alginato de sodio, carragenina, goma de algarrobo, *pectina*, xanthana y grenetina (Clarke, 2004; Goff y Hartel, 2013).

**3. Ingredientes terciarios:** tales como chocolate, galletas, trozos de fruta y nueces que combinan con el helado para hacer nuevos productos (Arbuckle, 1999).

### 1.3.5. Cristalización.

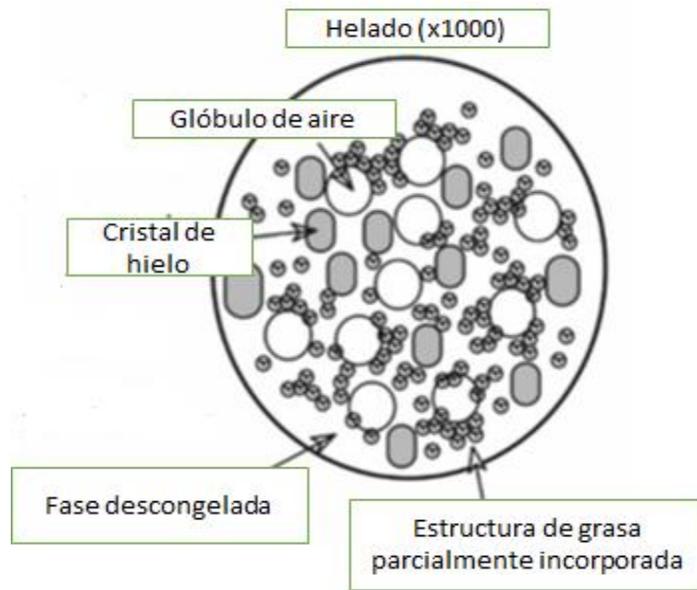
La cristalización es el proceso en el cual los cristales de hielo son formados en la pared de una superficie rasposa (Huynh *et al.*, 2014). Este proceso es considerablemente importante en muchas industrias como la del chocolate,

mantequilla, margarina, crema batida y helados. Para obtener productos con atributos sensoriales específicos, se deberá controlar la cristalización (Ulloa *et al.* 2013). En productos como los helados debe existir un punto de congelamiento lo más alto posible para permitir el acomodo y la formación de pequeños cristales (Schmidt *et al.* 2010). Los mejores helados en el mercado tienen una textura suave y cremosa desde la mezcla, la estructura de la mezcla se puede apreciar en la Figura 11. La textura cremosa, está asociada primordialmente en el alto contenido de grasa, también está determinada, en parte, por el tamaño de cristal (Cook y Hartel, 2010). La suave textura y sensación de frescura percibida por el consumidor mientras come helado son debidas al tamaño, número y la forma del cristal presentes en el producto (Hartel, 1996).



**Figura 11.** Estructura de mezcla de helado.  
Fuente: Goff y Hartel, 2013.

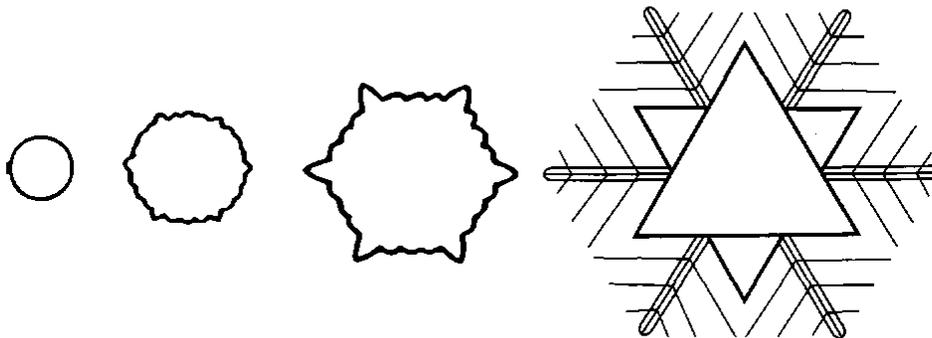
Después de la primera congelación, aproximadamente la mitad del agua ha sido congelada, como se muestra en la Figura 12, lo cual depende del punto de congelación de la mezcla (Huynh *et al.*, 2014).



**Figura 12.** Estructura de helado.

Fuente: Goff y Hartel, 2013.

El agua puede existir en varias formas cristalinas que dependen de la temperatura y la presión a la que esté sometida. A presión atmosférica la congelación del agua hace cristales de estructura hexagonal (Orrego, 2008), un ejemplo de su crecimiento se muestra en la Figura 13.



**Figura 13.** Crecimiento de cristales de hielo en agua, subenfriamiento creciente de izquierda a derecha.

Fuente: Orrego, 2008.

Muchos de los cristales se trasladan de la pared al interior de la mezcla donde comienza el crecimiento del cristal. En un helado típico, la temperatura causa una fuerza impulsora importante para la nucleación en la pared del cilindro en el cual se está llevando a cabo el proceso (Schmidt *et al.*, 2010).

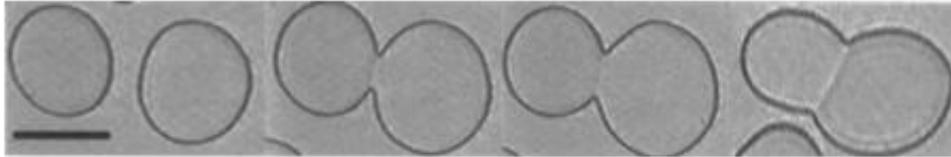
La formación de la cantidad correcta de cristales de hielo durante el congelamiento no es suficiente para garantizar un producto con alta calidad. El promedio del tamaño y distribución del tamaño de los cristales tienen un gran impacto en las características del helado (Goof y Hartel, 2013). El rango de tamaño de cristal es de 1 a 15  $\mu\text{m}$  de diámetro, con un promedio de tamaño de 35  $\mu\text{m}$  (Cook y Hartel, 2010). Los cristales largos (mayores de 50  $\mu\text{m}$ ) imparten una textura arenosa al helado, mientras que los cristales pequeños (alrededor de 10 a 20  $\mu\text{m}$ ) dan al helado una textura cremosa deseada (Marshall *et al.*, 2003).

Esta característica también es importante en la vida útil del helado. Mientras el helado se encuentra en almacenamiento, los cristales aumentan de volumen solo en cuanto exista el crecimiento de los mismos, esto ocurre durante recristalización (Cook y Hartel, 2010).

### **1.3.6. Recristalización.**

La recristalización puede ser definida como “cualquier cambio en el número, tamaño, figura, orientación, o perfección del cristal tras el término de la solidificación inicial” (Fennema, 2000). Este fenómeno ocurre principalmente debido a dos mecanismos (Schmidt *et al.*, 2010).

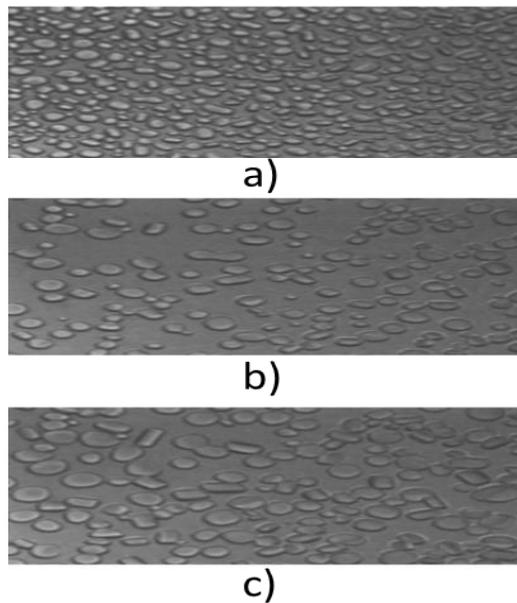
La coalescencia, Figura 14, es juntar dos o más cristales adyacentes para formar uno solo, un cristal más grande. Este proceso requiere que los cristales estén situados cerca uno del otro, ya que esto impide su movimiento (Clarke, 2004).



**Figura 14.** Coalescencia.

Fuente: Clarke, 2004.

La migración (maduración Ostwald), Figura 15, involucra el derretimiento de pequeños cristales y el movimiento del líquido derretido a la superficie de los cristales más grandes. El mecanismo es influenciado por la temperatura del producto. En altas temperaturas, los cristales pequeños se derriten parcialmente y cuando la temperatura se vuelve a bajar, el líquido vuelve a congelarse generando cristales de mayor tamaño (Schmidt *et al.*, 2010).



**Figura 15.** Maduración Ostwald, a) Cristales a  $-10^{\circ}\text{C}$ , b) calentamiento a  $-7^{\circ}\text{C}$ , los cristales más pequeños se derriten, c) después enriado a  $-10^{\circ}\text{C}$ , los cristales se forman de nuevo, los cuales se convierten en cristales grandes.

Fuente: Clarke, 2004.

Los estudios de la recristalización han sido tradicionalmente hechos por 2 métodos tradicionales, ya sea por fotomicroscopia o por microscopio de escaneo de electrones, más que en pruebas *in situ* de tridimensionales (Goff y Hartel, 2013).

Existen numerosos factores en el grado de recristalización, incluyendo los procesos de congelamiento y endurecimiento, condiciones de almacenaje y la composición del helado (Hartel, 1996).

Helados con excelente calidad pueden ser hechos, sin el uso de estabilizadores. Porque las proteínas de la leche y los productos lácteos pueden actuar como estabilizadores naturales, existen mezclas que contienen especialmente productos lácteos, los cuales también dándoles un tratamiento correcto con calor u otros tratamientos, producen en el helado una excelente calidad (Goff y Hartel, 2013).

## 2. OBJETIVOS.

**Objetivo general:** Evaluar el efecto de la pectina obtenida del tejocote por el método enzimático como estabilizante en la elaboración y en el almacenamiento de un helado de mamey.

### **Objetivos particulares**

**Objetivo particular 1.** Optimizar el proceso de extracción de pectina de tejocote por el método enzimático, variando el complejo y las cantidades utilizadas (Macerex marca ENEMEX: 3, 9 y 15  $\mu\text{L}$ ; Zymapect marca ENMEX: 0.5, 2.5 y 3.5  $\mu\text{L}$ ) para evaluar el rendimiento, las propiedades fisicoquímicas (grado de metoxilación y grado de esterificación) y químicas (% de ácido galacturónico y cenizas) de las pectinas para seleccionar la de mayor pureza y aplicarla en un helado de mamey.

**Objetivo particular 2.** Establecer la formulación para la elaboración de un helado de mamey variando las concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1 y 1.5%), evaluar las características físicas (overrun y estabilidad) y compararlo con un helado comercial.

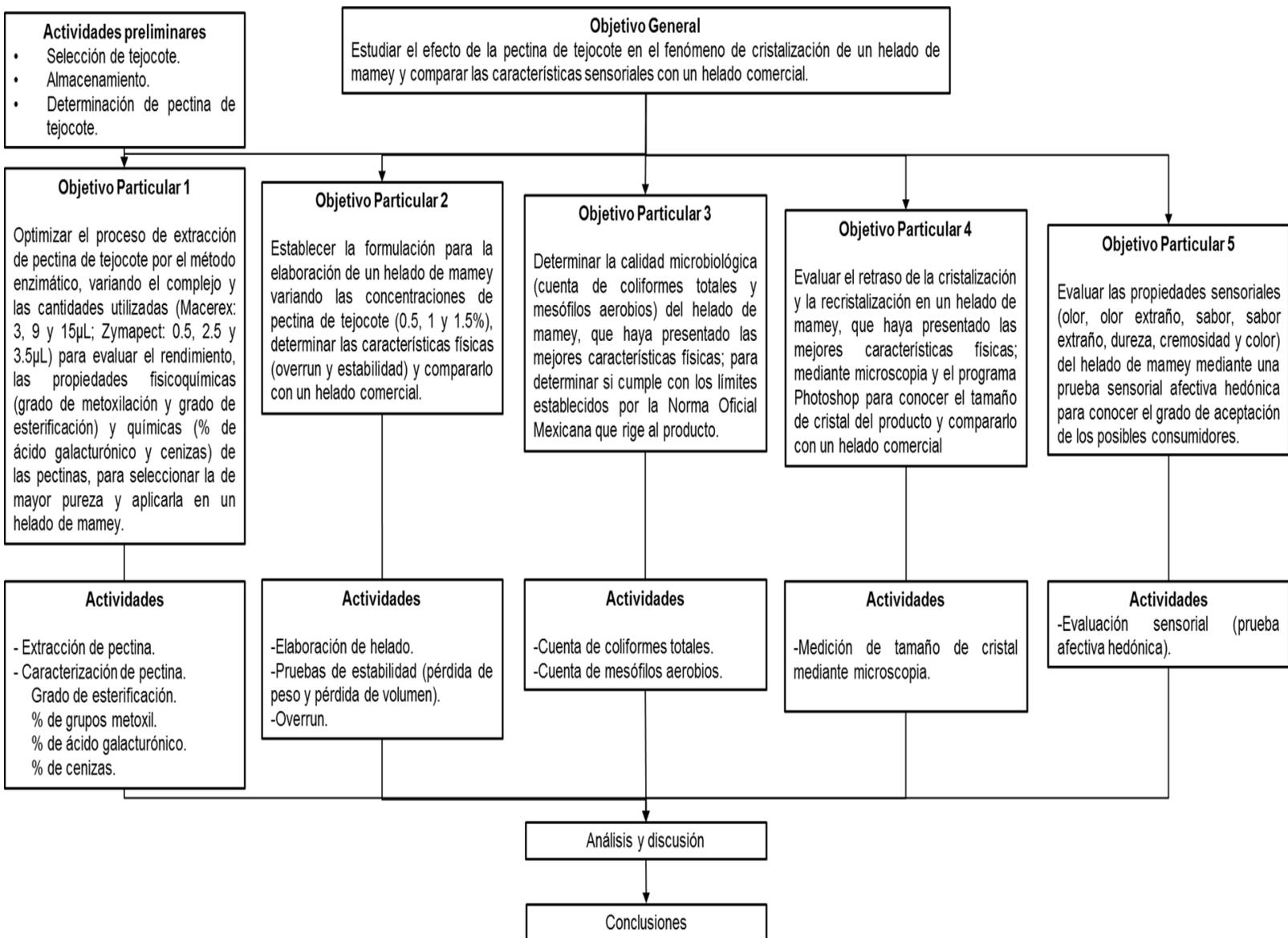
**Objetivo particular 3.** Determinar la calidad microbiológica (cuenta de coliformes totales y mesófilos aerobios) del helado de mamey, que haya presentado las mejores características físicas; para determinar si cumple con los límites establecidos por la Norma Oficial Mexicana que rige para este producto.

**Objetivo particular 4.** Evaluar el retraso de la cristalización y la recristalización en la formulación de helado de mamey, que haya presentado las mejores características físicas; mediante microscopía y el programa Photoshop para conocer el tamaño de cristal del producto y compararlo con un helado comercial.

**Objetivo particular 5.** Evaluar las propiedades sensoriales (olor característico, olor extraño, sabor característico, sabor extraño, dureza, cremosidad y color) del helado de mamey mediante una prueba sensorial afectiva hedónica para conocer el grado de aceptación de los posibles consumidores.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 3.1. Cuadro metodológico.



### 3.2. Material biológico.

El tejocote (*Crataegus spp.*) empleado fue originario del estado de Puebla adquirido en la central de abastos de la Ciudad de México (Figura 16). Una vez obtenido el fruto se procedió a una selección en donde se eliminaron aquellos que estuvieron dañados al igual que la materia extraña, como hojas y ramas; dejando solo el fruto con una madurez intermedia sin sobre maduración.



**Figura 16.** *Tejacote (Crataegus spp.)*

El mamey (*Mammea L.*) que se utilizó fue adquirido al igual que el tejocote en la central de abastos de la Ciudad de México, Figura 17. Este fruto fue despulpado y se eliminaron los frutos dañados, para ser utilizado como ingrediente en la elaboración del helado.



**Figura 17.** *Mamey (Mammea L.)*

Los complejos enzimáticos utilizados para la extracción de la pectina, fueron donados por la empresa ENMEX, la cual recomendó el uso de 75-120 mL de

complejo Macerex por tonelada y del complejo Zymapect de 15 a 40g (1  $\mu$ g=1  $\mu$ L) por tonelada (Figura 18) las cuales cuentan con las siguientes características:

**Zymapect:** Sistema de enzimas pectinolíticas grado alimenticio de la fermentación controlada de *Aspergillus niger*, especialmente para macerar la pulpa de la fruta antes de la obtención de jugo, este complejo está constituido por

- Pectinoliasa
- Pectin metilesterasa
- Poligalacturonasa

**Macerex:** Sistema obtenido por la fermentación controlada de *Aspergillus niger* y *Trichoderma reesi*. El cual está diseñado para maceración o licuefacción de ruta para maximizar la extracción de jugo y sólidos.



**Figura 18.** Complejos enzimáticos, Macerex y Zymapect.

### 3.3. Tratamiento de muestras.

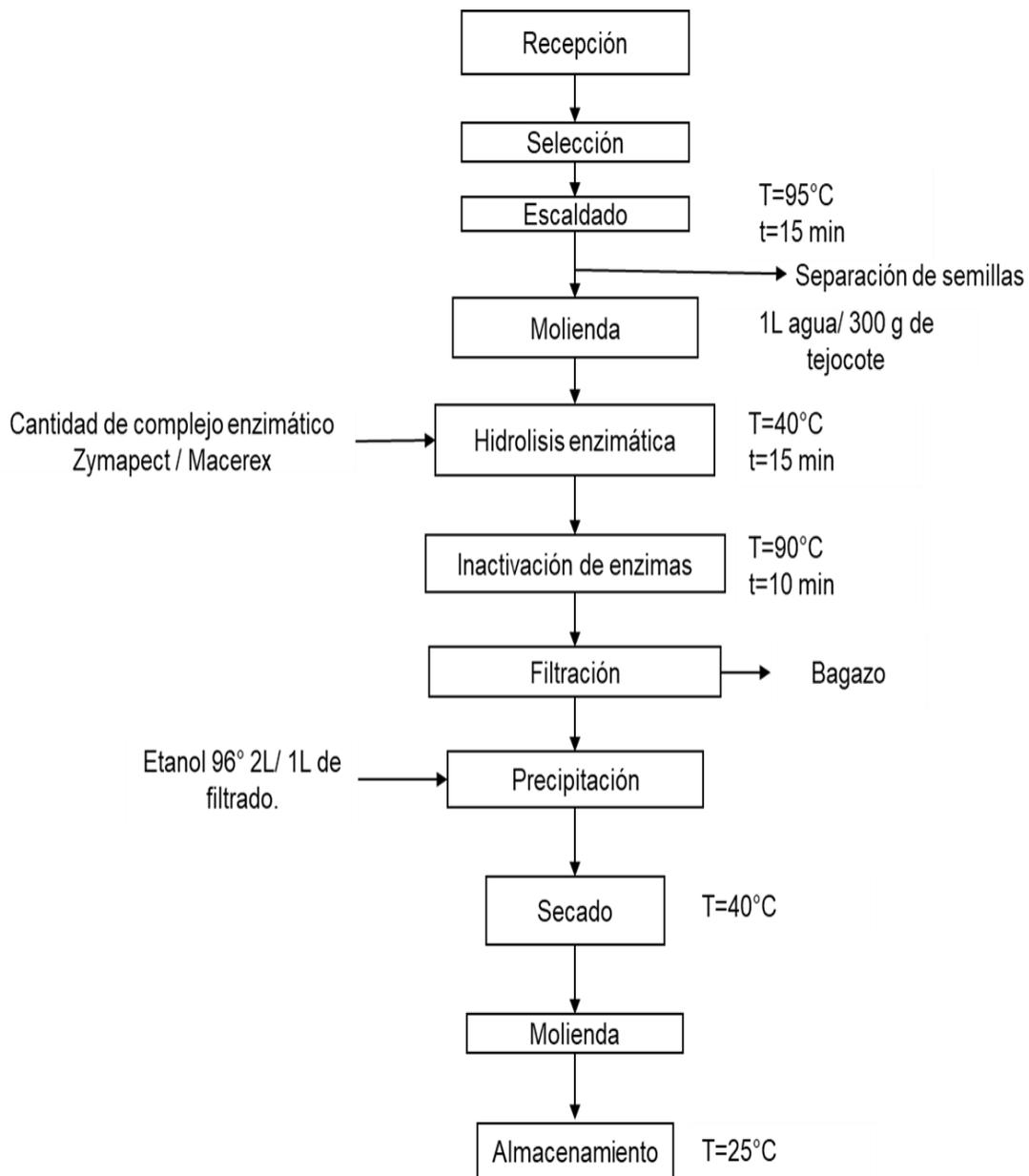
#### 3.3.1. Escaldado de tejocote.

Para poder emplear el tejocote se llevó a cabo la selección del fruto eliminando materia extraña (hojas y restos de ramas) y frutos no aptos (madurez muy avanzada), procediendo a lavarlo.

Consecuentemente se realizó un escaldado al fruto en una relación 1:3 (100g de tejocote: 300g de agua), durante 15 minutos a una temperatura de 95°C para inactivar la enzima polifenoloxidasas, evitando de esta manera el oscurecimiento enzimático durante la extracción de la pectina; después se separó manualmente la semilla del fruto y se llevó a almacenamiento a una temperatura de 4 °C. Para posteriormente realizar la extracción de pectina del tejocote.

### **3.3.2. Extracción de pectina de tejocote por el método enzimático.**

Para el proceso de extracción de pectina se llevó a cabo mediante el método de hidrólisis enzimática con la adición de compuestos: Macerex y Zymapect, agregados en diferentes cantidades (Macerex: 3, 9 y 15  $\mu\text{L}$ ; Zymapect: 0.5, 2.5 y 3.5  $\mu\text{L}$ ), siguiendo los pasos de la Figura 19.



**Figura 19.** Diagrama de proceso de la extracción de pectina por el proceso enzimático.

**Fuente:** Elaborado con modificaciones de González, 2014.

**Escaldado:** El tejocote se escaldó en agua a una temperatura de 95°C por 15 minutos, en una estufa marca IEM de 4 parrillas, posteriormente se llevó a un enfriado para poder extraer la pectina y congelar el producto.

**Molienda:** Una vez descongelado el tejocote, fue reducido a pulpa por medio de una molienda, en una licuadora marca Oster, en la cual se agregó un litro de agua por cada 300g de tejocote, a partir de esta pulpa se extrajo la pectina en presencia de concentrados enzimáticos: Macerex y Zymapect, para disociar la protopectina soluble y degradar la hemicelulosa y celulosa de la pared celular. La mezcla se mantuvo a un pH de 4.

**Hidrólisis:** La mezcla se calentó hasta alcanzar una temperatura óptima de cada complejo (40°C), en una estufa marca IEM de 4 parrillas, por 15 minutos de tratamiento. Se llevó a cabo en baño maría y al final elevar la temperatura hasta 90°C; con el propósito de inactivar las enzimas.

**Filtración:** Para filtrar la mezcla se empleó un lienzo (manta de cielo), recolectando el líquido, dejando enfriar hasta 25°C y se colocó en un recipiente.

**Precipitación:** El filtrado obtenido se mezcló en relación 1:2, filtrado - alcohol de 98°, se recolectó el coagulo formado mediante un nuevo filtrado.

**Secado:** Con la pectina en forma de gel obtenida de la extracción, se sometió a un proceso de secado, dentro de una estufa de secado marca LUZEREN, empelando una temperatura de 40°C.

**Molienda:** La muestra se trituró, en una licuadora marca Oster, y se almacenó en recipientes herméticos de vidrio para evitar que el producto capte humedad.

Para finalizar este procedimiento se calculó el rendimiento de la pectina del tejocote empleado en cada extracción que se llevó a cabo, mediante la siguiente ecuación:

$$R = \frac{m}{M} * 100 \dots \text{Ecuación 1}$$

R= % de rendimiento.

m= Peso de la pectina obtenida.

M= Peso total de la muestra de tejocote utilizada.

Se prosiguió con la caracterización de las propiedades fisicoquímicas (grado de metoxilación y grado de esterificación) y químicas (porcentaje de ácido galacturónico y cenizas) del polisacárido (pectina), para determinar que pectina se utilizaría en la elaboración del helado de mamey.

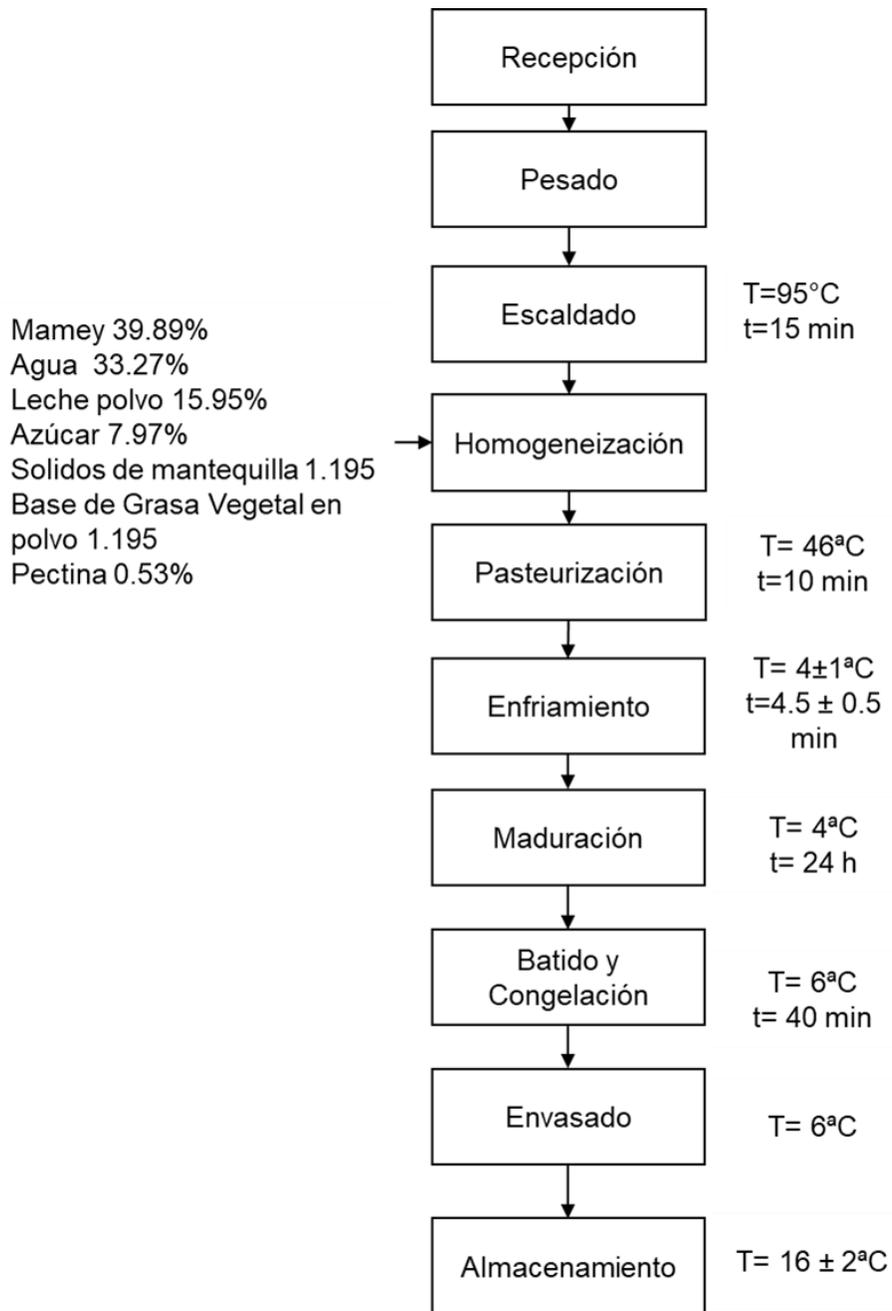
### 3.3.3. Elaboración de helado.

Para la elaboración del helado se propusieron tres formulaciones, las cuales se presentan la Tabla 7.

*Tabla 7. Formulaciones propuestas para la elaboración del helado.*

<b>Ingrediente</b>	<b>Formulación 1 (%)</b>	<b>Formulación 2 (%)</b>	<b>Formulación 3 (%)</b>
<b>Mamey</b>	39.89	39.71	39.47
<b>Agua</b>	33.27	33.09	32.93
<b>Leche en polvo</b>	15.95	15.86	15.78
<b>Azúcar</b>	7.97	7.93	7.89
<b>Base de Grasa Vegetal en polvo</b>	1.195	1.185	1.18
<b>Sólidos de mantequilla</b>	1.195	1.185	1.18
<b>Pectina</b>	0.53	1.04	1.57
<b>Total</b>	100	100	100

Continuando con la elaboración del helado siguiendo el procedimiento de la Figura 20.



**Figura 20.** Diagrama de proceso de helado.

**Recepción:** El agua, el azúcar y la leche en polvo fueron obtenidas de centros comerciales. Los sólidos de mantequilla y la grasa vegetal fueron proporcionados por la Empresa PROLACNI y el mamey fue comprado en la central de abastos de Iztapalapa de la Ciudad de México.

**Escaldado:** Se escaldó el mamey en agua a una temperatura de 95°C por 15 minutos, dejándose enfriar después del mismo.

**Homogeneización:** Se realizó una reducción de tamaño de los ingredientes durante 10 minutos, en una homogeneizadora marca Wiggeb Hauser.

**Pasteurización:** Una vez homogeneizada la mezcla, se calentó hasta llegar a la temperatura de 64°C durante 10 min, dicha operación se lleva a cabo mediante baño maría, en una estufa IEM de 4 parrillas.

**Enfriamiento:** Una vez cumplido el tiempo de pasteurización, se llevó a un enfriamiento hielo de grado alimenticio, pasando de 64°C a 4°C durante un tiempo de 5 min, realizando así un choque térmico que garantice la destrucción de microorganismos patógenos y la inactivación de algunas enzimas.

**Maduración:** La mezcla se almacenó en un refrigerador a una temperatura de 4°C durante 24 horas.

**Batido y congelación:** Se llevó a cabo un batido, con una batidora (marca Hamilton Beach), durante 10 minutos y posteriormente cumplido el lapso, la mezcla se vertió en un bote de acero inoxidable con una cubierta de madera. Dentro de la cubierta de madera se vierte hielo de grado alimenticio al que se le añadió sal de grano para prolongar el derretimiento del mismo; una vez preparado se colocó dentro de la cubierta de madera el bote de acero inoxidable y se comenzó a girar 180° de un lado a otro durante 40 min, logrando así la formación del helado.

**Envasado:** Una vez formado el helado se envasó en recipientes de plástico con sus respectivas tapaderas.

**Almacenamiento:** El almacenamiento se realizó en un refrigerador a una temperatura de 16°C.

### **3.3.4. Técnicas analíticas de pectina.**

#### **3.3.4.1. Determinación de pectina.**

La determinación de pectina siguiendo el procedimiento de la norma mexicana, *NMX-F-347-S-1980*, el cual se describe a continuación: Se molió la muestra de tejocote aproximadamente 50 g en una licuadora marca Oster y se colocaron en un vaso de precipitado, se añadieron 400 mL de agua; lo cual se puso a hervir durante una hora manteniendo constante el volumen.

El contenido resultante se transfirió a un matraz volumétrico de 500 mL y se diluyó hasta el aforo del mismo. Posteriormente se realizó una filtración y se tomaron alícuotas de 100 mL de esta solución y se añadieron 100 mL de agua y 10 mL de solución de hidróxido de sodio 1 N. Se dejó reposar durante 5 minutos, lentamente se añadieron 25 mL de solución de cloruro de calcio 1 N con agitación, lo cual se llevó a cabo en un termoagitador marca Cimarec, y se dejó reposar durante una hora.

La solución se calentó hasta ebullición, en una estufa de 4 parrillas marca IEM, y se filtró en caliente a través de papel filtro, a peso constante. El papel filtro se lavó con agua caliente hasta eliminar las trazas de cloruro, se transfirió a la estufa de secado (marca Luzeren) a una temperatura de 105°C por tres horas. Para finalizar se enfrió y se determinó su masa, obteniendo como resultado el porcentaje de pectina que se encuentra en el fruto

### 3.3.4.2. Grado de esterificación.

El grado de esterificación una característica química de la pectina, que determina su uso dentro de la industria alimentaria. El grado de esterificación depende del contenido de grupos metoxil, alto o bajo (Voragen *et al.*, 2009).

El grado de esterificación se determinó utilizando el método de evaluación de Schultz y Schweiger (1995) (recopilado por Loyola *et al.*, 2011); el cual consistió en evaluar una disolución de pectina (10 mL) al 1% con hidróxido de sodio 0.1N, usando fenoftaleína como indicador (valoración A) añadiendo 20 mL de hidróxido de sodio 0.5N, con el fin de desesterificar la pectina.

Posteriormente se añadió 20 mL de ácido clorhídrico 0.5N para neutralizar el hidróxido de sodio. Finalmente, La disolución se valoró con hidróxido de sodio 0.1N (valoración B). Dando paso a realizar el cálculo de la siguiente manera:

$$DE = \frac{B}{A+B} * 100 \dots \text{Ecuación 2}$$

Donde:

DE= grado de esterificación.

A= Valoración A mL de Hidróxido de sodio

B= Valoración B mL de hidróxido de sodio

### 3.3.4.3. Determinación de grupos metoxilo.

La velocidad de gelificación y solidificación de las moléculas de pectina, son relacionadas con los grupos metoxilo. El procedimiento de su determinación se presenta a continuación:

Se transfirieron 5 gramos de pectina a un vaso precipitados adecuado y se agitó por 10 minutos, en un termoagitador (marca Cimarec), con una mezcla de 5 mL de ácido clorhídrico y 100 mL de alcohol al 60% se transfiere a un embudo de Buchner (30 – 60 mL) aplicando vacío, y se lavó con 6 porciones de 15 mL de la solución de ácido clorhídrico y el alcohol al 60%.

Finalmente se lavó con 20 mL de alcohol, se secó por 1 hora a 40.5 °C. Posteriormente se dejó enfriar y se pesó. Posteriormente se transfirió exactamente un décimo del total del peso neto de la muestra seca y se mezclaron con 2 mL de alcohol, se adicionaron 100 mL de agua libre de dióxido de carbono, se insertó el tapón y se agitó manualmente hasta que la pectina estuvo completamente disuelta. Se adicionaron 5 gotas de indicador de fenolftaleína, posteriormente se tituló con hidróxido de sodio 0.5 N, y se agitó vigorosamente en un termoagitador (marca Cimarec), dejando reposar 15 minutos.

Después del reposo se adicionaron 20 mL de ácido clorhídrico 0.5 N, se agitó sin tapón hasta que desapareció el color rosa que aparecerá. Nuevamente se adicionó fenolftaleína, y se tituló con hidróxido de sodio 0.5N, hasta que un ligero color rosa apareció, se registró el valor como titulación de saponificación. Cada mL de hidróxido de sodio 0.5N consumido en la titulación de saponificación es equivalente a 15.22 mg de  $-OCH_3$  (González, 2014).

El porcentaje de grupos metoxilo se obtiene con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Metoxilo} = \frac{\text{Titulacion de saponificacion} * 15.22 * 100}{\text{mg de muestras}} \dots \text{Ecuación 3}$$

#### 3.3.4.4. Determinación de ácido galacturónico.

El ácido galacturónico es un ácido débil y es valorado con una disolución alcalina, es simple (Kertesz, 1951). Por lo tanto, se llevó a cabo una valoración con hidróxido de sodio (0.5N), siguiendo el procedimiento que se describe a continuación: se realizaron 2 titulaciones, en la cual cada mL consumido de hidróxido de sodio 0.5 N, en la titulación de grupos metoxilo, es equivalente a 97.07 mg de C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>.

Obteniendo el porcentaje de ácido galacturónico con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de ácido galacturónico} = \frac{(\text{titulación inicial} + \text{titulación final}) * 97.7 * 100}{\text{mg de muestra}} \dots \text{Ecuación 4}$$

#### 3.3.4.5. Determinación de cenizas.

Las cenizas son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por la volatilización o por las interacciones químicas entre los constituyentes (Pearson, 1993).

Se siguió el método mencionado en la Norma Mexicana, NMX-F-066-S-1978; en este método toda la materia orgánica se oxida a una temperatura que fluctúa entre los 550-600 °C. el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza (Nollet, 1996), obteniendo como resultado el porcentaje de cenizas que se encuentran en la pectina.

### 3.3.5. Técnicas analíticas de helado.

#### 3.3.5.1. Overrun.

El overrun es el cálculo del aire incorporado a un postre congelado; en los helados se debe tener un control estricto ya que esta característica está relacionada directamente con el rendimiento (Goof y Hartel, 2013).

Este parámetro se calculó basado en el peso de 1 L de la mezcla del helado y del helado ya formado. Un vaso de precipitado fue llenado con la mezcla del helado o el helado ya formado, los pesos se registraron; estos se obtuvieron por triplicado (Daw y Hartel, 2015).

$$\% \text{ de overrun} = \frac{\text{Peso de la mezcla} - \text{Peso del helado}}{\text{Peso del helado}} * 100 \dots \text{Ecuación 5}$$

#### 3.3.5.2. Estabilidad mediante pérdida de peso.

El método de estabilidad consiste en determinar la disminución del volumen de la espuma, en un tiempo fijo; debido al rompimiento de los glóbulos de aire, causando una pérdida de peso en el producto (Romero *et al.*, 2012).

Para la determinación se tomaron muestras de 3g de helado, de la cual se tomaron pesos durante 30 minutos en intervalos de 5 min, para determinar la pérdida de peso y saber que tan inestable es a temperatura ambiente.

$$\% \text{ de perdida de peso} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso final}} * 100 \dots \text{Ecuación 6}$$

### **3.3.5.3. Cristalización y recristalización.**

La estructura del helado está caracterizada principalmente mediante el análisis de la dispersión de la grasa y el tamaño de cristal y las burbujas (Goff y Harlet, 2013), las pruebas fueron realizadas después de la elaboración del helado y después de haber sido almacenado nuevamente en el congelador, con la ayuda de un microscopio estereoscópico (modelo LEICA EZ4D). con este equipo se midió el tamaño del cristal en los helados elaborados. Se tomó una muestra ligeramente delgada. Las imágenes capturadas fueron transferidas a un programa de análisis (Goff y Harlet, 2013), el cual mostró como resultado el tamaño de cristal en milímetros.

### **3.3.5.4. Cuenta de microorganismos coliformes totales.**

La cuenta de coliformes totales se llevó a cabo por medio de placa; basado en el procedimiento de la *NOM-113-SSA1-1994*, el cual nos permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en nuestra muestra.

El fundamento consiste en que el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo bilis) en él se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h, dando como resultado a la producción de gas y ácidos orgánicos, los cuales viran el indicador de pH y precipitan sales biliares. Expresando los resultados en UFC (unidades formadoras de colonias).

### **3.3.5.5. Cuenta de bacterias aerobias en placa.**

La determinación cuenta de mesófilos aerobios se llevó acabo siguiendo la *NOM-092-SSA1-1994*, la cual nos proporciona el método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

El fundamento de la técnica consiste en contar las colonias, que se desarrollan en el medio de elección (agar nutritivo) después de un cierto tiempo (48 h) y temperatura de incubación (35°C), presuponiendo que cada colonia viene de un microorganismo de la muestra bajo estudio. El método admite numerosas fuentes de variación, algunas de ellas controlables, pero sujetas a la influencia de varios factores. Los resultados se expresan en UFC (unidades formadoras de colonias).

#### **3.3.5.6. Evaluación sensorial.**

Para determinar la aceptación del consumidor se realizó una prueba escalar, teniendo como base el método afectivo de escala hedónica y con el apoyo del programa IBM SPSS Statistics, con el cual verificamos si existe diferencia significativa entre los productos y las características evaluadas por los panelistas.

Las pruebas escalares de tipo afectiva son las que se utilizan con el propósito de conocer el nivel de agrado o desagrado de un producto, esto es en qué medida el mismo gusta o no. La escala hedónica recoge una lista de términos relacionados con el agrado o no del producto por parte del consumidor. Pueden 5 o hasta 11 puntos variando desde el máximo nivel de gusto máximo nivel de disgusto y cuenta con un valor medio neutro, a fin de facilitar al juez la localización de un punto de indiferencia (Espinosa, 2007).

Esta prueba se realizó con jueces de tipo afectivo (individuo que no puede ser seleccionado ni adiestrado, son consumidores elegidos al azar), la prueba fue realizada dentro de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. El cuestionario para la evaluación sensorial de los helados de mamey con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5%, 1.0% y 1.5%) se puede apreciar en la Anexo1 y la Anexo 2 el cuestionario para la comparación del helado de mamey con pectina de tejocote con un helado comercial (Häagen-Dazs).

## 4. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.

### 4.1. Determinación de pectina.

El tejocote es un fruto subvalorado, ya que solo se consume en temporada decembrina y en pocos platillos, por ello el aprovechamiento de este fruto abre una oportunidad para su empleo y comercialización. Determinar el contenido de pectina en el tejocote es necesario para poder verificar que sea una buena fuente de dicho compuesto y con ello proponer las mejores alternativas de obtención.

Para evaluar si el contenido de pectina es alto dentro del tejocote se comparó, con referencias bibliográficas y con un control positivo (pectina de cáscara de naranja). En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos experimentalmente y bibliográficamente.

**Tabla 8.** *Contenido de pectina en cascara de naranja y tejocote.*

Material biológico	% de pectina obtenido	% de pectina bibliográfico	Referencia
Cáscara de naranja	1.04±0.085a	2.92- 4.57	(Ferreira, 1996)
Tejocote	7.59±0.146b	2.15	(González, 2014)

*Los signos ± hacen notar la desviación estándar de los resultados mientras que las letras que se muestran a un costado de la columna indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas*

El contenido de pectina en el tejocote fue 6 veces mayor (7.59%) en comparación con el obtenido en la cáscara de naranja, presentando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). Ferreira (1996), obtuvo un intervalo de pectina en la cascara de naranja entre 2.92 - 4.57%, mientras que en este trabajo estuvo 1% por debajo del valor mínimo y 3.5% del valor máximo del reportado por el autor antes mencionado, esto debido al pretratamiento que Ferreira realizó al producto. Mientras que el contenido de pectina en el tejocote reportado en este trabajo fue 3 veces mayor que el obtenido por González (2014), el cual reporta una concentración de 2.15%, la diferencia de

dicho contenido puede estar relacionado con el estado de madurez del fruto al momento de realizar la determinación.

## **4.2. Caracterización de pectina.**

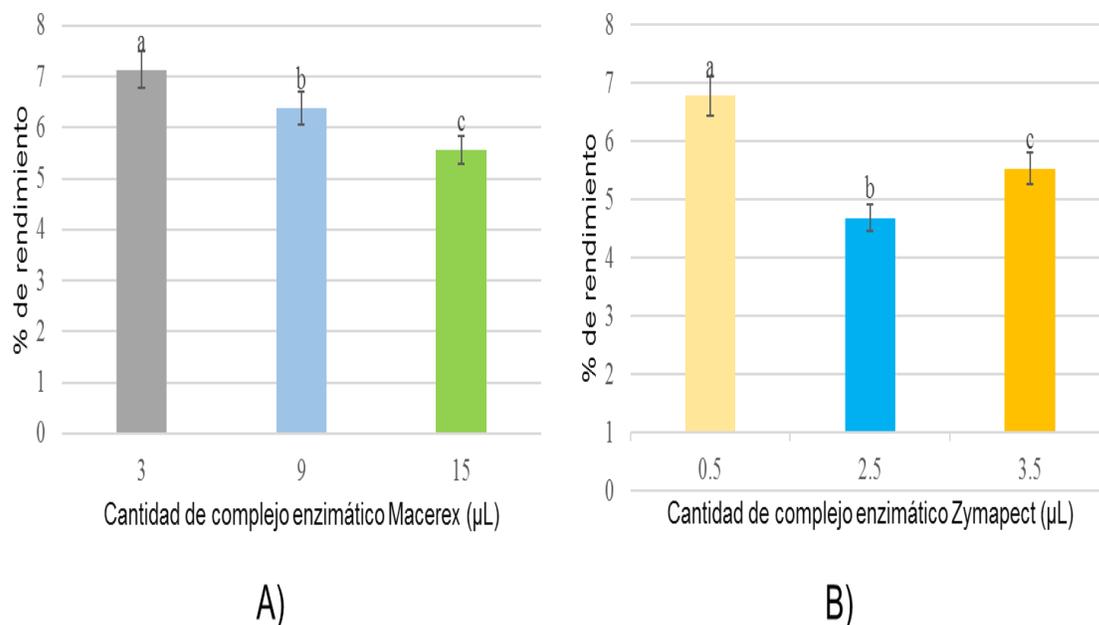
### **4.2.1. Rendimiento de pectina de tejocote con diferentes concentraciones de complejo enzimático.**

Como se mencionó anteriormente se obtuvo el % de pectina que contiene el tejocote por un método tradicional, sin embargo se propuso realizar la extracción de pectina por método enzimático para tener un concentrado de pectina más puro, ya que la extracción enzimática de compuestos como la pectina en residuos vegetales reduce el impacto ambiental causado por emisiones de carbono y disminuye costos derivados de la producción industrial, mencionado por Echeverry y Ruiz (2014), citado por Agencia de noticias UN (2014); en el presente proyecto se utilizaron 2 complejos enzimáticos a diferentes concentraciones (Macerex; 3, 9 y 15  $\mu\text{L}$ ; Zymapect: 0.5, 2.5 y 3.5  $\mu\text{L}$ ).

La figura 21 (A) se puede observar que existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el rendimiento de la pectina obtenida, siendo el tratamiento con una cantidad de 3 $\mu\text{L}$  de complejo enzimático Macerex el que presentó el mayor rendimiento (7.13%); seguido por la extracción con una cantidad de 9 $\mu\text{L}$  con diferencia del 10% 6.38% y por último la cantidad de 15 $\mu\text{L}$  con 5.55% de rendimiento. Esto puede deberse a que a mayor concentración de complejo enzimático se produce degradación de las cadenas ácido galacturónico, las cuales conforman a la pectina.

En caso de la pectina extraída por medio de hidrólisis enzimática con el complejo Zymapect, los resultados se muestran en la Figura 21 (B), la tendencia resultante del rendimiento es diferente ya que la concentración que obtuvo una menor cantidad de rendimiento fue con la cantidad de 2.5 $\mu\text{L}$  obteniendo como resultado 4.69%. La

cantidad de 0.5  $\mu\text{L}$  fue quien obtuvo un mayor rendimiento con 6.77%. En cuanto a la concentración mayor obtiene como resultado 5.53%. Las variaciones de los resultados entre complejos pueden ser debido a la obtención de los complejos; ya que el complejo Macerex es obtenido mediante una fermentación controlada de *Aspergillus niger* y *Trichoderma reesi* y en el caso del complejo Zymapect es solo de *Aspergillus niger*.



**Figura 21.** Rendimiento de pectina de tejocote extraída con los diferentes complejos (Macerex y Zymapect). A) Rendimiento de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) rendimiento de pectinas extraídas con el complejo Zymapect.

Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas

Los intervalos de rendimiento se encuentran entre 4.69% a 7.13%, siendo el complejo Zymapect a concentración de 2.5  $\mu\text{L}$  quien obtiene el rendimiento más bajo y el complejo Macerex a una concentración de 3  $\mu\text{L}$  es con la que se consiguió un mayor rendimiento (7.13%), éste último no mostró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con el rendimiento conseguido por el complejo Zymapect con una cantidad de 0.5  $\mu\text{L}$  con 6.77%, por lo que se concluye que a menor cantidad de complejo enzimático se tendrá mayor rendimiento.

Estos resultados comparados con lo obtenido por González (2014), muestran una diferencia entre 3 y 4% de rendimiento menor del autor, esto atribuyendo a la diferente madurez del fruto utilizado en el proyecto del autor mencionado, teniendo él como resultados; Macerex 10.3% y Zymapect 10.15%. Mientras que Aceves, *et al.*, (1987), quienes extrajeron la pectina de tejocote por el método de hidrólisis ácida, presentan un resultado de 35.17% de rendimiento, al igual que Higareda *et al.* (1995), teniendo 28% de rendimiento mayor que el resultado de esta experimentación el cual fue de 7.13%.

#### **4.2.2. Determinación de grados de esterificación.**

El grado de esterificación de los grupos carboxilos de los residuos de ácido urónico con alcohol metílico es un factor importante que caracteriza las cadenas de pectina. Las pectinas principalmente se obtienen en forma altamente esterificada, pero experimentan desesterificación después de insertarse en la pared celular (Vian, 2006).

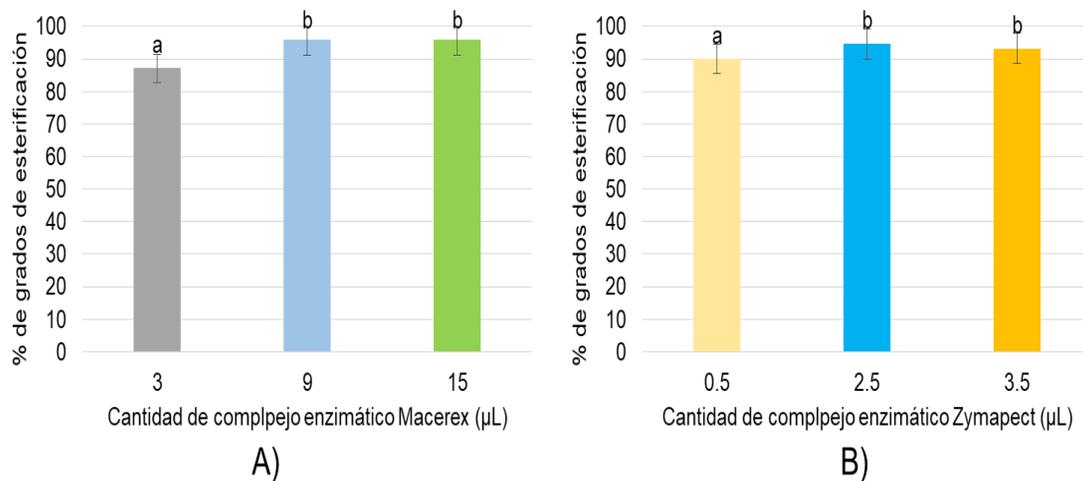
El grado de esterificación depende de la especie, tejido y madurez. En general las pectinas del tejido tienen una gama de grados de esterificación que va del 60 al 90%. El grado de metilación tiene como consecuencia un aumento en la cohesión, que es particularmente evidente en tejidos que son sometidos a calor. En estos tejidos se da la combinación de un incremento de los enlaces calcio y un decremento de la susceptibilidad de la pectina a despolimerizarse con  $\beta$ -eliminación (Pagan, 2001). Con base en la importancia del grado de esterificación en este trabajo se propuso determinar esta característica química a la pectina obtenida mostrando los resultados en las gráficas siguientes (Figura 22).

En la Figura 22 (A), se observó que la pectina extraída por hidrólisis enzimática con el complejo Macerex con una cantidad de 15  $\mu$ L presentó mayor grado de

esterificación (95.98%); seguida de la pectina extraída con una cantidad de 9 $\mu$ L con 95.89% las cuales no mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). Mientras que, la pectina obtenida con el tratamiento con 3  $\mu$ L de complejo Macerex presentó un grado de esterificación del 87.18%, presentando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) siendo aproximadamente 10% menor con respecto a los otros tratamientos en grados de esterificación.

En el caso de las pectinas obtenidas con el complejo Zymapect, Figura 22 (B), se observa la misma tendencia de los resultados que en las pectinas extraídas con el complejo Macerex, de las cuales las pectinas obtenidas con las cantidades de 2.5 y 3  $\mu$ L, con valores de 94.53 y 93.14% respectivamente, los cuales no presentan diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de grado de esterificación.

Debido a que la tendencia fue similar en los resultados del porcentaje de grados de esterificación y no registró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los resultados del complejo Macerex con las cantidades de 9 y 15  $\mu$ L y con las cantidades de 2.5  $\mu$ L y 3.5  $\mu$ L del complejo Zymapect, cabe mencionar que la pectina extraída con el complejo Macerex con una cantidad de 15  $\mu$ L se obtuvo el valor máximo, el cual fue de 95.98%; en cuanto al resultado mínimo fue de 87.18% logrado con la cantidad de 3  $\mu$ L del complejo Macerex. Por lo que se pudo observar que en esta pectina existió una menor degradación del polisacárido en cuestión.



**Figura 22.** Grado de esterificación de la pectina de tejocote. A) Porcentaje de grados de esterificación de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de grados de esterificación de pectinas extraídas con el complejo Zymapect. Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas.

Bibliográficamente se encuentran que González (2014), obtiene utilizando los mismos complejos enzimáticos los siguientes resultados; Macerex 67.98% y Zymapect 68.1%; los cuales están 30% por debajo de los resultados del presente trabajo. Cabe mencionar que González (2014), resalta que el grado de esterificación es una característica propia del sustrato y que es importante señalar que es una determinante importante de la actividad de las diferentes enzimas.

Mientras que, Chasquibol *et al.*, (2008) obtienen un resultado de 88.79%, siendo en promedio 5% menor que el obtenido para las pectinas extraídas en este trabajo. Podemos hacer énfasis que los resultados de este trabajo y los trabajos citados, muestran diferencia entre ellos debido que las características de los frutos fueron diferentes, en cuestión de madurez y el tejido, ya que la especie es la misma, aunque en cuestión de los autores Chasquibol *et al.*, (2008) su fruto es de origen peruano y la extracción fue realizada por el método de hidrólisis ácida.

#### **4.2.3. Determinación de grupos metoxilo presentes en las pectinas obtenidas del tejocote.**

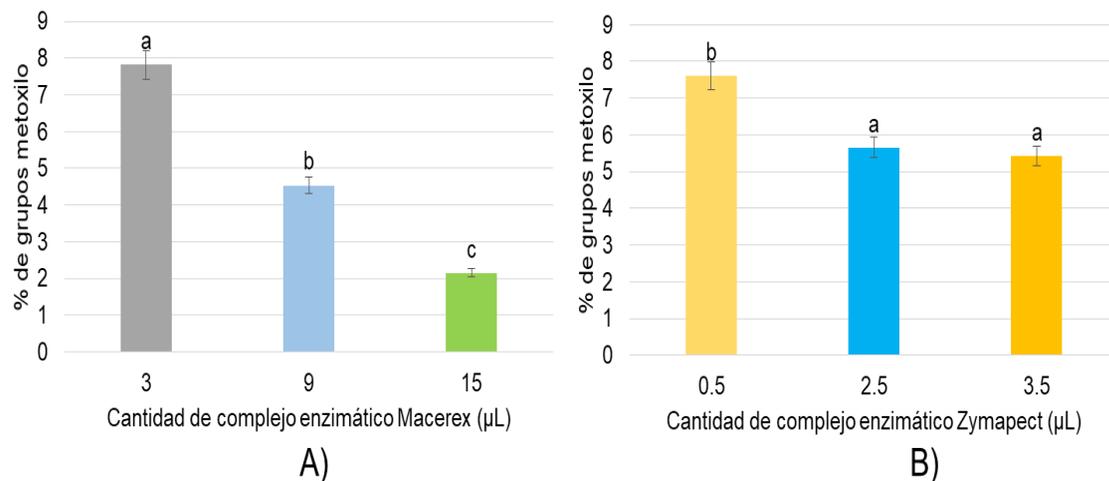
Las pectinas de las frutas, y en general de los materiales vegetales, varían en el contenido de metoxilo y poder de gelificación. El contenido de metoxilo en las pectinas comerciales se encuentra entre el 8 y 11%, estas pueden formar geles con un contenido de 65% de sólidos solubles (azúcares). También varían en la longitud de la cadena y los elementos involucrados en su estructura, lo cual compromete su capacidad de fluir (Ferreira, 2007). El porcentaje de metoxilo dentro de la pectina es un factor de calidad que nos indica que entre mayores grupos de metoxilo confiere mejor calidad en la función gelificante de la pectina, por lo que se determinó el porcentaje de grupos metoxilo en las pectinas de tejocote extraídas por el método enzimático dando a conocer los resultados en las gráficas de la Figura 24.

Debido a los resultados, que se muestran en la Figura 23, inciso A), se pudo determinar que existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los grupos metoxilo de las pectinas extraídas con el complejo Macerex, obteniendo con mayor porcentaje de grupos metoxilo la pectina extraída con la cantidad de 3  $\mu\text{L}$  con 7.82%, seguido por la cantidad de 9  $\mu\text{L}$  con 4.53% de grupos metoxilo y la concentración de 15  $\mu\text{L}$  con 2.15%, siendo esta última 5.67% menor que la pectina con mayor porcentaje de grupos metoxilo. Por lo que se pudo concluir que entre mayor concentración de este complejo menor será la cantidad de grupos metoxilo en la pectina.

Las pectinas extraídas por el método enzimático con el complejo Zymapect mostraron una tendencia similar; aunque al analizar los resultados; que se muestran en la Figura 23, inciso B); se visualizó que no existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las pectinas obtenidas con el complejo enzimático Zymapect a concentración de 2.5 $\mu\text{L}$ , con 5.65%, y a concentración de 3.5 $\mu\text{L}$  con 5.42% aunque ambas muestran diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con el resultado de la pectina obtenida

con la concentración de 0.5 $\mu$ L, la cual tiene como resultado 7.6%, y una diferencia de 2%.

La relación que muestran las tendencias de los resultados es que, a mayor concentración de complejo, se obtendrá menor contenido de grupos metoxilo en la cadena de la pectina de tejocote. Teniendo un intervalo de las 6 pectinas obtenidas de 2.15 a 7.82%, siendo estos de 3 y 15  $\mu$ L.



**Figura 23.** Grupos metoxilo presentes en la pectina de tejocote. A) Porcentaje de grupos metoxilo de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de grupos metoxilo de pectinas extraídas con el complejo Zymapect.

Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas.

En investigaciones realizadas por Aceves *et al.*, (1987), de la extracción de pectina de tejocote con diferentes estados de maduración (6.5 a 9 meses) mediante hidrólisis ácida, muestran un rango de porcentaje de grupos metoxilo de 6.56% a 9.32%. Mencionando que esto se debe a la acción enzimática que ocasiona la liberación de los grupos metoxilos que se encuentran interaccionando por medio de las fuerzas electrostáticas con complejos proteicos y carbohidratos. Por otra parte, en la investigación de Higareda *et al.*, (1995) se documenta que para la extracción de pectina del mismo fruto se obtiene un 8% de grupos metoxilo.

Investigaciones recientes elaboradas por Chasquibol *et al.*, (2008), logran para el mismo fruto un 14.55. En cuanto a la investigación del autor González (2014), quien utilizó los mismos complejos (Macerex y Zymapect) que, en el presente proyecto, variando los tiempos de residencia de cada uno de ellos obtiene como valor máximo 5.88% con el complejo Macerex durante 10 minutos. Los resultados obtenidos en este proyecto no son ajenos a los resultados obtenidos por cada uno de los autores mencionados, ya que la madurez del fruto juega un factor importante en la determinación de esta característica, teniendo como relación que, entre mayor madurez, mayor será la cantidad de grupos metoxilo que se encuentren y se notará en el poder gelificante de la pectina.

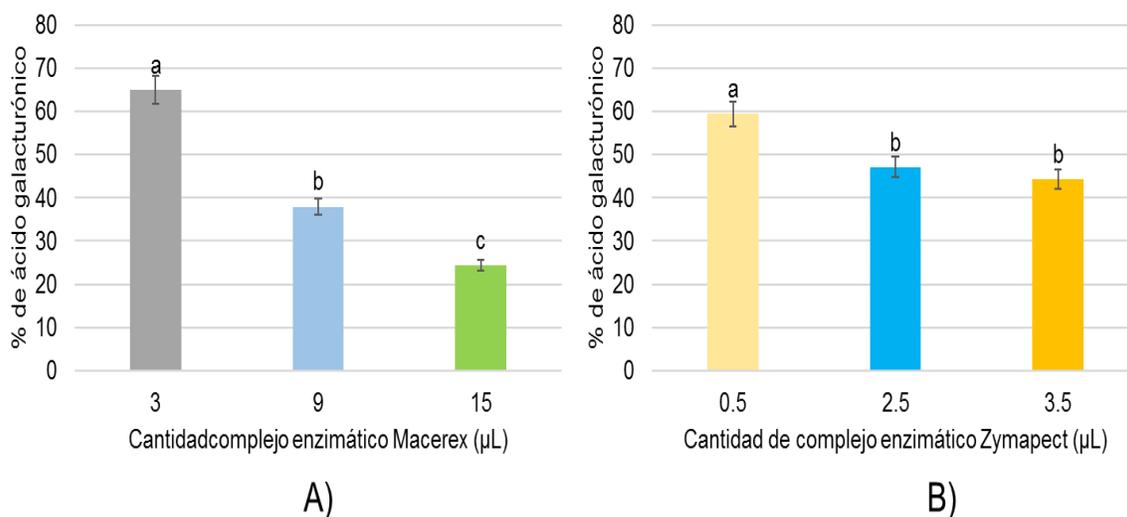
#### **4.2.4. Evaluación del porcentaje de ácido galacturónico presente en las pectinas de tejocote.**

Otra característica importante para la gelificación es el ácido galacturónico, el cual se encuentra en las pectinas acompañado de azúcares neutros que forman parte de la cadena de la pectina y por impurezas, que no son componentes de la misma; como es el caso de los minerales y pigmentos, así como de otros compuestos que dificultan la posible formación de gel (Paredes *et al.*, 2015). Debido a que esta característica es importante tanto para la pureza y la gelificación de la pectina, se caracterizó cada uno de los polisacáridos obtenidos para conocer qué porcentaje de ácido galacturónico contienen sus estructuras.

El porcentaje de ácido galacturónico presente en las pectinas extraídas por medio del método enzimático con el complejo Macerex muestra una tendencia descendente, tal como se muestra en la Figura 24 (inciso A). Teniendo con un porcentaje mayor de ácido galacturónico la pectina con una cantidad de 3  $\mu$ L con 64.91%, seguida por la cantidad de 9  $\mu$ L con 37.94% y por último la cantidad de 15  $\mu$ L con 24.33%; observándose diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los resultados obtenidos.

Los resultados de ácido galacturónico de las pectinas extraídas con el complejo Zymapect, como se observa en la Figura 24 (inciso B), tienen la misma tendencia y se observó que no hay diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los porcentajes de ácido galacturónico de las pectinas obtenida con las cantidades de 2.5 y 3.5  $\mu\text{L}$  presentando como resultado de este compuesto de 47.1%; y 44.24% respectivamente. Mientras que la pectina obtenida a una cantidad de 0.5  $\mu\text{L}$  presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a las otras dos con 59.36%, siendo esta la que obtuvo el mayor contenido de ácido galacturónico.

Las pectinas obtenidas con el complejo Macerex con una cantidad de 3  $\mu\text{L}$  y con el complejo Zymapect con la cantidad de 0.5  $\mu\text{L}$  fueron las que presentaron un mayor porcentaje de ácido galacturónico en su estructura con 64.91 y 59.36%. Al ser el ácido galacturónico una característica que influye en la pureza y en la formación de gel, podemos concluir que estas pectinas extraídas son aquellas que contienen mayor pureza y la facilidad de formar un gel con menor concentración de azúcares en el medio que se le establezca.



**Figura 24.** Porcentaje de ácido galacturónico presente en las pectinas de tejocote A) Porcentaje de ácido galacturónico de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de ácido galacturónico de pectinas extraídas con el complejo Zymapect. Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas.

González (2014), quien realizó la extracción de pectina por el método de hidrólisis enzimática utilizando los mismos complejos enzimáticos que se mencionan en este trabajo (Macerex y Zymapect), obtiene como resultado mínimo 45.52% y un valor máximo de 53.35%; y menciona que existe mayor pureza en las pectinas extraídas por el método enzimático dentro de su trabajo y que la presencia de la poligalacturonasa, en los concentrados enzimáticos utilizados, proporcionó una mayor despolimerización de las cadenas de ácido galacturónico presentes en la materia prima facilitando la extracción del polisacárido. En el año 2008, Chasquibol y colaboradores, realizaron una extracción por el método enzimático realizando un tratamiento previo al tejocote, obtienen 87.93% de ácido galacturónico en el mismo polisacárido. Estando 20% por encima del resultado de mayor contenido de ácido galacturónico del presente proyecto.

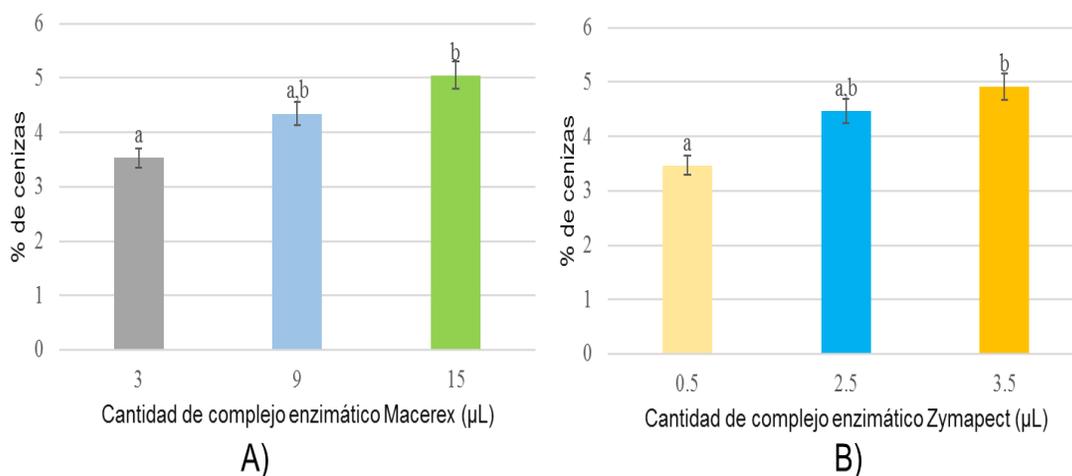
Mientras que Aceves *et al.*, (1987), quienes extrajeron la pectina de tejocote por el método de hidrólisis ácida, presentan un resultado de 74.84% de ácido galacturónico, al igual que Higareda *et al.*, (1995), siendo estos resultados 10% mayor que la pectina con mayor porcentaje obtenida en este trabajo.

#### **4.2.5. Determinación de contenido de cenizas en las pectinas.**

El alto porcentaje de ácido galacturónico y el bajo porcentaje de cenizas en la pectina son dos de los criterios que evalúan la pureza de las pectinas. El contenido de cenizas afecta la habilidad de la pectina a gelificarse (Miyamoto y Chang, 1992; citado por Chasquibol *et al.*, 2008). Porcentajes bajos de cenizas en la pectina son buenos para la formación del gel. El límite máximo de contenido de cenizas para el gel sea de calidad es de 10 % (Ismail *et al.*, 2012).

Como se muestra en la Figura 25, inciso A), la pectina extraída con el complejo Macerex muestra una tendencia ascendente. Obteniendo como resultado un valor mínimo en la pectina extraída con una cantidad de 3  $\mu\text{L}$  con 3.54%; la cual no muestra diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con el resultado de la pectina que se extrajo con una cantidad de 9  $\mu\text{L}$  con 4.35%. Esta a su vez a su vez no presenta diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con el porcentaje obtenido con la cantidad de 15  $\mu\text{L}$  (5.05%), siendo 1.51% mayor que la pectina con menor porcentaje de pectina (3  $\mu\text{L}$ ).

Las pectinas extraídas con el complejo Zymapect, muestran la misma tendencia que las pectinas extraídas con el complejo Macerex, tal como se puede apreciar en la Figura 25 (inciso B). Observándose diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de cenizas de cada uno de los tratamientos. Presentando los resultados de forma ascendente; a con una cantidad de 0.5  $\mu\text{L}$  se obtuvo 3.47%; con una cantidad de 2.5  $\mu\text{L}$ , 4.46%; y por último con la cantidad de 3.5  $\mu\text{L}$  se obtuvo un 4.91%, obteniendo 1.44% de porcentaje de cenizas que la pectina extraída con 0.5  $\mu\text{L}$ .



**Figura 25.** Contenido de cenizas presentes en las pectinas de tejocote extraídas con los complejos. A) Porcentaje de cenizas de pectinas extraídas con el complejo Macerex y B) Porcentaje de cenizas de pectinas extraídas con el complejo Zymapect. Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas.

Debido a la tendencia de ambas gráficas, se deduce que al existir mayor concentración de complejos interactuando con la pulpa de tejocote se conseguirá un mayor porcentaje de cenizas en la pectina. Siendo esta característica un factor importante para la pureza de este polisacárido se concluye que las pectinas extraídas con el complejo Macerex con una cantidad de 3  $\mu$ L y con el complejo Zymapect con una cantidad de 0.5  $\mu$ L son las que mayor pureza tuvieron, a pesar de que mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre sí. Es necesario recalcar que, en los 6 casos, las pectinas obtenidas no superaron el 10% de cenizas que se establece como límite máximo para este producto y son aptas para su uso. Se decidió utilizar la pectina extraída con 3  $\mu$ L de complejo enzimático Macerex, como estabilizante para la elaboración del helado de mamey, ya que el polisacárido obtuvo un mayor porcentaje de ácido galacturónico (64.91%) y menor porcentaje en cenizas (3.53%), teniendo el conocimiento que ambos son características que le imparten calidad a la pectina siendo considerada de alta pureza.

González (2014), quien realizó la extracción de pectina por medio de hidrólisis enzimática, con los mismos complejos (Macerex y Zymapect), obtuvo un valor mínimo de 3.18% con el complejo Macerex y un valor máximo de 3.29% con el complejo Zymapect, los resultados fueron obtenidos con un tiempo de residencia de los complejos de 10 min durante la hidrólisis y comparados con los límites permisibles con los del CODEX que establecen que las pectinas deben contener un porcentaje menor o igual a 10%. Comparando estos resultados con los obtenidos en la experimentación se detecta que existe un 0.3% de diferencia con el valor más bajo obtenido con el complejo Zymapect a baja concentración (0.5  $\mu$ L). En cuanto a Chasquibol *et al.*, (2008), dándole un tratamiento previo al fruto, tiene un resultado de 3.89%; teniendo como diferencia 0.3% con la pectina obtenida con concentración baja de Macerex. Resaltando que la extracción de pectina por medio de la hidrólisis enzimática, obtiene resultados por debajo del 10% de valor máximo que puede contener este polisacárido.

Mientras que en investigaciones en años 80 y 90, Higareda *et al.*, (1995) y Aceves, *et al.* (1987), realizadas por medio de hidrólisis ácida obtienen como resultado

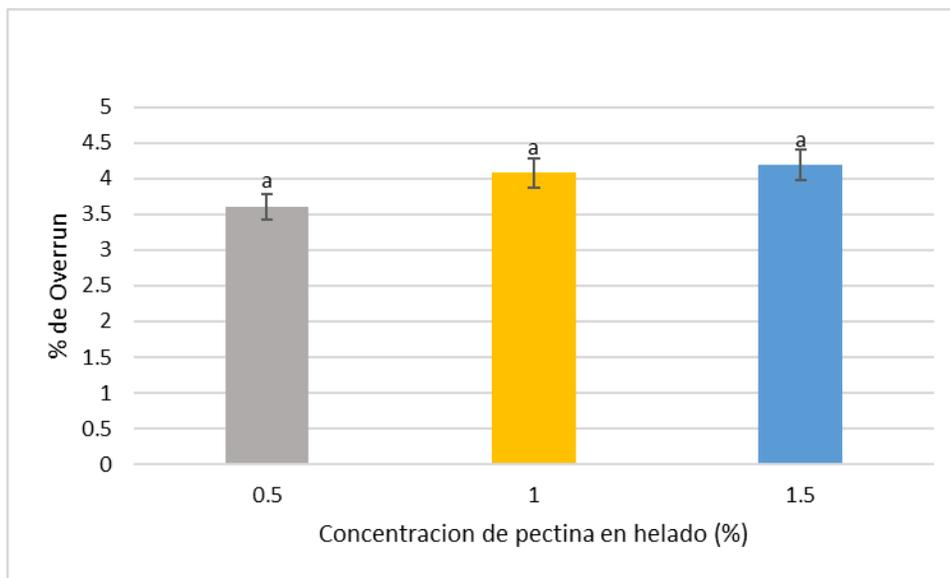
1.59%. Estos resultados aproximadamente 2% por debajo del valor más bajo obtenido del presente proyecto.

### **4.3. Caracterización de helado de mamey con pectina de tejocote como estabilizante.**

#### **4.3.1. Evaluación de overrun del helado de mamey.**

La dureza del helado es afectada por factores como el overrun, el tamaño de cristal, el volumen en la fase congelada y la desestabilización de la grasa (Sofjan y Hartel, 2004). Debido a que el overrun es el aire incorporado a la mezcla previa, se convierte en un factor importante que afecta las propiedades físicas y sensoriales, al igual que la estabilidad durante el almacenamiento (Ludvigsen, 2011).

El comportamiento del overrun generado por cada formulación de helado de mamey, se presenta en la Figura 26, el cual mantiene una tendencia ascendente y de igual forma estos resultados no presentaron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). Teniendo como valor mínimo de 3.61% siendo este el resultado del helado con menor concentración de pectina (0.5%); seguido por el helado con 1.0% de contenido de pectina con una pérdida de peso de 4.08%; y finalmente se obtuvo un valor máximo de 4.19% en el helado que contenía la concentración más alta de pectina de tejocote (1.5%).



**Figura 26.** Comparación de overrun de helado de mamey, con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%) como estabilizante.

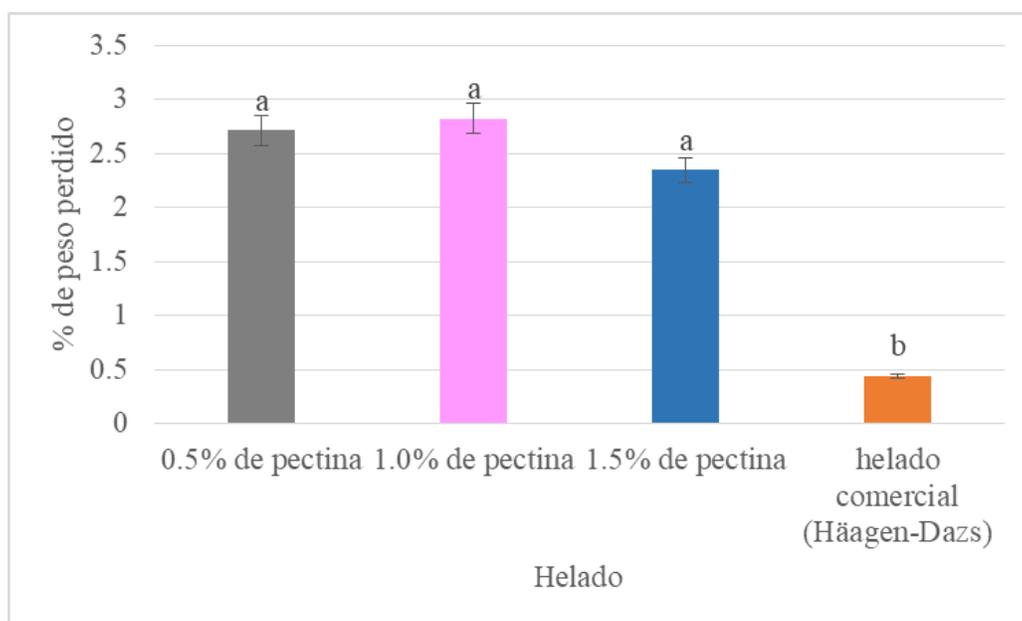
Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas

Al no mostrar diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los resultados de overrun se puede considerar que el polisacárido utilizado no influye en la incorporación del aire a la mezcla del helado.

#### 4.3.2. Evaluación de estabilidad por el método de pérdida de peso.

Alimentos congelados aireados, tales como helados, consisten aproximadamente en 50% de aire en su volumen, disperso como discretas burbujas de aire de un diámetro de 50 a 100  $\mu\text{m}$ . Mantener una fase airosa estable es importante para la calidad y los atributos sensoriales del helado. Sin embargo, las espumas son inherentemente inestables en numerosos puntos antes del consumo real: 1) cuando sale del congelador existe un crecimiento de la burbuja de aire al momento que vuelve a su estado de congelación, 2) la temperatura y la fluctuación de la presión durante un mal almacenamiento y las condiciones de distribución nos lleva a la coalescencia de las burbujas de aire (Green *et al.*, 2013).

Como se muestra en la Figura 27 el helado comercial presentó diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), con los resultados de los helados de mamey adicionados con pectina de tejocote con estabilizante, obteniendo un valor de 0.44%. En cuanto a lo obtenido de las diferentes formulaciones de helado de mamey, no presentaron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre ellos; de los cuales el valor mínimo de pérdida de peso fue en el helado con 1.5% de pectina de tejocote con 2.35%, mientras que el helado con 1.0% de pectina es el que presentó una mayor pérdida de peso con 2.82%, que por ende registró una menor estabilidad. En cuanto al helado que contiene tan solo el 0.5% de pectina de tejocote presentó 2.71%.



**Figura 27.** Comparación de estabilidad (pérdida de peso) de helado de mamey, con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%) como estabilizante y helado comercial (Häagen- Dazs).

**Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas**

Al observar que no se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la pérdida de peso de los helados con pectina de tejocote como estabilizante, se puede observar que el polisacárido no influye en la parte de estabilidad del producto realizado y se puede utilizar cualquier concentración.

### **4.3.3. Análisis microbiológico.**

#### **4.3.3.1. Cuenta de coliformes totales.**

De acuerdo con Pereira *et al.* (2014), grandes cantidades de coliformes totales en alimentos pueden indicar que fueron preparados con materia altamente contaminada, que el proceso no se realizó correctamente o el producto no fue almacenado dentro de las especificaciones adecuadas.

En este trabajo el helado elaborado se sometió a un análisis de cuenta de coliformes totales dando como resultado ausencia de este tipo de microorganismo; ubicándose dentro de los límites establecidos por la legislación mexicana, ya que la NOM-036-SSA1-1993, indica que el valor máximo es de 100 UFC/g de coliformes totales.

#### **4.3.3.2. Cuenta de mesófilos aerobios.**

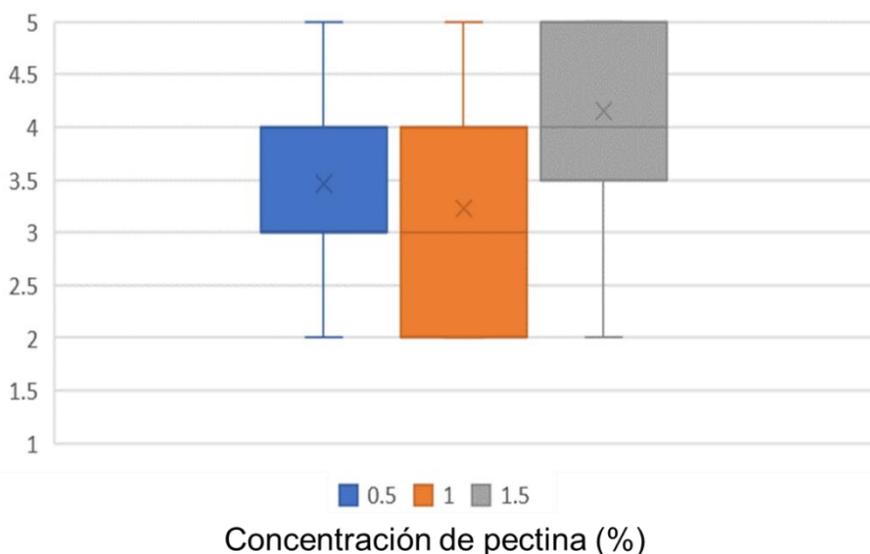
Al igual que en lo anterior la presencia de *Staphylococcus aureus* en las líneas de producción del helado ha sido considerado como un indicador de condiciones precarias de higiene y la inapropiada manipulación de los ingredientes y del producto final (Pereira *et al.*, 2014).

Al realizar el análisis de mesófilos aerobios se obtuvo como ausencia de los mismos. Estos resultados estuvieron dentro del límite que establece la NOM-036-SSA1-1993, la cual en aerobios es de 200,000 UFC/g.

#### 4.3.4. Evaluación sensorial de helado de mamey con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%).

Para la evaluación sensorial de los helados de mamey con diferentes concentraciones de pectina (0.5%, 1.0% y 1.5%), utilizada como estabilizante, se empleó una prueba afectiva de escala hedónica de 6 puntos (olor, olor extraño, sabor, sabor extraño, dureza y cremosidad); evaluados mediante una escala verbal de aceptación de 5 puntos (me disgusta mucho, me disgusta, ni me gusta ni me disgusta, me gusta ligeramente y me gusta mucho) y una escala verbal de percepción de atributos de la misma cantidad de puntos (ninguno, ligero, moderado, fuerte y muy fuerte) por 30 jueces afectivos para conocer la aceptación de los helados

Dentro del parámetro de olor, los panelistas detectaron que, conforme fue aumentada la concentración de pectina de tejocote este fue más agradable, por lo cual el helado con mayor aceptación de olor fue el de 1.5% de pectina de tejocote; tal como se observa en la Figura 28. Mientras que los helados con porcentaje de pectina de tejocote de 0.5% y 1% presentaron medias bajas en comparación con el de 1.5% de pectina de tejocote.

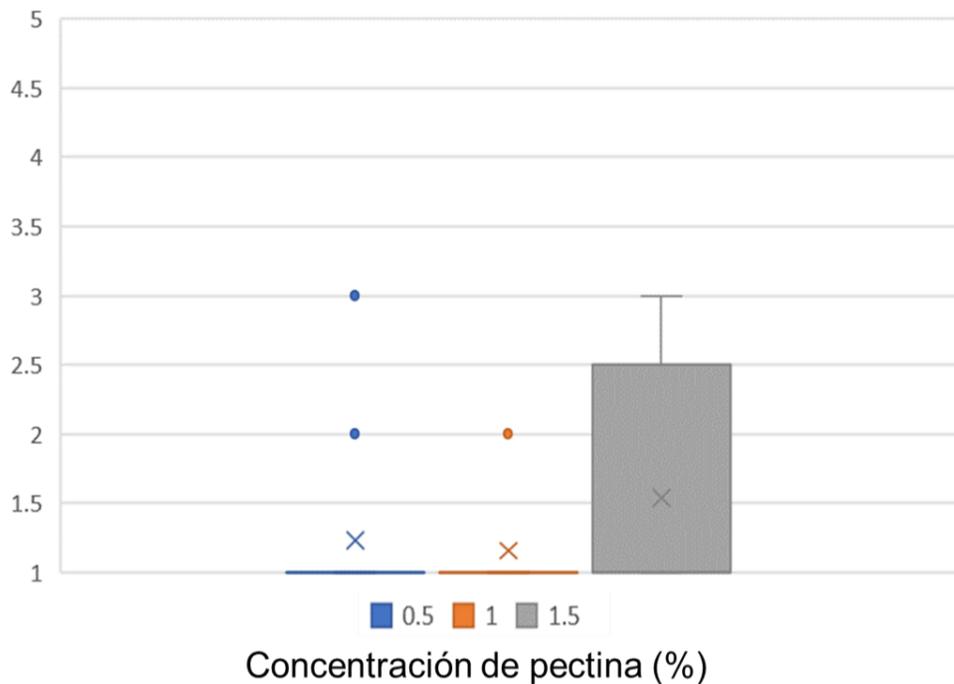


**Figura 28.** Evaluación de olor en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.

**Tabla 9.** Promedio y desviación estándar del parámetro olor de los helados de mamey.

	0.5% de pectina de tejacote	1.0% de pectina de tejacote	1.5% de pectina de tejacote
Promedio	3.46±0.97	3.23±1.01	4.15±0.99

A pesar de que el helado con mayor concentración de pectina (1.5%) fue el que obtuvo una mayor aceptación en el parámetro de olor, también es el que mostró un ligero olor extraño. El helado con una concentración de 1.0% de pectina de tejacote fue el helado que, en el que los panelistas, percibieron menos olores extraños, esto se muestra en la Figura 29.

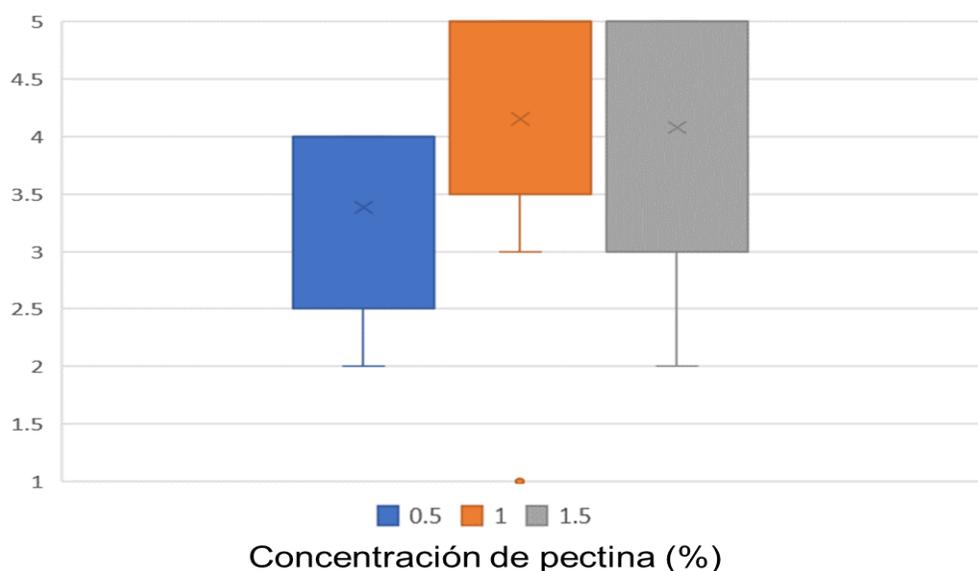


**Figura 29.** Evaluación de olor extraño en los helados adicionados con pectina de tejacote a diferentes concentraciones.

**Tabla 10.** Promedio y desviación estándar del parámetro olor extraño de los helados de mamey.

	0.5% de pectina de tejocote	1.0% de pectina de tejocote	1.5% de pectina de tejocote
<b>Promedio</b>	1.23±0.60	1.15±0.38	1.54±0.88

Del parámetro de sabor, los panelistas detectaron un mejor sabor en el helado de 1.5% de pectina seguido por el helado con una concentración de 1%, como se muestra en la Figura 30. Siendo que a mayor concentración de pectina de tejocote los panelistas detectaron un mejor sabor de helado.



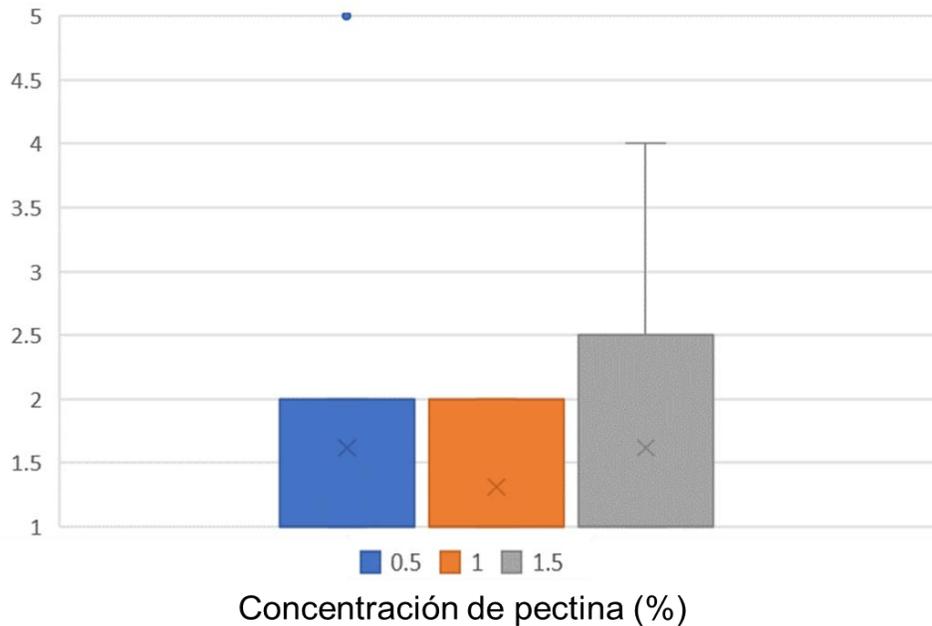
**Figura 30.** Evaluación de sabor en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.

**Tabla 11.** Promedio y desviación estándar del parámetro de sabor de los helados de mamey.

	0.5% de pectina de tejocote	1.0% de pectina de tejocote	1.5% de pectina de tejocote
<b>Promedio</b>	3.38±0.87	4.15±1.21	4.08±1.19

Como se muestra en la Figura 31, los panelistas percibieron ligeramente un sabor extraño en los 3 helados, aunque se percibió más este parámetro en el helado

adicionado con 1.5% de pectina de tejocote y se detectó menos en el helado de 1% de pectina de tejocote.

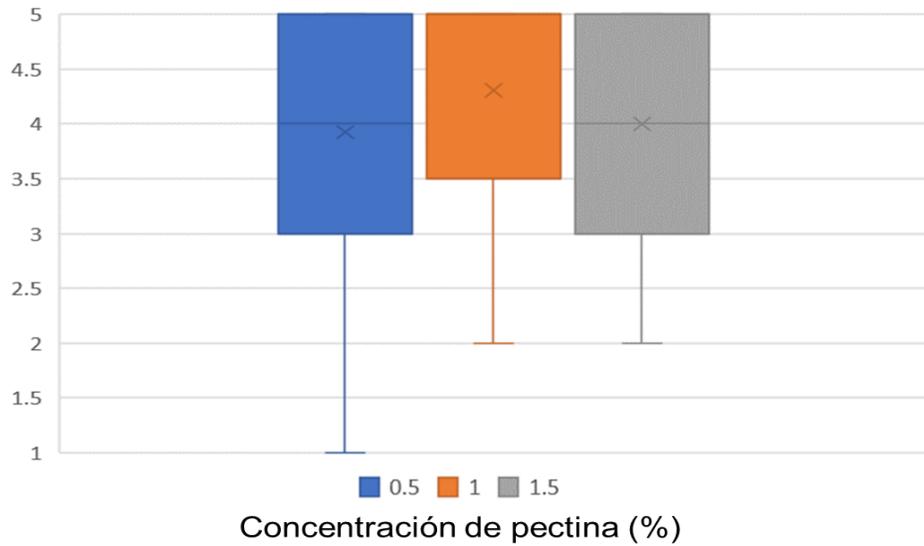


**Figura 31.** Evaluación de sabor extraño en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.

**Tabla 12.** Promedio y desviación estándar del parámetro de sabor extraño de los helados de mamey.

	0.5% de pectina de tejocote	1.0% de pectina de tejocote	1.5% de pectina de tejocote
<b>Promedio</b>	1.62±1.12	1.31±0.48	1.62±1.04

El helado en el que los panelistas detectaron una mayor dureza fue el que contenía 1% de pectina de tejocote, tal como se muestra en la Figura 32, seguido por el helado adicionado con 1.5% de pectina y en el helado con 0,5% de pectina detectan la menor dureza de los productos evaluados.

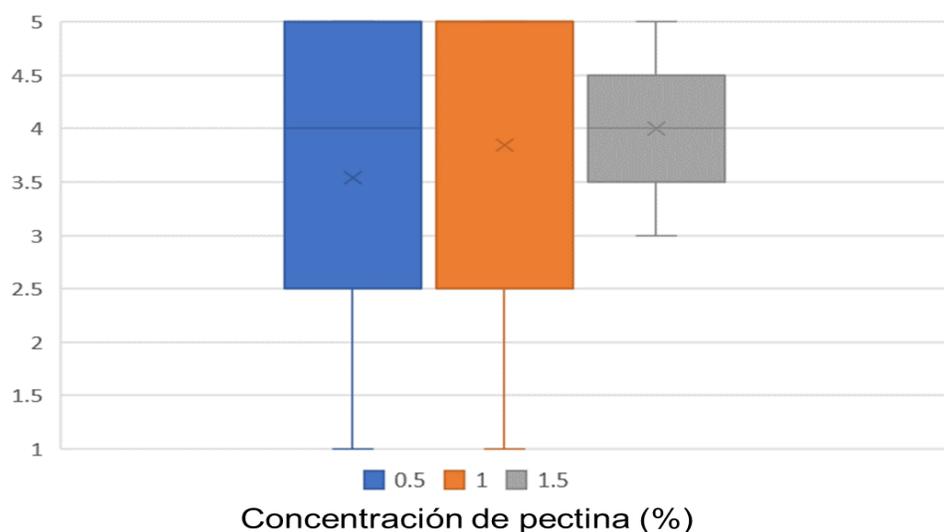


**Figura 32.** Evaluación de dureza en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.

**Tabla 13.** Promedio y desviación estándar del parámetro de dureza de los helados de mamey.

	0.5% de pectina de tejocote	1.0% de pectina de tejocote	1.5% de pectina de tejocote
<b>Promedio</b>	3.92±1.38	4.31±1.03	4.00±1.00

La cremosidad del helado con 1% de pectina de tejocote fue de mayor agrado para los panelistas seguido por el helado con 1.5% de pectina y finalmente el que contenía 0.5% de pectina adicionada. Estos resultados son reflejados en la Figura 33.



**Figura 33.** Evaluación de cremosidad en los helados adicionados con pectina de tejocote a diferentes concentraciones.

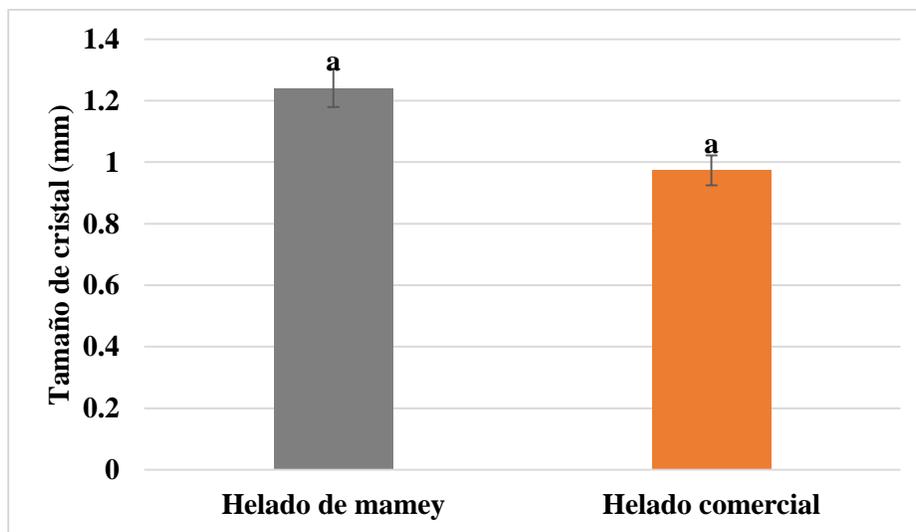
**Tabla 14.** Promedio y desviación estándar de cremosidad de los helados de mamey.

	0.5% de pectina de tejocote	1.0% de pectina de tejocote	1.5% de pectina de tejocote
<b>Promedio</b>	3.5±1.45	3.85±1.46	4.00±0.71

A pesar de las diferencias que encontraron los panelistas al evaluar cada uno de los helados, en el análisis mostró que no existió contraste para determinar cuál fue de mayor agrado; por lo cual se estableció utilizar el helado con 0.5% de pectina de tejocote para realizar las comparaciones de tamaño de cristal durante la cristalización y recristalización de agua, entre el producto mencionado con un helado comercial (marca Häagen-Dazs).

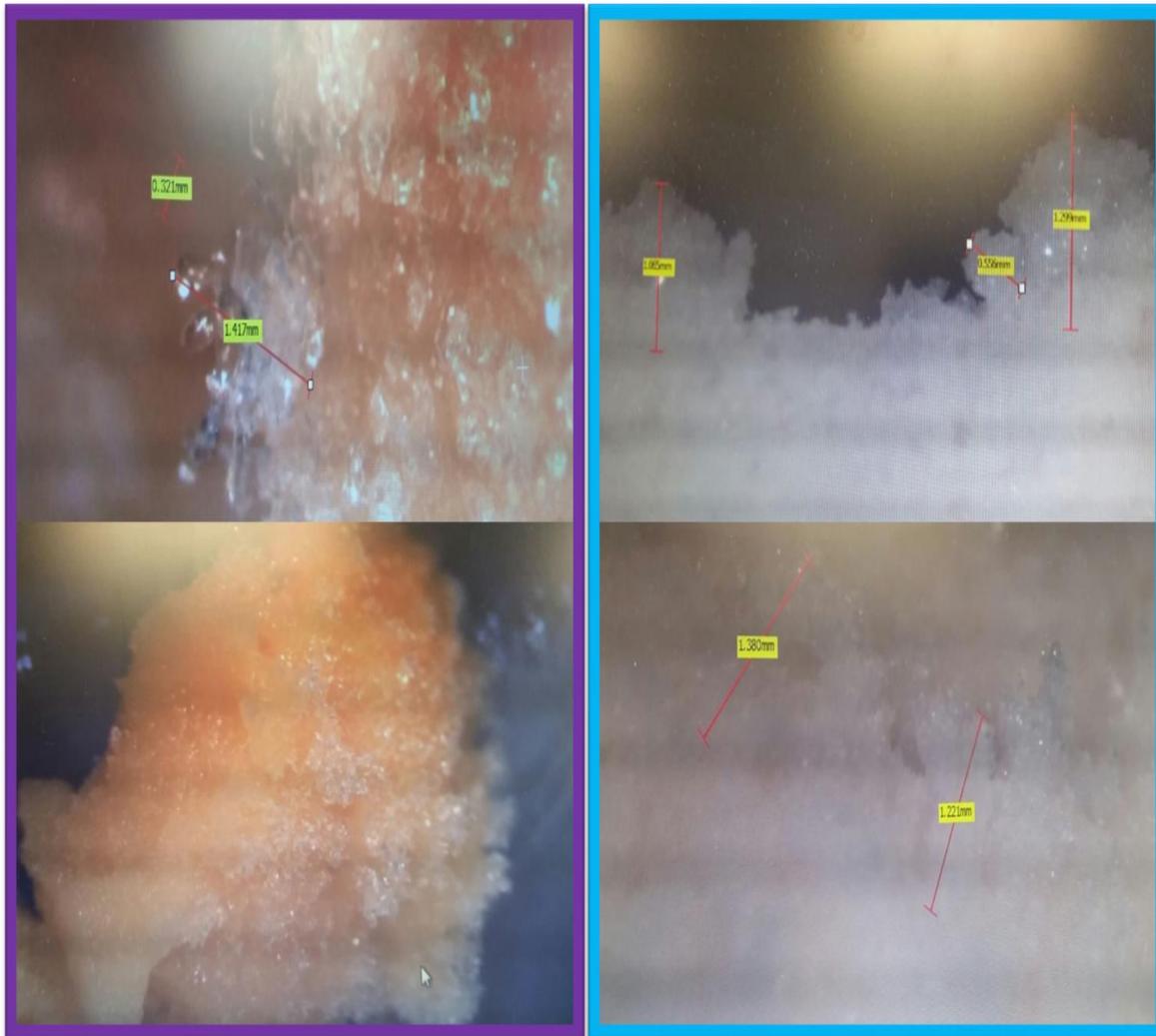
#### 4.3.5. Comparación de tamaño de cristal durante la cristalización en el helado de mamey con pectina de tejocote como estabilizante y un helado comercial (Häagen-Dazs).

En la Figura 34 se esquematiza el tamaño de los cristales presentes tanto en el helado mamey elaborado con pectina de tejocote (0.5% de pectina) que fue de 1.241 mm, como en el helado comercial marca Häagen-Dazs con tamaño de 0.973 mm. En la Figura 35 se muestra una imagen en un microscopio estereoscópico, de ambos helados, el análisis de varianza realizado mostro que no existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre ambos productos.



**Figura 34.** Comparación de tamaño de cristal de helado con pectina de tejocote como estabilizante y helado comercial (Häagen-Dazs).

Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas.



a)

b)

**Figura 35.** *Crystal de helados enfocados en el microscopio. a) Helado de mamey con pectina de tejocote b) Helado comercial (Häagen-Dazs, con un), con enfoque 20x.*

El cristal obtenido del helado de mamey, el cual contiene pectina de tejocote (0.5%), fue el de mayor tamaño esto puede ser debido a lo mencionado, que la formación del cristal de hielo depende de muchos factores y frecuentemente estos factores influyen uno del otro. Aunque, algunas ideas generales o principios pueden ser utilizados para discutir el efecto de varios factores, los cuales pueden ser separados en el efecto de la formulación y el efecto del proceso Hartel (1996).

Tengamos en cuenta que las condiciones de proceso juegan un factor determinante en el tamaño de cristal y el número del mismo; y el helado Häagen-Dazs es elaborado mediante un proceso controlado e industrial y el helado de mamey fue elaborado de manera artesanal, en donde las temperaturas no son del todo controladas. La misma idea funciona para el tipo de almacenamiento en donde el producto comercial ya cuenta con temperaturas establecidas para cada uno de sus productos y mantienen la misma constante y en el helado elaborado en este trabajo no se logra hacerlo por completo. Orrego (2008), menciona que el tamaño y la estructura de los cristales de hielo dependen de la velocidad de enfriamiento utilizada y el grado de sub-enfriamiento del sistema. Ya que la velocidad de enfriamiento juega un papel importante para el tamaño de cristal podemos decir que existió una velocidad de enfriamiento mayor en el helado comercial, lo cual le da a este helado un menor tamaño de cristal; y en cuanto al helado de mamey con pectina de tejocote como estabilizante un mayor tamaño ya que su velocidad de enfriamiento fue menor.

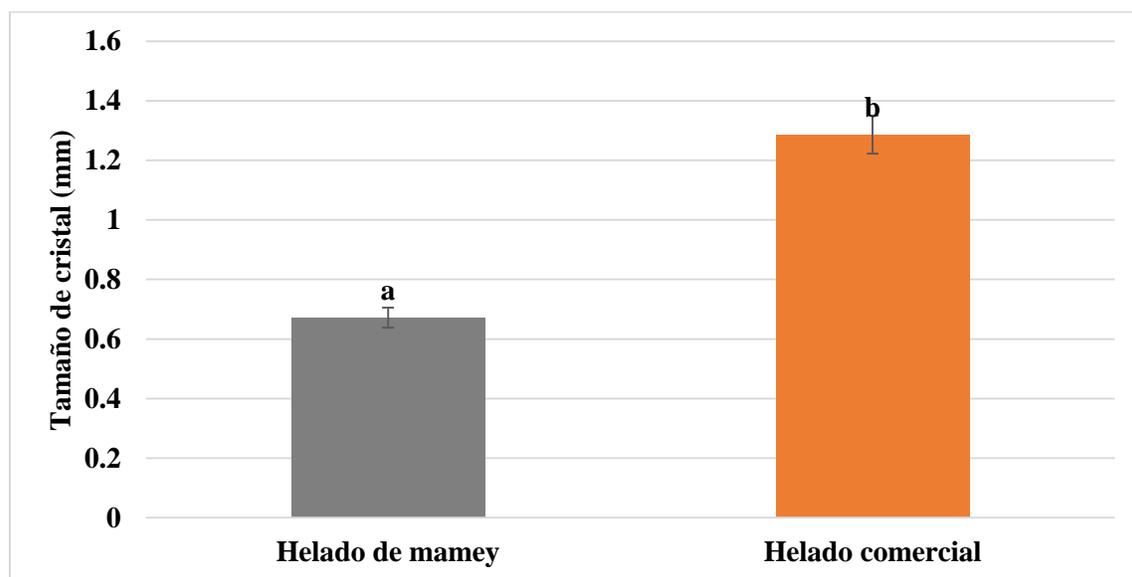
Otro de los puntos importantes que menciona Hartel (1996) es que la formulación es un factor que atribuye al tamaño de cristal, ya que el agua de la mezcla del helado juega un papel crítico en la determinación de del tamaño de cristal en el helado. Conociendo esto se compararon las formulaciones de los helados que se analizaron y se observó que el helado Häagen-Dazs no contiene agua en su formulación y el helado de mamey si la contiene, esto hace que el tamaño de cristal en el helado de mamey sea mayor.

#### **4.3.6. Tamaño de cristal durante la recristalización de helado de mamey comparado con un helado comercial (Häagen-Dazs).**

Durante el almacenaje y la distribución, el tamaño de cristal incrementa debido a un fenómeno conocido como recristalización, por lo tanto, el helado presenta una textura más gruesa (grumosa). Por lo que es importante minimizar el tamaño de

crystal para que así mismo incremente su vida de anaquel. Existen muchos factores que resultarían con un tamaño de cristal más grande, incluyendo baja concentración de sólidos, bajo puntos congelación, endurecimiento lento, tener un estabilizante inadecuado, etc., (Goff y Hartel, 2013).

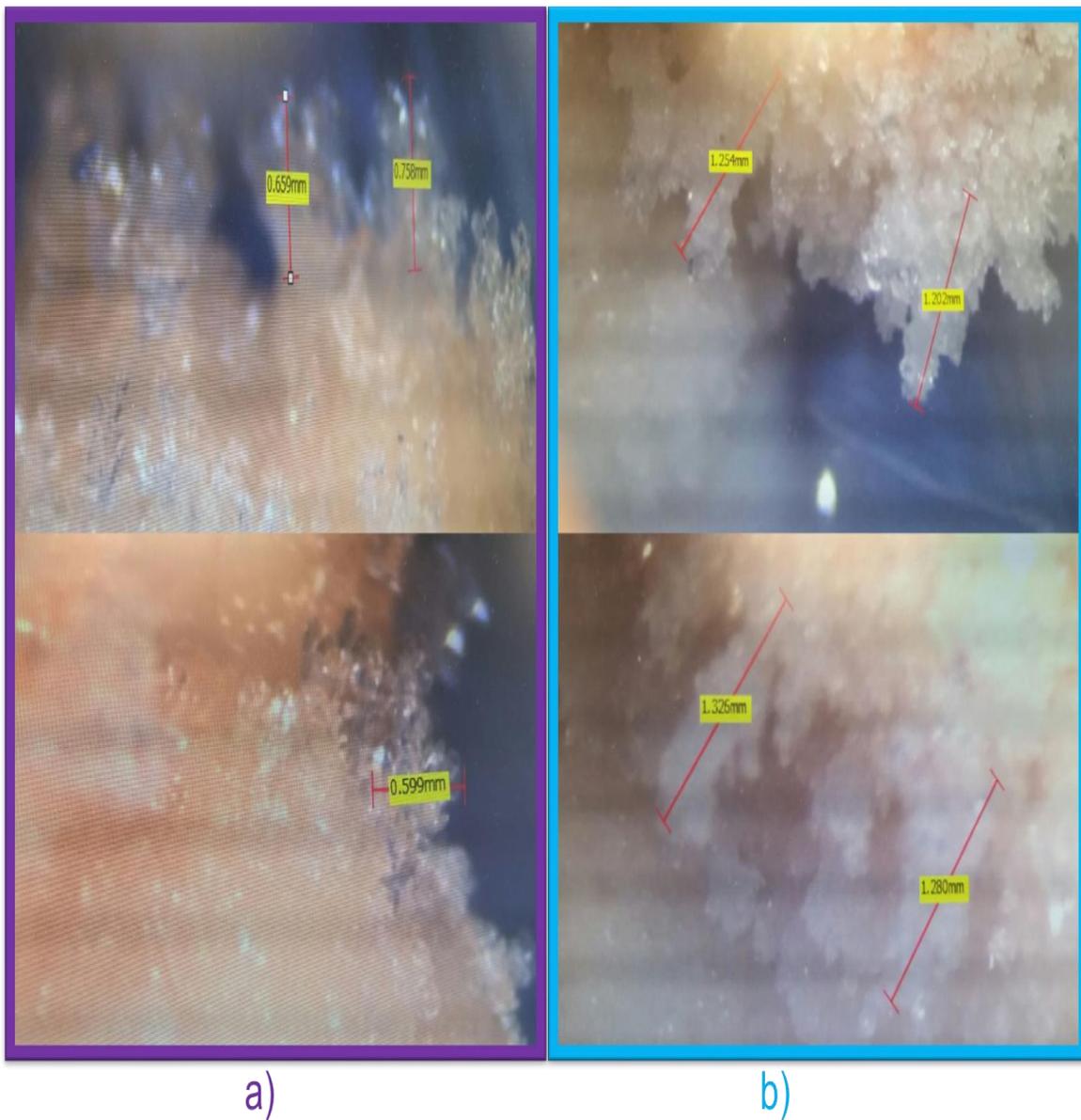
Los resultados presentados en la Figura 36, sometidos a un análisis de varianza, muestran que existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en el tamaño de cristal después del fenómeno de cristalización, logrando como resultado con menor tamaño de cristal el helado de mamey con pectina de tejocote (0.672 mm) y por consecuencia un tamaño de cristal mayor para el helado comercial (1.287mm), dando un ejemplo en la Figura 37.



**Figura 36.** Comparación de tamaño de cristal durante la recristalización de helado con pectina de tejocote como estabilizante y helado comercial (Häagen-Dazs) durante la recristalización.

**Las letras que se muestran por encima de las barras de la figura indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre las concentraciones utilizadas**

Las muestras fueron sometidas a una segunda etapa de congelamiento después de haber sido retirados del congelador, para determinar el tamaño de cristal después del fenómeno de recristalización ocasionado por lo antes mencionado.



**Figura 37.** Cristal de helados durante la recrystalización enfocados en el microscopio. a) Helado de mamey con pectina de tejocote b) Helado comercial (Häagen-Dazs) con enfoque 20x.

Bejarano y Silva (2010) mencionan, que los cristales de hielo son relativamente inestables, pueden sufrir cambios de tamaño, número y forma en un proceso conocido como recrystalización. Si la temperatura aumenta durante el almacenamiento, algunos de los cristales, particularmente los más pequeños, se

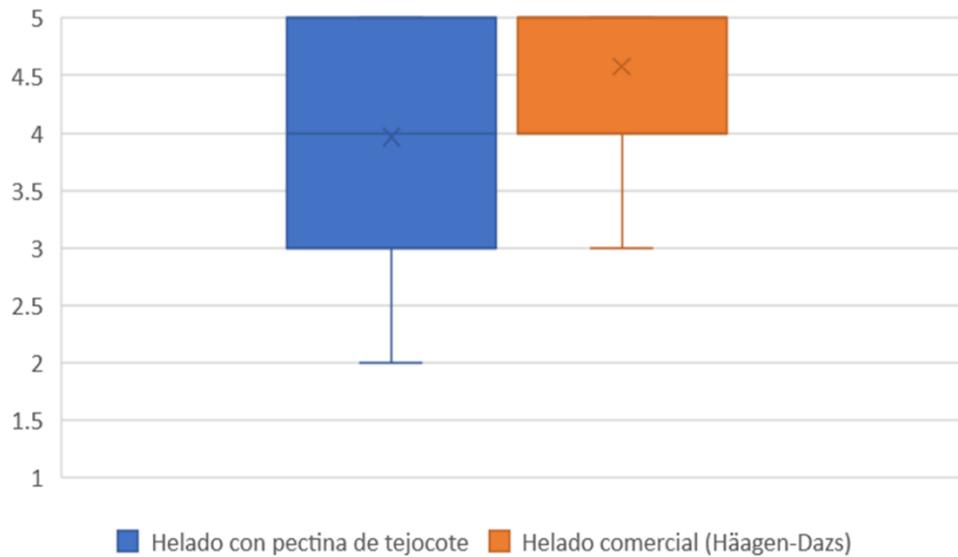
fundirán y de esta manera aumentará la cantidad de agua no congelada. Por lo contrario, cuando la temperatura disminuya, el agua no congelada volverá a cristalizar, pero no volverá a formar núcleos si no que se depositará en la superficie de los cristales, disminuyendo así el número total de cristales y aumentando el tamaño promedio de los mismos.

Al conocer que la pectina es un polisacárido que captura agua podemos decir que cuando el helado es sometido a la recristalización, las partículas de agua no congeladas que no vuelven a ser núcleos, realizan puentes de hidrógeno con los carboxilos libres del polisacárido mencionado; dando pie a que no se depositen en los cristales existentes y al mismo tiempo disminuyendo el número de ellos y manteniendo una textura agradable al consumidor.

#### **4.3.7. Comparación sensorial de helado de mamey con pectina de tejocote como estabilizante y un helado comercial (Häagen-Dazs).**

Al igual que la evaluación de los helados de mamey, se realizó la prueba afectiva de escala hedónica para comparar el helado de mamey, con 0.5% de pectina de tejocote como estabilizante, y un helado comercial, marca Häagen-Dazs; con un jurado de tipo afectivo para determinar la aceptación del helado.

Como se aprecia en la Figura 38, los panelistas detectaron un mejor aroma en el helado comercial (marca Häagen-Dazs) que, en el helado de mamey adicionado con pectina de tejocote como estabilizante, a pesar de esto a los panelistas también demostraron agrado al olor del helado de mamey.

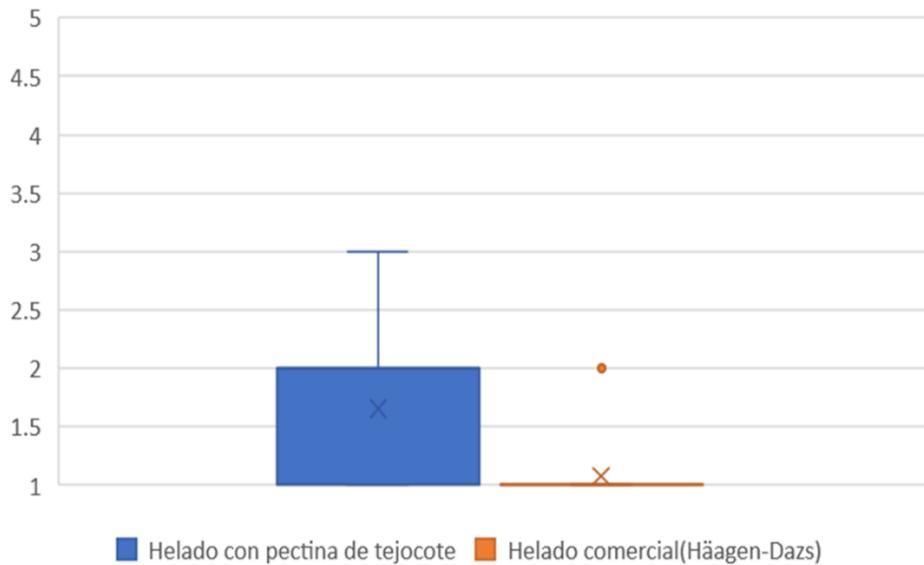


**Figura 38.** Evaluación de olor en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).

**Tabla 15.** Promedio y desviación estándar de olor en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).

	Helado de mamey con 0.5% de pectina de tejocote	Helado comercial (marca Häagen-Dazs)
<b>Promedio</b>	3.96±0.92	4.58±0.70

La evaluación realizada a la detección de olores extraños en los productos, como se muestra en la Figura 39, nos muestra que los panelistas detectaron ligeramente olores extraños en el helado de mamey con pectina de tejocote, mientras que en el helado comercial (marca Häagen-Dazs) fue casi nula la percepción de olores extraños.

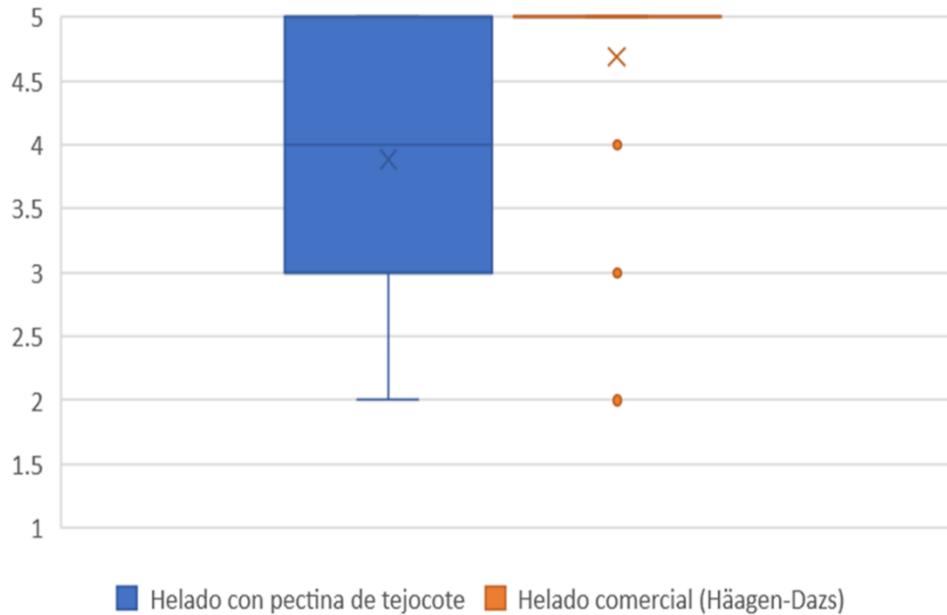


**Figura 39.** Evaluación de olor extraño en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).

**Tabla 16.** Promedio y desviación estándar de olor extraño en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).

	Helado de mamey con 0.5% de pectina de tejocote	Helado comercial (marca Häagen-Dazs)
<b>Promedio</b>	1.65±0.69	1.08±0.27

Como se muestra en la Figura 40, al evaluar el sabor en los helados (Helado de mamey con pectina de tejocote y helado marca Häagen-Dazs) los panelistas detectaron un mejor sabor en el helado comercial (marca Häagen-Dazs) calificándolo mayormente con el punto máximo (“Me gusta mucho”) y en contraste el helado de mamey con pectina de tejocote la evaluación fue que les gustó ligeramente.

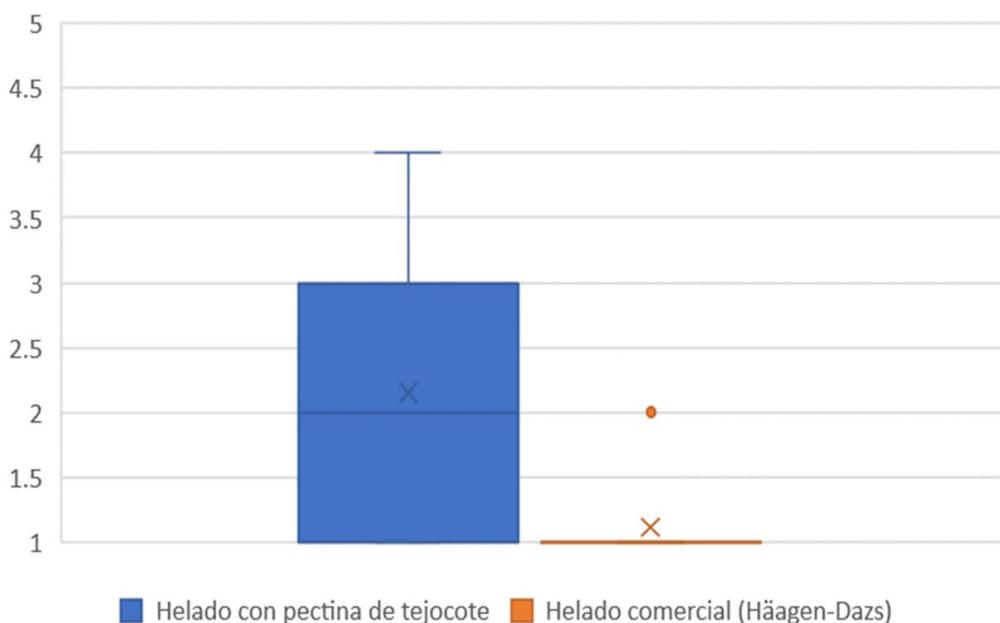


**Figura 40.** Evaluación de sabor en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).

**Tabla 17.** Promedio y desviación estándar de sabor en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).

	Helado de mamey con 0.5% de pectina de tejocote	Helado comercial (marca Häagen-Dazs)
<b>Promedio</b>	3.88±0.99	4.69±0.74

El helado en el que los panelistas detectaron un ligero sabor extraño fue en el helado de mamey con pectina de tejocote, mientras que en el helado comercial (Häagen-Dazs) fue casi nula la detección de sabores extraños, como se muestra en la Figura 41.

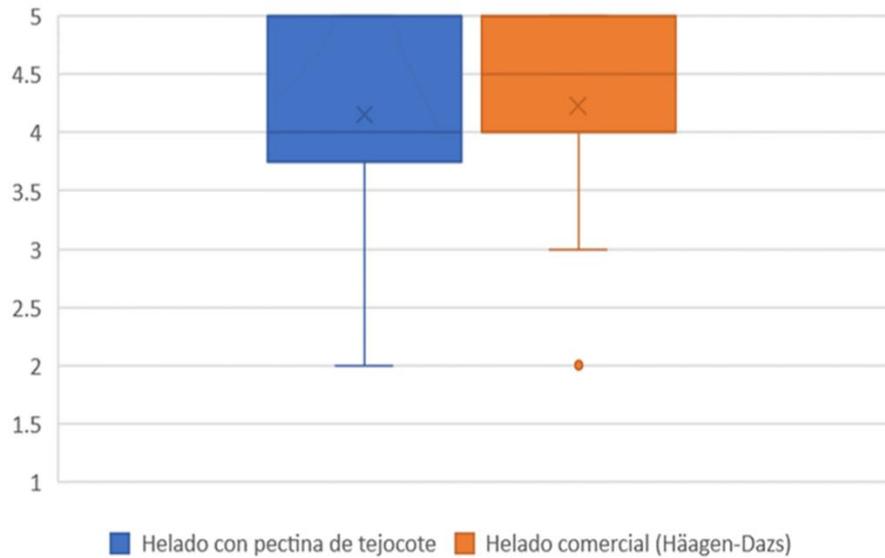


**Figura 41.** Evaluación de sabor extraño en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).

**Tabla 18.** Promedio y desviación estándar de sabor extraño en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).

	Helado de mamey con 0.5% de pectina de tejocote	Helado comercial (marca Häagen-Dazs)
Promedio	2.15±0.88	1.12±0.33

Para el atributo de dureza de los helados, el helado comercial (Häagen-Dazs) obtuvo mayor agrado por parte de los panelistas, como se muestra en la Figura 42, aunque también el helado con pectina de tejocote fue de su agrado solo 0.08 puntos por debajo del promedio del helado comercial (Häagen-Dazs), como se aprecia en la Tabla 19.

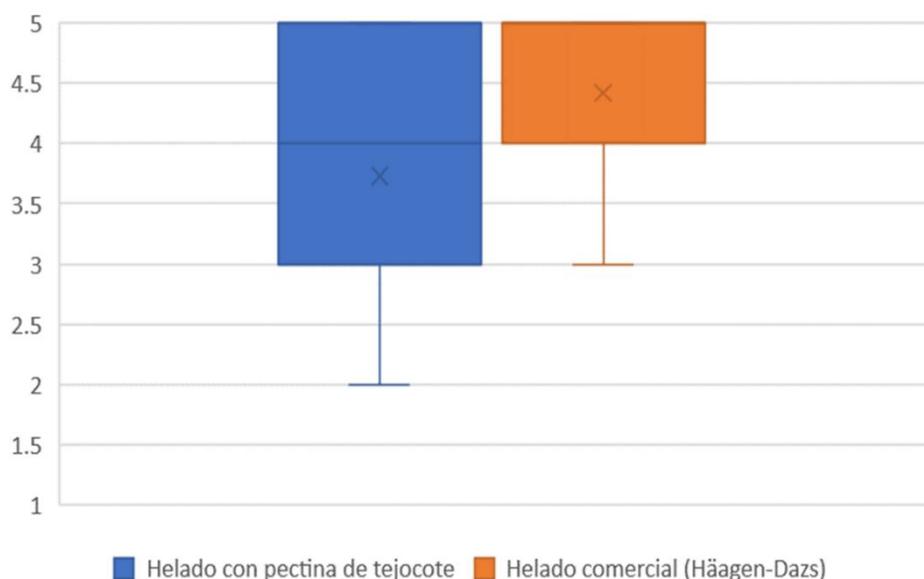


**Figura 42.** Evaluación de la dureza en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).

**Tabla 19.** Promedio y desviación estándar de la dureza en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).

	Helado de mamey con 0.5% de pectina de tejocote	Helado comercial (marca Häagen-Dazs)
<b>Promedio</b>	4.15±0.97	4.23±0.95

Al evaluar la cremosidad los panelistas detectaron que este atributo fue de su mayor agrado en el helado comercial (Häagen-Dazs), como se aprecia en la Figura 43, y al evaluar el helado con pectina de tejocote existieron panelistas a los cuales “les disgustó ligeramente” la cremosidad del mismo. Como se aprecia en la Tabla 20, el promedio de ambos es muy cercano al punto 4 (Me gusta ligeramente) por lo que se puede indicar que el los helados fueron del agrado de los panelistas.

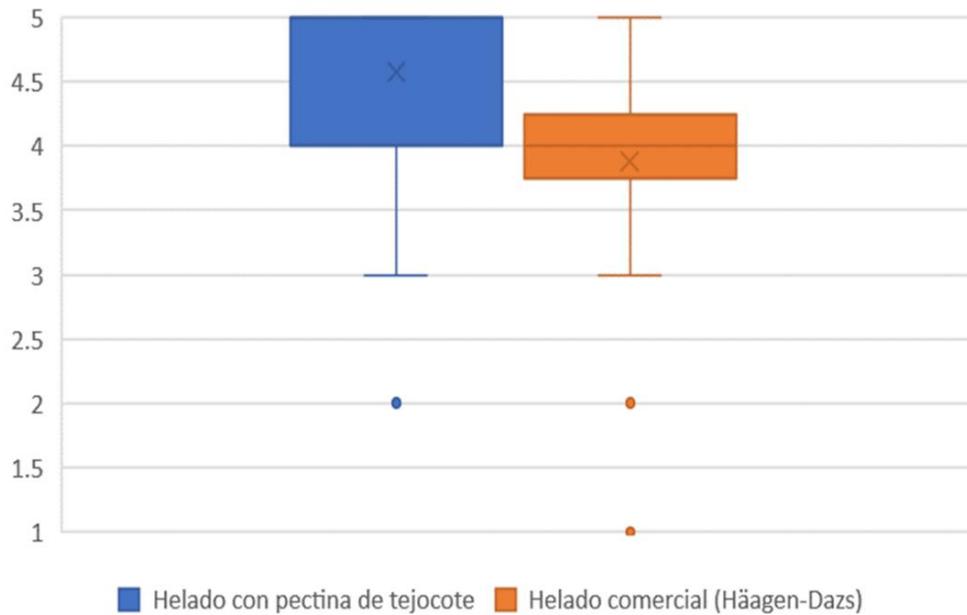


**Figura 43.** Evaluación de la cremosidad en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).

**Tabla 20.** Promedio y desviación estándar de la cremosidad en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).

	Helado de mamey con 0.5% de pectina de tejocote	Helado comercial (marca Häagen-Dazs)
<b>Promedio</b>	3.73±1.12	4.42±0.76

Al evaluar el color los panelistas determinaron que les gustó mayormente el color del helado de tejocote, como se muestra en la Figura 44. En cuanto al color del helado comercial (Häagen-Dazs) obtiene un promedio de 3.88 muy cercano al punto 4 (Me gusta ligeramente), como se aprecia en la Tabla 20, aunque también fue evaluado por panelistas con puntajes de 1 el cual nos indica que les disgustó el color del producto.



**Figura 44.** Evaluación del color en el helado adicionado con 0.5% de pectina y un helado comercial (Häagen-Dazs).

**Tabla 21.** Promedio y desviación estándar del color en helado de mamey con pectina y helado comercial (marca Häagen-Dazs).

	Helado de mamey con 0.5% de pectina de tejocote	Helado comercial (marca Häagen-Dazs)
Promedio	4.58±0.76	3.88±0.95

Con estos resultados podemos concluir que el helado de mamey adicionado con pectina de tejocote, a una concentración de 0.5%, muestra un agrado en los atributos; color olor sabor, dureza y cremosidad; en cuanto a los olores extraños y sabores extraños, no fueron detectados del todo por los panelistas.

## 5. CONCLUSIONES.

- El proceso de optimización dio como resultado 6 diferentes pectinas, debido a sus características fisicoquímicas; de las cuales se obtuvieron los intervalos de 87% a 96% de grados de esterificación y 2% a 7.8% de los grados de metoxil; y a las características químicas; las cuales determinan la pureza del polisacárido; con intervalos de ácido galacturónico de 24% a 62% y 3.5% a 5% de cenizas. A pesar de los diferentes resultados las pectinas pueden ser empleadas en el proceso de diferentes productos.
- Se empleó la pectina de tejocote extraída con el complejo enzimático Macerex con la cantidad de 3 $\mu$ L, debido a que su rendimiento fue mayor (7%) y a que sus características químicas le confieren un mayor grado de madurez; ácido galacturónico con 64.91% y cenizas de 3.53%.
- Las formulaciones establecidas para elaborar el helado de mamey con 3 diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5%, 1.0% y 1.5%) no mostraron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre los parámetros analizados; teniendo un intervalo de 3.6% a 4.2% de overrun y 2.3% a 2.8% de pérdida de peso; debido a que las burbujas de aire fueron menos estables llegando a la coalescencia en menor tiempo comparado con el resultado del helado comercial con 0.43% de pérdida de peso.
- No se presentó crecimiento de coliformes totales y mesófilos aerobios en el helado de mamey, adicionado con pectina de tejocote como estabilizante, este mostró valores dentro de los límites establecidos por la legislación por lo que se concluyó que la calidad microbiológica fue buena.
- Durante la prueba de tamaño de cristal se encontró que, el helado de mamey produjo cristales de 1.24mm y el helado comercial (Häagen-Dazs) de 0.97mm, esto debido a que la formulación es un factor que atribuye al tamaño de cristal y entre más agua contenga el helado mayor será su tamaño. En contraste con la recristalización el helado de mamey, con pectina de tejocote como estabilizante, tuvo como resultado un tamaño de cristal de 0.67mm, siendo así un cristal de menor longitud que el del helado comercial (Häagen-Dazs) con 1.28mm. Por lo que se concluyó que, dentro de la estructura del helado de mamey el agua no congelada no vuela a ser núcleo, realizando puentes de hidrógeno con los

carboxilos libres del polisacárido utilizado como estabilizante, dando pie a que el agua no se deposite en los cristales existentes y al mismo tiempo disminuye el número de los mismos provocando que el helado mantenga su textura.

## **6. RECOMENDACIONES.**

- Utilizar la pectina de tejocote como recubrimiento en frutos y/o hortalizas y así determinar si este polisacárido retrasa algunos procesos fisiológicos del fruto como es el caso de la respiración y la pérdida de agua.
- Realizar la extracción de pectina de otras posibles fuentes por el mismo método empleado en este experimento.
- Utilizar la pectina de tejocote como sustituto de grasa o azúcar en algún producto.

## ANEXOS

### ANEXO 1: Formato de evaluación sensorial para los helados de mamey con diferentes concentraciones de pectina de tejocote (0.5, 1.0 y 1.5%) como estabilizante.

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Para la muestra recibida de helado de mamey evalúe las características que se le mencionan a continuación mediante la escala correspondiente.

Atributo/ Muestra	1128	1809	5305
Olor <sup>a</sup>			
Olor extraño <sup>b</sup>			
Sabor <sup>a</sup>			
Sabor extraño <sup>b</sup>			
Dureza <sup>a</sup>			
Creemosidad <sup>a</sup>			

a. Aceptación
1. Me disgusta mucho
2. Me disgusta ligeramente
3. Ni me gusta ni me disgusta
4. Me gusta ligeramente
5. Me gusta mucho

b. Percepción
1. Ninguno
2. Ligero
3. Moderado
4. Fuerte
5. Muy fuerte

**ANEXO 2: Formato de evaluación sensorial de helado de mamey con pectina de tejocote (0.5%) y helado comercial (Häagen-Dazs).**

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES:** Para las muestras recibidas de helado evalúe las características que se le mencionan a continuación mediante la escala correspondiente.

Atributo/ Muestra	1531	1087
Olor <sup>a</sup>		
Olor extraño <sup>b</sup>		
Sabor <sup>a</sup>		
Sabor extraño <sup>b</sup>		
Dureza <sup>a</sup>		
Cremosidad <sup>a</sup>		
Color <sup>a</sup>		

a. Aceptación
1. Me disgusta mucho
2. Me disgusta ligeramente
3. Ni me gusta ni me disgusta
4. Me gusta ligeramente
5. Me gusta mucho

b. Percepción
1. Ninguno
2. Ligero
3. Moderado
4. Fuerte
5. Muy fuerte

## 7. REFERENCIAS

- Aceves, J., Argott, J., Ceja, M., y Leon, M. (1987). *Extracción y caracterización fisicoquímica de la pectina de tejocote (Crataegus mexicana)*. Distrito Federal: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Agenciade noticias, U. (21 de Noviembre de 2014). Extracción Enzimática de Pectina Reduce Impacto Ambiental. Manizales, Colombia, Colombia. Recuperado el 26 de Abril de 2017, de <http://www.manizales.unal.edu.co/index.php/noticias/36-ano-2014/4332-extraccion-enzimatica-de-pectina-reduce-impacto-ambiental>
- Arbuckle, W. (1999). *Ice Cream* (4a ed.). Connecticut: The Avi Publishing company.
- Badui, S. (2015). *Química de los Alimentos*. (5a ed.). Mexico: Pearson (pp. 78-83, 306-309).
- Bejarano, A., y Silva, A. (2010). *Estabilidad del helado de crema de leche*. Guayaquil: Instituto de Tecnologías: Programa de Especialización Tecnológica en Alimentos.
- Belitz, H. (2006). *Química de los Alimentos*. Heidelberg: ACRIBIA (p. 314).
- Belitz, H., Grosch, W., y Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (4a ed.). Berlin: Springer (pp. 92-97).
- Bello, J. (2000). *Ciencia Bromatológica: Principios Generales de los Alimentos*. Madrid: Diaz de Santos.
- Chasquibol, N., Arroyo, E., y Morales, J. (2008). Extracción y caracterización depectinas obtenidas apartir de frutos de la biodiversidad peruana. *Ingenieria Industrial* (26), 175-199.
- Clarke, C. (2004). *The science of ice cream*. Cornwall: RCS Paperbacks (pp. 1-30).

- Cook, K., y Hartel, R. (2010). Mechanisms of ice crystallization in ice cream production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 213-222.
- D'Addosio, R., Paez, G., Marmol, Z., y Ferrer, J. (2005). Obtencion y carazterizacion de pectina a partir de cascara de parchita (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener). *Revista de la Facultad de Agronomia LUZ*, 22, 240-249.
- Daw, E., y Hartel, R. (2015). Fat estabilization and meltdown of icecreams with increased protein content. *Internatrional Dairy Journal*(43), 33-41.
- Devia, J. (2003). Proceso para producir Pectinas Citricas. *Universidad EAFIT*(129), 21-29.
- Edwards, J., Brown, P., Talent, N., Dickinson, T., y Shipley, P. (2012). A review of the chemestry of the genus *Crataegus*. *Phytochemistry*(79), 5-26.
- Espinosa, J. (2007). *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Ciudad de la Habana: Editorial Universitaria.
- Fennema, O. (2000). *Química de alimentos* (2a edicion ed.). Zaragoza: Acribia (pp. 171-178, 259, 260).
- Ferreira, S. (1996). Aislamiento y caracterización de las pectinas de algunas variedades de frutos cítricos colombianos. *Revista Colombiana de Ciencias*, 5-25.
- Ferreira, S. (2007). *Pectinas: Aislamiento, Caracterización y Producción a partie de frutas tropicalesy de los residuos de su procesamiento industrial*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Gamboa, M. (2009). *Aprovechamiento de los residuos obtenidos del proceso de despulpado del mango (*Mangifera indica* L.), de las variedades Smith, Tommy Atkins, Haden y Bocado como materias primas para la obtención de pectinaas*. Puerto La Cruz: Universidad de Oriente Venezuela.

- Girbés, T., y Jiménez, P. (2013). *Alojamientos.Uva.es*. Recuperado el 18 de marzo de 2016, de [https://alojamientos.uva.es/guia\\_docente/uploads/2013/470/45820/1/Documento42.pdf](https://alojamientos.uva.es/guia_docente/uploads/2013/470/45820/1/Documento42.pdf)
- Goff, H., y Hartel, R. (2013). *Ice Cream* (7a ed.). Nueva York: Springer (pp. 1, 17, 203-248, 313-378, 383, 429).
- González, M. (2014). *Obtención y caracterización de pectina a partir de tejocote (Crataegus spp) extraída por los métodos químico, asistido por microondas y enzimático. Tesis de licenciatura de ingeniería en alimentos.* . Cuautitlan: UNAM.
- Green, A., Littlejohn, K., Hooley, P., & Cox, P. (2013). Formation and stability of food foams and aerated emulsions: Hydrophobins as novel functional ingredients. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* (18), 292-301.
- Guo, X., y Hecheng, M. (2015). Effects of precipitation pH on the ethanolic precipitation of sugar beet pectins. *Food hydrocolloids*, 56, 431-437.
- Harlet, R. (1996). Ice crystalization during the manufacture of ice cream. *Trends in Food Science & Technology*, 7, 315-320.
- Higareda, A., Salazar, J., y Ramos, G. (1995). Caracterización de la pectina de tejocote. *Chapingo* (4), 47-52.
- Huynh, H., Nguyen, N., y Yiu, K. (2014). *Effect of ice crystal size on the textural properties of ice cream and sorbet*. Massachusetts: Worcester Polytechnic Institutud.
- Ismail, N., Ramli, N., Hani, N., y Meon, Z. (2012). Extraction and Characterization of pectin from Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) using Various Extraction Conditions. *Sains Malaysiana*, 1(41), 41-55.
- Jiménez, A. (03 de 12 de 2014). Busca SAGARPA Aprovechamiento de Tejocote en Aplicaciones Industriales. SAGARPA.

- Kertesz, Z. (1951). *The pectic substances*. Nueva York: IntersciencePublisher.
- León, D., y Riveros, J. (2014). *Extracción y caracterización química de las pectinas de las cáscaras del Maracuyá Amarillo (Passiflora edulis, Var Flavicarpa degener), Granadilla (Passiflora ligularis Juss) y Tumbo Serrano (Passiflora mollísima H. B. K. Bailey)*. Callao: Universidad Nacional de Callao.
- López, J., Nieto, R., Barrientos, A., Rodríguez, E., Colinas, M., Borys, M., y González, F. (2008). Selección de Variables Morfológicas para la Caracterización del Tejocote. *Revista Chaping Serie Cultural*, 14(2), 97-111.
- Loyola, N., Pavés, P., y Lillo, S. (2011). Pectin extraction from cv. Pink Lady (Malus pumila) apple. *Ciencia e Investigación Agraria*, 425-434.
- Ludvigsen, H. (2011). Manufacturing high quality ice cream with high overrun. *Palsgaard Technical Paper*, 1-4.
- Macedo, C. (14 de 03 de 2002). Producen un gel a partir de nopal. *Reforma*.
- Madrid, A., y Cenzano, I. (2003). *Helados: Elaboración, Análisis y Control de calidad*. Madrid: AMV EDICIONES.
- Maldonado, Y., Salazar, S., Millones, C., Torres, E., y Vásquez, E. (2010). Extracción de pectina mediante el método de hidrólisis ácida en frutos de maushan (Vasconcellea weberbaueri (Harms) V.M. Badillo) provenientes del distrito de San Miguel de Soloco, región Amazonas. *Aporte Santiaguino*, 3(2), 177-184.
- Marquez, R. (2000). *Extraccion de pectina de alto metoxil apartir de cascara de parchita para la produccion de mermelada*. Merida: Escuela de Ingenieria Quimica.
- Marshal, R., Goff, H., y Hartel, R. (2003). *Ice Cream* (6a ed.). Nueva York: Kluwer Academic (pp. 1-7, 143, 207-252, 301-304).

- Miyamoto, A., y Chang, K. (1997). Extraction and physicochemical characterization of pectin from sunflower head residues. *Journal of food science*, 57(6), 1439-1443.
- Muñoz O., F. (2011). *Extracción y caracterización de la pectina obtenida del fruto de dos acotipos de cocona (Solanum sessiliflorum), en diferentes grados de madurez; a nivel planta piloto*. Bogota: Universidad Nacional de Colombia.
- Navarro, S. (1985). *Sustancias pécticas: química y aplicaciones*. Murcia: Universidad de Murcia.
- Nieto, R., Borys, M., y Nuñez, C. (2008). Variedades comerciales de tejocote. *Extensión al campo*, 10-16.
- NMX-F-347-S-1980. Frutas y derivados. Determinación de pectina. Fruits and derivatives. Determination of pectine. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos. Foodstuff determination of ashes. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- Nollet, L. (1996). *Handbook of food analysis*. Nueva York: M. Dekker (p. 21).
- NOM-036-SSA1-1993. Bienes y servicios. Helados de crema, de leche o grasa vegetal, sorbetes y bases o mezclas para helados. Especificaciones sanitarias.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Nuñez, C., Nieto, A., Barrientos, A., Segura, S., Sahagún, J., y González, F. (2008). Distribución y caracterización eco-climática del género *Crataegus* L.

(Rosaceae, SUBFAM. Maloideae). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 14(2), 177-184.

- Orrego, C. (2008). *Congelación y liofilización de alimentos*. Caldas: Artes Gráficas Tizan Ltda. Manizales.
- Pagan, J. (2001). *Degradación enzimática y características físicas y características físicas y químicas de la pectina del bagazo de melocotón*. Provincia de Lérida, España: Universitat de Lleida.
- Paredes, J., Hernández, R., y Cañizares, A. (Junio-Agosto de 2015). Efecto del grado de madurez sobre las propiedades fisicoquímicas de. *IDESIA (Chile)*, 33(3), 35-41.
- Pearson, D. (1993). *Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos*. Zaragoza: Acriba.
- Pereira, C., Amdrejewski, A., Mattana, A., Pizarro, C., Manique, L., y Sant, E. (10 de 03 de 2014). Processing and microbiological characterization of diet strawberry ice cream with addition of whey protein concentrate, whole milk powder and sweeteners. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(2), 97-103.
- Pérez, M. (2014). *Perfil Fitoquímico del Aceite Esencial del FRuto de Tejocote MEXicano (Crataegus spp.)*. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.
- Pintor, M., y Totosa, A. (2013). Propiedades funcionales de sistemas lácteos congelados y su relación con la textura del helado: una revisión. *CienciaUat*, 25(1), 56-61.
- Posada, L., Sepulveda, J., y Restrepo, D. (2012). Selección y evaluación de un estabilizante integrado de gomas sobre las propiedades de calidad en mezclas para helado duro. *Vitae, Revista de la facultad de química farmacéutica.*, 19(2), 166-177.

- Prakash, J. (2015). Statical optimization of aqueous extraction of pectin from wast durian rinds. *International Journal of Biological Macromolecules*, 73, 92-98.
- Rodrigues, S. y Narciso, F. (2012). *Advances in Fruit Processing Technology*. Boca Raton: CRC Press.
- Romero, C., Benitez, E., Peruchena, N., Sosa, G., y Lozano, J. (2012). ¿A qué se debe la formación y estabilidad de la espuma? *II Jornade de Investigaciones del NEA Y Países Limitrofes*, 1-6.
- Ruiz, L., Ortiz, S., y Jerez, Z. (2012). *Plan de negocios para la producción y comercialización de helados a base de pulpa de fruta "fruits"*. Bucaramanga: TECNOLÓGICA FITEC CONVENIO UNIVERSIDAD DEL PUEBLO.
- Salazar, H. (27 de Diciembre de 2013). El Tejocote: Un Escudo Contra el Invierno. *El Siglo de Torreon*.
- Schmidt, K., Herald, T., y Flores, R. (2010). Mechanisms of ice crystallization and recrystallization in ice cream. *Food reviews internacional*, 259-270.
- Schultz, R., y Schweiger, T. (1965). Determination of the degree of esterification of pectin, determination of the ester methoxyl content of pectin by saponification and titration. *Methods in carbohydrate Chemistry*, 5, 189.
- SIAP. (2014). SIAP. Recuperado el 29 de 08 de 2015, de <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/>
- Sofjan, R., y Hartel, R. (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International Dairy Journal*(14), 255-262.
- Soriano, M. (2004). *Análisis de sistemas pectinolíticos bacterianos. Aislamiento y caracterización de las pectinasas PelA Paenibacillus sp. BP-23 e YvpA de Bacillus subtilis*. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- Stephen, A. (2006). *Food Polysacharides and Their Application* (Segunda Edición ed.). New York: CRC Taylor & Francis (pp. 353-412).

- Ulloa, J., Ulloa, P., Ramírez, J., y Ulloa, B. (2013). Ultrasonido: aplicaciones en el campo de los alimentos. *Revista fuente nueva época*, 4(14), 1-13.
- Vian, A. (2006). *Introducción a la química industrial*. Barcelona: Editorial Reverte (p. 486).
- Voragen, A., Coenen, G., Verhoef, R., & Schols, H. (2009). Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. *Struct Chem*, 20, 263-275.
- Willats, W., Knox, P., y Dalgaard, J. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 97-104.
- Yuste, J., y Garza, S. (2003). Los geles de pectina y su aplicación industrial alimentaria. *Revista de tecnología e higiene de los alimentos* (342), 93-98.