



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**CAMBIOS EN LA CONCENTRACIÓN DE POLIFENOLES PRESENTES EN LA
GUAYABA (*PSIDIUM GUAJAVA*) VARIEDAD MEDIA CHINA, RECUBIERTA
CON NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS Y ALMACENADA EN
REFRIGERACIÓN**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

CLAUDIA IDALID GARCÍA BETANZOS

**ASESORES: I.A. ALFREDO ÁLVAREZ CÁRDENAS
C. DR. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 CUAUTITLAN
UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



**DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefa del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Cambios en la concentración de polifenoles presentes en la guayaba
(psidium guajava) variedad media china, recubierta con nanopartículas lipídicas
sólidas y almacenada en refrigeración.

Que presenta la pasante Claudia Idalid García Betanzos

Con número de cuenta: 40500843-6 para obtener el título de:
Ingeniera 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 HABLARA EL ESPIRITU”
Cuautitlan Izcalli, Mex. a 10 de noviembre de 2010.

PRESIDENTE IA. Alfredo Alvarez Cárdenas

VOCAL Dra. Elsa Gutiérrez Cortez

SECRETARIO MC. Tais Nopal Guerrero

1er SUPLENTE MC. Julieta González Sánchez

2º SUPLENTE MC. Araceli Ulloa Saavedra

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme lograr mis objetivos pero principalmente porque me diste a los mejores padres del mundo.

A mi mamá, por darme la vida y porque desde el día que nací me ha llenado de buenos ejemplos, consejos, cada vez que me sentía caer tu estuviste ahí para levantarme, me has enseñado a vivir y gracias a ti hoy cumplo la primer meta de muchas.

A mi daddy, por cuidar de mí y mi hermana cuando mi mamá no estaba en casa, por ese gran sacrificio que hiciste y sigues haciendo para darnos una mejor vida, por ser un hombre admirable que no se olvida de su familia, te amo y te estamos esperando.

A mi hermana, por ser mi mejor amiga y confidente, gracias por defenderme siempre de los demás.

Ustedes tres son lo más maravilloso que tengo en la vida y este logro es suyo, espero que cada día se sientan tan orgullosos de mí como hasta hoy.

A mi abue que cuida de mi desde donde está.

A Rosita y Mauricio, por alegrar mi vida.

A mis amigas Alice, Bere, Carmen, Cris, Irene, Kika, Magas y Viris por enseñarme a ser una mejor persona pero sobre todo por su amistad y compañía cuando más sola me sentía y por todos los momentos de alegría, tristeza, enojo y demás que vivimos juntas durante estos 5 años.

A la maestra Luz, por su comprensión, afecto, simpatía, por todas esas cosas que la caracterizan y la hacen inolvidable, por inspirarme a creer en mí misma. Por adoptarnos cuando estábamos huérfanos (Kika, Vale y yo).

Al ingeniero Alfredo por el apoyo y la ayuda que me brindo para lograr cumplir mi meta.

Al doctor Quintanar, por permitirme trabajar en su laboratorio.

A la UNAM, por abrirme sus puertas y permitirme el día de hoy tener una profesión.

ÍNDICE GENERAL

		PÁGINA
	RESUMEN	<i>i</i>
	INTRODUCCIÓN	<i>ii</i>
1	ANTECEDENTES	1
1.1	Origen.....	1
1.1.1	Composición.....	2
1.1.2	Metabolismo.....	3
1.2	Conservación de la guayaba.....	4
1.2.1	Temperatura.....	5
1.2.1.1	Daños por frío en la guayaba.....	6
1.2.2	Recubrimientos.....	6
1.2.2.1	Tipos de recubrimientos.....	7
1.2.2.2	Ventajas del uso de recubrimientos comestibles.....	8
1.3	Nanopartículas lipídicas sólidas.....	9
1.3.1	Ingredientes utilizados en la elaboración de nanopartículas lipídicas sólidas.....	10
1.3.2	Métodos de preparación.....	10
1.3.3	Aspectos de calidad de las nanopartículas lipídicas sólidas.....	14
1.3.4	Nanopartículas en los alimentos.....	14
1.4	Polifenoles.....	15
1.4.1	Polifenoles en los alimentos.....	15
1.4.2	Importancia de los polifenoles.....	18
1.5	Permeabilidad.....	19
2	METODOLOGÍA DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL	20
2.1	Problema.....	20
2.1.1	Objetivos.....	20
2.2	Materiales.....	22
2.3	Descripción del diagrama de bloques seguido para la aplicación de un recubrimiento de nanopartículas lipídicas sólidas.....	25
2.4	Descripción del diagrama de bloques seguido para la elaboración de un recubrimiento “ <i>in situ</i> ”.....	27
2.5	Métodos de análisis.....	29

3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS MISMOS	32
3.1	Características de la cámara de refrigeración.....	32
3.2	Curva de calibración de ácido gálico.....	34
3.3	Tamaño de partícula.....	35
3.4	Índice de polidispersión.....	36
3.5	Potencial Zeta (Ψ_z).....	37
3.6	Cambios fisicoquímicos en la guayaba almacenada.....	39
3.6.1	Pérdida de peso.....	39
3.6.2	Sólidos solubles totales.....	42
3.6.3	Acidez titulable.....	45
3.6.4	Ángulo Hue.....	47
3.6.5	Cromaticidad.....	50
3.6.6	Firmeza.....	53
3.6.7	Polifenoles totales.....	55
3.6.8	Condiciones de desarrollo de un recubrimiento “ <i>in vitro</i> ”.	58
3.6.9	Transmisión del vapor de agua.....	58
	CONCLUSIONES.....	61
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

LISTA DE TABLAS

No. DE TABLA		PÁGINA
1	Composición química de la guayaba	2
2	Factores que otorgan calidad a los frutos y vegetales frescos	7
3	Preparación de recubrimientos de nanopartículas lipídicas sólidas/xantana y xantana	23
4	Diluciones para la elaboración de la curva de calibración	34
5	ANOVA tamaño de partícula	36
6	ANOVA índice de polidispersión	37
7	ANOVA potencial zeta (Ψ_z)	38
8	Cambios en el potencial zeta (Ψ_z) con respecto al tiempo de almacenamiento	38
9	ANOVA ángulo Hue con respecto a la concentración y al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración	48
10	ANOVA ángulo Hue con respecto a la concentración y al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días	49
11	ANOVA croma con respecto a la concentración y al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración	51
12	ANOVA croma con respecto a la concentración y al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días	52
13	Resultados de transmisión de vapor de agua y permeabilidad al vapor de agua a 24 y 125 horas	58
14	ANOVA transmisión de vapor de agua.	60

LISTA DE FIGURAS

No. DE FIGURA		PÁGINA
1	Cuadro Metodológico	21
2	Diagrama de bloques seguido para la aplicación de los recubrimientos a la guayaba	24
3	Diagrama de bloques seguido para la elaboración de los recubrimientos “ <i>in situ</i> ”	27
4	Humedad relativa dentro de la cámara de refrigeración	32
5	Temperatura dentro de la cámara de refrigeración	33
6	Velocidad del aire dentro de la cámara de refrigeración	33
7	Curva de calibración de ácido gálico	34
8	Tamaño de partícula en función a la concentración y al tiempo de almacenamiento	35
9	Índice de polidispersión en función al tiempo de almacenamiento	36
10	Potencial zeta (Ψ_z) en función al tiempo de almacenamiento	37
11	Comportamiento de la pérdida de peso con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración	39
12	Comportamiento de la pérdida de peso con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días	40
13	Comportamiento de los sólidos solubles totales con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración	42
14	Comportamiento de los sólidos solubles totales con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días	43
15	Comportamiento de la acidez titulable con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración	45

16	Comportamiento de la acidez titulable con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días	46
17	Comportamiento del ángulo Hue con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura de refrigeración	47
18	Comportamiento del ángulo Hue con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura ambiente durante 5 días	49
19	Comportamiento de la cromaticidad con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura de refrigeración	50
20	Comportamiento de la cromaticidad con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura ambiente durante 5 días	52
21	Comportamiento de la firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura de refrigeración	53
22	Comportamiento de la firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura ambiente durante 5 días	54
23	Comportamiento de los polifenoles totales con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura de refrigeración	55
24	Comportamiento de los polifenoles totales con respecto al tiempo de almacenamiento y temperatura ambiente durante 5 días	56
25	Comportamiento de la transmisión del vapor de agua de los recubrimientos nanopartículas lipídicas sólidas/xantana y xantana	59

RESUMEN

Mediante este proyecto se estudió la influencia de un recubrimiento de nanopartículas lipídicas sólidas-xantana sobre la concentración de polifenoles totales durante el almacenamiento en refrigeración.

La necesidad de aprovechar los polifenoles presentes en frutas como la guayaba, debido a su capacidad antioxidante, ha conducido a buscar alternativas para evitar la degradación de dichos compuestos. Una opción es la utilización de las nanopartículas lipídicas sólidas como recubrimiento, el cual modificará la permeabilidad del epicarpio limitando la actividad respiratoria y evitando el daño por frío ya que también actúa como agente protector. La utilización de diferentes concentraciones de NLS (60, 65, 70 y 75%) se realizó para evaluar las eficiencias de dichos recubrimientos. Las guayabas fueron clasificadas de acuerdo al estado de madurez (verde claro), tamaño y calidad, posteriormente fueron recubiertas a diferentes concentraciones de goma xantana-NLS y almacenadas a una temperatura de $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y a una humedad relativa de $80\% \pm 10\%$ durante cuatro semanas. Las características evaluadas durante el almacenamiento fueron; el porcentaje de pérdida de peso, color, firmeza, acidez total titulable, grados Brix y polifenoles totales.

En general el recubrimiento de las guayabas disminuyó la pérdida de peso, la degradación del color, el valor de °Brix, la acidez y la menor pérdida de firmeza con respecto a las guayabas que no fueron recubiertas (control). En las guayabas recubiertas sólo con goma xantana se presentaron daños fisiológicos, las concentraciones de 60 y 65% de NLS-xantana fueron las que presentaron mejores resultados al retardar por más tiempo la maduración del producto, las concentraciones con 70 y 75% aceleraron la maduración, esto debido al efecto del recubrimiento. En cuanto a los polifenoles totales, estos no presentaron grandes cambios a los reportados en la bibliografía pues no disminuyeron a lo largo del tiempo de almacenamiento debido a que el etileno favorece la preservación de los polifenoles totales, por lo tanto al madurar el producto, se asegura la presencia de actividad antioxidante.

INTRODUCCIÓN

Los recubrimientos comestibles de fuentes renovables, incluyendo lípidos, polisacáridos y proteínas se han usado para incrementar la calidad y extender la vida de anaquel de frutas, vegetales frescos y mínimamente procesados (Lin y Zhao, 2007). Las frutas y los vegetales son recubiertos con estos materiales comestibles formando así una membrana semipermeable en la superficie del producto. Esta membrana actúa como una barrera por regular la transferencia de humedad, O₂, CO₂, aroma y sabores (Castillo et al., 2008). Además actualmente los recubrimientos se han estado empleando como acarreadores de sustancias activas que contribuyen a incrementar la vida útil de los productos.

La aplicación más relevante de los recubrimientos comestibles hasta ahora es una emulsión con cera y aceites que se distribuye en las frutas para mejorar su apariencia dando brillo, color y suavidad. Esto permite tener un control de maduración y pérdida de agua. Además mejora las propiedades mecánicas y de manejo de los alimentos (Lin y Zhao, 2007).

En por esto que los recubrimientos comestibles constituyen una estrategia potencial para reducir los efectos perjudiciales que conllevan las operaciones previas al preenfriamiento y almacenamiento en los tejidos vegetales de frutas frescas, constituyendo un campo innovador en el área de la conservación de alimentos frescos; sin embargo, los recubrimientos comestibles tradicionales no cuentan con una buena regulación en el intercambio gaseoso, los cuales pueden provocar la alteración de producto rápidamente como resultado de algunas reacciones químicas como la glucólisis (Lin y Zhao, 2007).

Las propiedades de los recubrimientos comestibles dependen en gran medida de la composición y estructura de los ingredientes (Rojas et al., 2008). En este proyecto se propone estudiar los cambios en la concentración de polifenoles totales presentes en la guayaba, cuando ésta es recubierta con una película de NLS-xantana que pueda proporcionar al fruto una permeabilidad selectiva a los gases internos y de la atmósfera.

Las NLS pueden definirse como partículas sólidas coloidales que contienen una sustancia activa y son producidas por medios mecánicos o químicos (Wissing et al., 2004). Ofrecen también ventajas tales como transporte coloidal, gran capacidad de encapsulación, alta estabilidad física y química la cual mejora la biodisponibilidad de medicamentos y

nutrientes, larga escala de producción y características de liberación controlada (Wissing et al., 2004). Las NLS pueden ser usadas como una alternativa de conservación de alimentos al encapsular en ellas antioxidantes, agentes antimicrobianos y otros aditivos capaces de aumentar su vida útil y disminuir la degradación de compuestos fenólicos, los cuales tienen una actividad antioxidante importante para la prevención de enfermedades tales como el cáncer.

La guayaba (*Psidium guajava L.*) es de origen tropical perteneciente a la familia de las Myrtaceae, es importante desde el punto de vista económico en regiones tropicales y subtropicales del mundo, generalmente se consume fresco y tiene alto valor nutricional. La guayaba es un fruto climatérico con tiempo de vida útil corto, con apenas 2 a 7 días a temperatura ambiente. Se caracteriza por su sensibilidad al daño por frío y una rápida maduración poscosecha lo que lo hace un producto altamente perecedero (Singh y Pal, 2008).

1. ANTECEDENTES

1.1 Origen

El nombre científico de la guayaba es *Psidium guajava*. El nombre genérico de *Psidium* proviene del griego *psidion* que significa granada, por la aparente semejanza de los frutos.

Hoy en día la guayaba está ampliamente distribuida en toda la franja tropical y en algunas zonas subtropicales, tanto de forma silvestre como comercial; y es una de las 50 especies frutales más conocida y consumida a nivel mundial.

El guayabo pertenece a la especie *Psidium quaiava*, es una planta arbórea de la familia de las Mirtáceas y género *Psidium* (Marquina et al., 2008). Alcanza una altura de 3 a 10 metros y su fruto se conoce como guayaba. El guayabo comienza a fructificar dos años después del trasplante y alcanza su máxima producción a los 8 años, con un período medio de vida productiva de 30 años (SAGARPA, 2005).

Los suelos más favorables para su desarrollo son los areno-arcillosos con un pH comprendido entre 5 y 8, sin embargo, puede prosperar en suelos arcillosos y compactos, siempre y cuando estén húmedos. También puede soportar inundaciones, pero en los suelos de baja fertilidad y poca retención de humedad, produce poco y la fruta es de mala calidad.

En cuanto a las exigencias climáticas, el guayabo crece mejor en los climas cálidos entre 25–32 °C, aunque puede resistir, ocasionalmente, temperaturas cercanas a la congelación (SAGARPA, 2005).

Se desarrolla muy bien entre los 0 y los 1000 metros sobre el nivel del mar (msnm), pero se ha reportado que esta especie puede encontrarse en altitudes de 1800 msnm o más. Se desenvuelve bastante bien entre los 1000–3700 mm/año de precipitación o dependiendo de la región; láminas de precipitación menores de 1000 mm obligan a que su proceso de hidratación se efectúe mediante irrigación para lograr obtener rendimientos aceptables. La elevada humedad relativa del ambiente no le es del todo desfavorable y en cambio es afectada cuando la humedad es marcadamente baja (SAGARPA, 2005).

En nuestro país la mayoría de huertos en cultivo representan su producción más notable en base a los tipos criollos, siendo Aguascalientes la región que aporta más tipos conocidos, como media china, chinas, la labor, salmón y rosa (SAGARPA, 2009).

1.1.1. Composición

La composición química promedio de la guayaba se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Composición química de la guayaba

Nutrimiento	Unidad	Valor por 100g de porción comestible
Agua	g	80.66
Energía	Kcal	69
Proteínas	g	0.58
Grasa total	g	0.6
Carbohidratos	g	17.36
Fibra Dietética	g	5.4
Calcio	mg	21
Hierro	mg	0.22
Magnesio	mg	17
Fósforo	mg	27
Potasio	mg	292
Sodio	mg	37
Vitamina C (ácido ascórbico total)	mg	37
Vitamina A	UI	90

Fuente: Marquina et al., 2008.

La guayaba es una de las plantas con mayor concentración de ácido ascórbico, el contenido de vitamina C en el fruto es muy alto (entre 5 y 8 veces mayor que los cítricos, considerados a nivel mundial como fuentes tradicionales de vitamina C), por lo que la guayaba es ideal para aquellas personas que no toleran los cítricos ya que ayuda a incrementar la absorción de hierro; es una buena fuente de potasio, su contenido de niacina es alto y el de calorías es menor al de la mayoría de las frutas comunes. También es una fuente importante de fibra soluble debido principalmente a la pectina. Además actualmente se ha destacado su aporte benéfico como agente protector celular ya que por contener polifenoles induce la destrucción de células dañinas al cuerpo, apoptosis (Mercado-Silva y López-Enríquez, 2003). De lo anterior se desprende que el fruto tiene cualidades

nutricionales y mejora la digestión, hasta ahora, poco o nada aprovechadas en la promoción o publicidad.

1.1.2 Metabolismo

La respiración es un fenómeno bioquímico complejo en el cual los carbohidratos, ácidos orgánicos y otros compuestos son metabolizados en moléculas más simples, con la consecuente producción de energía.

En los frutos, la sacarosa es el fotosintato más importante y el almidón su principal forma de almacenamiento. Evidentemente, las reservas almacenadas se agotan estando éstas relacionadas con el envejecimiento y muerte de los tejidos, lo cual dependerá a su vez de numerosos factores.

Son distintas las formas en que se llevan a cabo los cambios o pérdidas en los productos agrícolas almacenados como consecuencia de la reestructuración metabólica y química que desencadena dentro del fruto (Badui, 2006). A continuación se enlistan los principales cambios:

- a. Pérdida de agua: es el compuesto que más rápido se pierde durante la respiración debido al proceso de transpiración. Cuanto mayor sea el déficit de presión de vapor de agua, mayor será la pérdida. Se estima que si un producto ha perdido por esta vía un promedio de 5% de su peso fresco, éste ya es indeseable en el mercado (Badui, 2006).
- b. Redistribución de carbohidratos: Debido a la degradación de reservas de almidón que se convierte en azúcares durante el proceso respiratorio, se lleva a cabo una redistribución de los carbohidratos, considerando que el almidón representa en promedio el 2% a 40% del peso seco de los frutos, la forma más apreciable de la degradación de almidón será una sustancial pérdida de peso de los mismos (Badui, 2006).
- c. Compuestos nitrogenados: se lleva a cabo una degradación de proteínas y aceleración de reacciones enzimáticas debidas a los cambios en el pH, temperatura, actividad de agua, etcétera. Estas reacciones enzimáticas degradan los constituyentes de la pared celular (polisacáridos), las enzimas de la vía de la biosíntesis del etileno y las enzimas del ciclo de Calvin. Estas alteraciones se manifiestan macrométricamente sobre la calidad de la fruta.

Ejemplos de enzimas: polifenoloxidasas, alfa-amilasas, beta-amilasas, galactocidasas, peroxidasas y lipooxigenasas (Badui, 2006).

d. Pérdida de clorofila y otros pigmentos: es un problema en productos como los frutos, cuyo color intenso y brillante es deseado. Los pigmentos carotenoides pueden ser degradados.

e. Cambios nutricionales: la guayaba es portadora de vitaminas importantes para la salud como las del grupo B: Tiamina (B1), indispensable en el aprovechamiento de carbohidratos y proteínas y el buen funcionamiento del sistema nervioso, ésta se pierde muy fácilmente debido a que se ve afectada por el pH, además de ser hidrosoluble, por lo tanto se puede lixiviar durante la transpiración del producto. Riboflavina (B2), compuesto esencial para que los tejidos utilicen en forma adecuada el oxígeno como combustible, es fotosensible. Niacina (B3), necesaria para que los tejidos quemem de manera eficaz los carbohidratos y proteínas que producen energía, ésta se ve modificada por las pérdidas de humedad del producto. También contiene provitamina A (carotenos), que auxilia en la conservación de la vista y es importante para que ciertos tejidos de la piel puedan crecer y regenerarse con normalidad (Badui, 2006).

La combinación de estas formas de pérdida inciden directamente en una reducción sustancial de los atributos de calidad que caracterizan a todo producto y de las “expectativas de vida” en almacenamiento de los productos agrícolas perecederos (Badui, 2006).

1.2 Conservación de la guayaba

Una de las principales limitantes en la conservación de frutas es su perecibilidad, ya que en estado fresco su conservación en buen estado es de tan sólo unos cuantos días. De tal manera, que la búsqueda de alternativas es un factor fundamental para incrementar la vida útil de los productos manteniendo con ello su calidad sensorial, cualidades nutrimentales, el ser naturales y accesibles al consumidor con un valor agregado desde el punto de vista de su conveniencia y el hecho de ser saludables. Logrando además, cumplir con el objetivo de disminuir las pérdidas poscosecha que actualmente oscilan alrededor del 35 % en las economías emergentes (Casp, 2003).

1.2.1 Temperatura

La madurez óptima para diversas frutas y hortalizas se ve fuertemente afectada por el clima, así al mantener el producto a temperatura ambiente tiene como consecuencia un acortamiento del tiempo que transcurre entre la madurez de consumo y la senescencia, esto a consecuencia de la aceleración de las reacciones de deterioro asociadas a la respiración y transpiración del producto. Para disminuir la velocidad de las reacciones de deterioro, y con ello incrementar la vida útil, es necesario recurrir a la refrigeración, la que por un lado contribuye durante el preenfriamiento a eliminar el calor de campo y preparar al producto y esto le permite conservarse por mayor tiempo a temperaturas por debajo de la ambiente y cuyo límite inferior es de $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$. La disminución de la misma afecta directamente la velocidad de respiración y todas las reacciones químicas (Michelis, 2006).

La respiración es un proceso natural que tiene como finalidad mantener con vida a los frutos en función de los nutrientes almacenados. En la velocidad de respiración de un fruto están involucrados factores intrínsecos y extrínsecos, dentro de los primeros se encuentra la composición del producto, variedad, estado de madurez, geometría y peso, dentro de los segundos está la temperatura, los daños mecánicos, método de cosecha y manipulación del producto (Kader, 2002). Las fitohormonas presentes en los frutos, en especial el etileno que se expresa bioquímicamente y principalmente a partir de la madurez fisiológica, es un factor importante ya que muchas de sus reacciones provocan cambios de respiración y reblandecimiento del tejido.

Algunos de los factores que afectan la vida útil de las frutas son el desarrollo microbiano, humedad relativa, producción de etileno y cómo afecta éste la maduración; por ello el período de almacenamiento se debe determinar combinando el efecto sobre la calidad de la senescencia natural, las posibilidades de producción de microorganismos, de controlar el etileno y la humedad relativa ambiente y la de las lesiones por frío. La refrigeración tiene como objetivo disminuir la velocidad de deterioro tanto como sea posible sin que ocurra una maduración anormal o algunos otros cambios indeseables (Michelis, 2006).

1.2.1.1 Daños por frío en la guayaba

Ocurre cuando se almacena el fruto a temperaturas por encima de su punto de congelación (0 °C) pero debajo de los 8 °C, los síntomas del daño se hacen más notorios después de que el producto es transferido a temperaturas más altas. Los más comunes son, oscurecimiento interno y de la superficie (pardeamiento), pequeños hundimientos en la superficie, madurez no uniforme o pérdida de la capacidad de madurar, desarrollo de olores no propios de la guayaba madura y una aceleración en la incidencia de hongos y pudriciones superficiales (Kader, 2002).

Las guayabas en plena madurez son menos sensibles al daño por frío que aquellas en estado verde-maduro y se les puede conservar hasta por una semana a 5 °C sin mostrar síntomas negativos. Éstos se manifiestan cuando el producto es almacenado y transportado a temperaturas menores a la indicada. Las condiciones óptimas para almacenamiento son:

- La fruta verde madura puede estar almacenada por 2 ó 3 semanas de 8 °C a 10 °C.
- La que está madura y blanda puede almacenarse más o menos una semana de 5 °C a 8 °C.
- La humedad relativa en ambos casos se debe controlar en un nivel de 90 a 95 %.
- La vida de anaquel no es mayor a 7 días cuando es sometida a una temperatura de 20 °C.

Aunque no se ha establecido que en todos los casos los daños por frío estén asociados a altas tasas respiratorias, resulta muy probable que el almacenamiento de guayaba en temperaturas por debajo de 4.5 °C conlleve al daño fisiológico y en consecuencia al incremento de la actividad respiratoria.

1.2.2 Recubrimientos

El tejido de frutas y vegetales frescos continúa vivo hasta el momento de ser consumidos, cocinados o procesados para su consumo. El controlar la respiración de estos tejidos puede mejorar el almacenamiento y alargar su vida útil, es por ello que se requiere de un nivel exacto de la actividad respiratoria para prevenir la senescencia y muerte de las frutas. El

concepto de utilizar recubrimientos comestibles para extender la vida útil de frutas frescas y protegerlas de daños y enfermedades microbiológicas se basa en la necesidad de conservar la calidad del producto (Lin y Zhao, 2007).

Para regular la transferencia de humedad, oxígeno, dióxido de carbono y compuestos del sabor en sistemas alimenticios, algunos recubrimientos han demostrado su capacidad de conservar la calidad del alimento y prolongar la vida de anaquel de productos frescos. Los recubrimientos comestibles también tienen la capacidad de transportar ingredientes funcionales al producto tales como antioxidantes, antimicrobianos, nutrientes y sabores lo cual ayuda a mejorar la calidad, funcionalidad y seguridad de los frutos. En la tabla 2 se muestran los factores que otorgan la calidad a los frutos y vegetales frescos, los cuales pueden cambiar rápidamente durante el almacenamiento poscosecha y dependen de la variedad del producto, estado de madurez y las condiciones pre y poscosecha (Lin y Zhao, 2007).

Tabla 2. Factores que otorgan calidad a los frutos y vegetales frescos

Factores de calidad	Principales componentes
Apariencia (visual)	Tamaño, forma, intensidad y uniformidad de color, brillo y defectos
Textura (sensación en la boca)	Firmeza/suavidad, frescura, jugosidad, dureza (fibrosidad)
Sabor (sabor y aroma)	Dulzor, acidez, astringencia, amargura, compuestos volátiles
Valor nutricional	Vitaminas y minerales
Seguridad	Sustancias tóxicas, contaminación química y microbiológica

Fuente: Lin y Zhao, 2007.

Los frutos y vegetales son recubiertos generalmente por inmersión o aspersion con una sustancia comestible, la cual forma una membrana semipermeable en la superficie del producto al limitar la respiración, controlando la pérdida de humedad y otorgándole al producto otras funciones.

1.2.2.1 Tipos de recubrimientos en alimentos

Existe una gran variedad de materiales comestibles que son utilizados para producir recubrimientos, entre éstos los más efectivos en el sector hortofrutícola son: lípidos (ceras,

aceites, triglicéridos, glicéridos parciales, ácidos grasos, esteroides), polisacáridos y proteínas ya sean solos o combinados (Lin y Zhao, 2007), el tipo de recubrimiento que se aplica al producto depende del fruto que se desea conservar, pues todos éstos tienen diferente comportamiento bioquímico y es necesario buscar uno que cumpla las funciones precisas para retardar la maduración del producto.

1.2.2.2 Ventajas del uso de recubrimientos comestibles

A continuación se presentan algunas características de los recubrimientos y su acción para alargar la vida útil de frutas y vegetales frescos

a) Actúan como barrera a la humedad en la superficie del producto, contribuyendo de esta manera a disminuir la pérdida de agua, este problema durante el almacenamiento postcosecha concluye en una reducción de peso del producto y esto a su vez provoca cambios en la textura, sabor y apariencia.

b) Proveen una barrera al intercambio de gases entre producto fresco y la atmósfera que lo rodea, reduciendo la respiración del fruto. Esta barrera también retarda la oxidación enzimática, protege al producto de coloración café y pérdida de textura durante el almacenamiento.

c) Restringe el intercambio de compuestos volátiles entre el producto y su entorno debido a la formación de la barrera de gases, esto ayuda a prevenir la pérdida de compuestos volátiles naturales del sabor, del olor y evitando la producción de olores desagradables en los productos frescos.

d) Protege al producto de daños físicos ocasionados por impactos mecánicos, presión, vibración y otros factores mecánicos.

e) Actúan como transportadores de ingredientes funcionales como agentes antimicrobianos y antioxidantes los cuales ayudan a reducir la carga microbiana, colorantes, saborizantes. Retardan la oxidación y decoloración, lo cual le brinda calidad al producto (Lin y Zhao, 2007).

1.3 Nanopartículas lipídicas sólidas

Wretlind (1960) desarrolló la primera emulsión parenteral y éste fue el comienzo de un nuevo procedimiento de transportación de los medicamentos lipofílicos. La principal ventaja de este sistema de transportación es que se redujo el efecto causado en el área de la inyección, aunque también contaba con desventajas entre las cuales estaba la estabilidad física del medicamento contenido en la emulsión, lo cual reducía el potencial zeta, por lo tanto había aglomeraciones, expulsión del agente activo y algunas veces la pérdida de la emulsión. Más adelante en los 70's se introdujeron los liposomas como medios transportadores parenterales, aunque la estabilidad física de éstos seguía siendo un impedimento para su desarrollo, además de que en éstos había fugas del ingrediente activo, baja actividad específica y dificultad de llevar su procesamiento a gran escala. Años después aparecieron las nanopartículas poliméricas hechas a base de polímeros biodegradables y no biodegradables, al igual que los sistemas antes desarrollados, este también contaba con ventajas y desventajas. Entre las primeras está su mayor orientación hacia el sitio específico y además el control de la liberación del ingrediente activo contenido en éstas, pero la toxicidad del polímero para las células era de gran importancia, además de la problemática que representaba el llevarlas a escalamiento (Wissing et al., 2004).

A mediados de los 90's la atención se centró en una alternativa llamada nanopartícula hecha a partir de lípidos sólidos, también llamadas nanopartículas lipídicas sólidas (NLS). Las NLS combinan las ventajas de los otros sistemas de transportación y además la posibilidad de controlar la liberación del ingrediente activo y su difusión, tienen mayor estabilidad, pueden transportar mayor cantidad de medicamento, no son biotóxicas pero al mismo tiempo reducen las desventajas ya que no es necesario el uso de solventes para su producción y el escalamiento ya no es un problema (Wissing et al., 2004).

Las NLS son partículas con una matriz sólida formada por un lípido y cuyo rango de tamaño se encuentra en la escala nanométrica que va de 200 a 500 nm (Weiss et al., 2008), sus excipientes son grasas o lipofílicos (Wissing et al., 2004).

1.3.1 Ingredientes utilizados en la elaboración de las nanopartículas lipídicas sólidas

Los ingredientes generales son un sólido lípido, emulsificante y agua. Toda clase de emulsificante puede ser utilizado para su producción, siempre y cuando se tenga en cuenta el peso y carga molecular; su función es estabilizar la suspensión lipídica (Mehnert et al., 2001).

Los ingredientes de las nanopartículas lipídicas sólidas representan un factor importante en la calidad de éstas, es por eso que a continuación se muestran los parámetros que se deben tomar en cuenta para seleccionar los ingredientes.

➤ Lípido

Los parámetros críticos que se deben tener en consideración al elegir el lípido son su velocidad de cristalización, su hidrofobicidad y la forma de los cristales que forma. Este ingrediente debe representar del 5 al 10% de la formulación, de lo contrario es posible la obtención de partículas de gran tamaño e índices de polidispersión amplios.

➤ Emulsificante

Seleccionar un emulsificante y su concentración es muy importante en la calidad de las NLS ya que tiene influencia sobre el tamaño de partícula final, éste debe ser alcanzado durante la homogeneización y afecta directamente la estabilidad de la dispersión después de que se fabrica debido a que produce interacciones repulsivas entre las partículas evitando la floculación y coalescencia (Weiss et al., 2008).

Altas concentraciones de emulsificante reducen la tensión superficial y facilita la formación de la nanopartículas durante la homogenización, además de que la reducción del tamaño de la partícula está relacionada con el incremento en el área superficial. Los parámetros de homogeneización dependen de las características del emulsificante que se utilizará (Weiss et al., 2008).

1.3.2 Métodos de preparación

Existen diferentes métodos para preparar las nanopartículas lipídicas sólidas:

1) Homogenización a alta presión

En los últimos años se ha demostrado que este método es el más efectivo para la producción de dispersiones sólido-lípidas de tamaño submicrónico. A diferencia de otros procesos no representa problema alguno para el escalamiento (Mehnert y Mader, 2001).

La homogeneización de alta presión empuja el líquido a una fuerza de entre 100 a 2000 bares a través de un espacio pequeño, el fluido es acelerado en un tiempo muy corto a una alta velocidad (mayor a 1000Km/h). La cavitación y la turbulencia forzan a las partículas a reducir su tamaño a una talla submicrónica (Wissing et al., 2004). La homogeneización de este método puede realizarse en frío o en caliente y en ambos casos como paso previo se debe incorporar el ingrediente activo por medio de una dispersión al lípido fundido (Mehnert y Mader, 2001).

2) Homogenización en caliente

Este proceso se lleva a cabo a temperaturas por encima de la de fusión del lípido. Se obtiene una pre-emulsión al incorporar la fase lípida (ingrediente activo-lípido) con la fase acuosa (agua-emulsificante) con la ayuda de un dispositivo mezclador de alta velocidad (Ultra-Turrax modelo T50 de IKA USA). Generalmente el uso de altas temperaturas ayuda a la reducción del tamaño de partícula debido al efecto de éstas sobre la viscosidad de la emulsión y se debe considerar que el uso de alta presión incrementa la temperatura de la muestra (10 °C por cada 500 bares aprox.). En la mayoría de los casos son suficientes de 3 a 5 ciclos de homogeneización en un rango de 500 a 1500 bares, ya que si se aumenta la presión o el número de ciclos puede resultar en un aumento del tamaño de partícula debido a la coalescencia, la cual ocurre como resultado de la alta energía cinética (Wissin et al., 2004). El producto final de la homogenización en caliente es una nanoemulsión debido al estado líquido del lípido. Gracias a la presencia de un emulsificante y al tamaño de partícula nanométrica es posible retardar la cristalización del lípido (Mehnert y Mader, 2001).

3) Homogenización en frío

A diferencia del método anterior, la homogenización en frío de éste se lleva a cabo con el lípido en estado sólido, por lo tanto, en este caso se trata de una suspensión, la cual es sometida a un cizallamiento a alta presión. Es necesario tener control sobre la temperatura debido a que al homogeneizarse ésta se incrementa por efecto de la presión (Mehnert y Mader, 2001). Este proceso fue desarrollado principalmente para cubrir las siguientes necesidades del método de homogenización en caliente.

- El ingrediente activo se degrada por el uso de altas temperaturas.
- Evitar que el ingrediente activo se difunda en la fase acuosa al momento de realizar la pre-emulsión.

Después de la dispersión o solubilización del ingrediente activo en el lípido fundido, la muestra es rápidamente enfriada con hielo seco o nitrógeno líquido para favorecer la distribución homogénea dentro de la matriz del lípido e incrementar su fragilidad al cizallamiento. Después, el sólido es sometido a un esfuerzo de corte para formar macropartículas (50-100 micrómetros), las cuales son posteriormente dispersadas en una solución emulsificante previamente refrigerada, esta pre-emulsión es sometida a la homogenización de alta presión (Mehnert y Mader, 2001).

4) Homogenización de alta velocidad y ultrasonido

Este método fue utilizado para la preparación de nanodispersiones sólido lípidas a partir de un cizallamiento de alta velocidad o zonificación. La gran ventaja de esta técnica es que el equipo requerido para llevarla a cabo es común en cualquier laboratorio además de que es muy fácil de realizar, aunque el tamaño de partícula final tiene un rango muy amplio y la inestabilidad física y de las partículas aumenta durante el almacenamiento, pero esto puede ser solucionado con el uso de altas concentraciones de emulsificante (Wissing et al., 2004).

Al combinar el cizallamiento de alta velocidad y los ultrasonidos se incrementa la temperatura de la dispersión. Ciclos muy altos de cizallamiento no representan un cambio significativo en el tamaño de partícula aunque sí beneficia el índice de polidispersión.

5) Emulsificación- evaporación o difusión con solvente

En el método de emulsificación- evaporación, el lípido se disuelve en un solvente inmiscible en agua el cual después es emulsificado en una fase acuosa antes de que se evapore el solvente por reducir la presión. Durante la evaporación del solvente, el lípido se precipita formando las NLS, en este método no es necesario el uso de calor durante la preparación, lo cual lo hace accesible para la incorporación de medicamentos altamente sensibles al calor. Uno de los problemas de este método es el residuo de solvente en el producto final. Estas dispersiones se encuentran muy diluidas debido a la limitada solubilidad del lípido en agua. La concentración final de NLS es de 0.1g/L aproximadamente, aunque ésta se puede incrementar mediante la ultrafiltración o evaporación (Wissing et al., 2004).

En la técnica de emulsificación difusión se utilizan solventes parcialmente miscibles en agua. Inicialmente el solvente se satura con agua para asegurar el equilibrio termodinámico inicial de ambos líquidos, posteriormente el líquido se disuelve en el solvente saturado con agua y después emulsificado en una solución acuosa saturada de surfactante a temperatura elevada. Las NLS se precipitan después de la adición del excedente de agua debido a la difusión del solvente orgánico, esta suspensión está también muy diluida en agua por lo cual, para llevar a cabo una concentración es necesaria la ultrafiltración o liofilización. El rango de tamaño de la partícula es cercano a los 100 nm y en ambos métodos se obtiene un índice de polidispersión muy pequeño (Wissing et al., 2004).

6) Microemulsión

Una microemulsión está compuesta de dos fases: interna y externa. Éstas son formadas por el cizallamiento de una mezcla transparente, la cual contiene ácidos grasos con un punto de fusión bajo, a una temperatura elevada (65-75 °C), un emulsificante, un co-emulsificante y agua. La microemulsión caliente se dispersa en agua fría (2-3 °C) con la ayuda de un mezclador. Los gradientes de temperatura altos ayudan a la cristalización y evitan la aglomeración, además, el gradiente de temperatura y el pH son fundamentales para la calidad final del producto (Wissing et al., 2004).

1.3.3 Aspectos de la calidad de las nanopartículas lipídicas sólidas

➤ Potencial zeta (Ψ_z) y tamaño de partícula

La medición del potencial zeta permite predecir el comportamiento en cuanto a la estabilidad de dispersiones coloidales, es decir, a mayor potencial zeta menor será la agregación de las partículas durante el almacenamiento, debido a que éste representa la repulsión eléctrica de las partículas.

Cuando se formula una suspensión se debe tener en cuenta un tamaño de partícula adecuado y garantizar que se mantenga. Es importante señalar que las partículas mayores a $5\mu\text{m}$ ocasionan una textura desagradable, por lo tanto, se requieren partículas de menor tamaño. Además la reducción del tamaño de partícula reduce la velocidad de sedimentación. El método más utilizado para su medición es por difracción láser (Jiménez y López, 2009).

➤ Cristalinidad y modificaciones del lípido

Se debe poner especial atención en el rango de cristalinidad del lípido y en las modificaciones de éste, debido a que ambos parámetros están directamente relacionados con la incorporación del ingrediente activo y la liberación. Debido al tamaño de partícula y a la presencia de emulsificantes se puede retardar la cristalización.

1.3.4 Nanopartículas en los alimentos

Existen cuatro áreas beneficiadas por la nanotecnología, las cuales son: desarrollo de nuevos materiales funcionales, micro y nano escala de procesamientos, desarrollo de productos y métodos e instrumentos diseñados para mejorar la seguridad y bioseguridad de los alimentos (Weiss et al., 2008).

En el desarrollo de nuevos productos se encuentra la utilización de las nanopartículas lipídicas sólidas como recubrimientos de frutas, estos recubrimientos son utilizados para alargar la vida útil del producto debido a que actúan como barrera a los gases, retardando la senescencia de las frutas y vegetales. Además estas partículas pueden incluir un ingrediente activo o aditivo que mejore las características del producto (Weiss et al., 2008).

A continuación se presentan algunas ventajas del uso de las NLS como recubrimientos (Weiss et al., 2008).

- Posibilidad de controlar la difusión y liberación de los aditivos para conservar frutas y vegetales.
- Incrementar la estabilidad de los aditivos.
- Incorporación de aditivos lipofílicos e hidrofílicos.
- No representa un problema para su producción a gran escala.

1.4 Polifenoles

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un grupo considerable que puede definirse de una forma concisa y desde el punto de vista químico como compuestos orgánicos presentes en la naturaleza que poseen al menos un anillo aromático, con uno o más grupos hidroxilos unidos a éste (Rojas et al., 2008).

Los polifenoles están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, principalmente en forma de subproductos generados por el metabolismo, apareciendo como metabolitos secundarios en todas las plantas (Rojas., 2008).

Éstos pueden acumularse como productos finales de dos rutas bioquímicas distintas: la del ácido siquímico que genera los fenilpropanoides y cumarinas, o la ruta del acetato, que proporciona las fenonas más simples y varias quinonas. Además pueden crearse a través de una ruta metabólica intermedia que genera flavonoides, siendo éste el grupo más importante y numeroso de los compuestos polifenólicos (Rojas et al., 2008).

1.4.1 Polifenoles en alimentos

Las frutas contienen polifenoles, los cuales son metabolitos secundarios de las plantas con actividad antioxidante beneficiosa para la salud humana (Marquina et al, 2008).

➤ Flavonoides

Las principales estructuras de este grupo que podemos encontrar distribuidas en alimentos son antocianinas, flavanoles, flavanonas, flavonoles, flavonas, isoflavonoides y chalconas.

El término “aglicona” representa un flavonoide no unido a ninguna otra sustancia química, independientemente del tipo de flavonoide que se considere. “Glicósido”, o más generalmente “estructura glicosilada”, se emplea para indicar estructuras resultantes de la unión a cualquier tipo de azúcar (Barberán, 2003).

➤ Antocianidinas

Son pigmentos que confieren colores a los frutos a pesar del hecho de que en algunos (naranja y tomate) el mencionado color es debido a los carotenoides. Las antocianidinas no glicosiladas (agliconas) puede encontrarse como cationes en medio ácido en forma de diferentes isómeros. Las propiedades de pigmentación de las antocianidinas han sido explotadas por la industria alimentaria como aditivos en zumos y mermeladas.

La estabilidad de las antocianidinas depende en gran medida del pH debido a sus propiedades ácido-base.

Con respecto a las estructuras de antocianidinas más ampliamente distribuidas en el reino vegetal, los seis compuestos citados a continuación son los responsables de la mayoría de la pigmentación en los frutos: cianidina, normalmente encontrada en su estado molecular libre (no glicosilado), es quizás la más común seguida por la delfinidina, peonidina, pelargonidina, petunidina y malvidina. Las antocianidinas generalmente aparecen como glicósidos de las agliconas (Barberán, 2003).

Es posible detectar diferencias cuantitativas en su distribución basada en el grado de maduración del fruto así como en las condiciones climáticas bajo las cuales crece, con la intensidad de la luz y la temperatura ambiental como los factores más decisivos.

Una de las principales características exhibidas por las antocianidinas deriva del hecho de que en la inmensa mayoría de casos estos compuestos tienden a estar monoglicosilados. La glicosilación de las antocianidinas siempre se lleva a cabo en la posición 3 a través de un

puente de oxígeno (enlace O-glicosídico) con glucosa, arabinosa o galactosa (Barberán, 2003).

La cianidina glicosilada con glucosa como azúcar participante, es la estructura más abundante en frutos, aunque pueden encontrarse también otras estructuras glicosiladas en la composición total antocianidínica de este tipo de muestras.

Por otro lado, las antocianidinas acetiladas (químicamente unidas a un ácido) están distribuidas ampliamente en frutos, especialmente en uvas, donde la composición de estas sustancias es bastante compleja debido a la presencia de estructuras monoglicosiladas originarias de las 6 agliconas diferentes. Al mismo tiempo pueden aparecer acetiladas con ácido acético o cumárico (Barberán, 2003).

➤ Flavonas e isoflavonoides

Constituyen el grupo polifenólico menos representativo en alimentos. Las agliconas más ampliamente distribuidas son la apigenina y la luteolina. Como los flavonoides, las flavonas pueden aparecer como estructuras glicosiladas. Con respecto a los isoflavonoides, es necesario indicar que constituyen un grupo polifenólico minoritario en alimentos en términos similares a las flavanonas y flavonas.

Los isoflavonoides son característicos de las plantas leguminosas y se encuentran ampliamente distribuidos en alimentos derivados. Como la inmensa mayoría de este tipo de compuestos polifenólicos, estas estructuras isoflavonoideas también aparecen glicosiladas, habiéndose descrito, asimismo, su presencia en forma de acetil y malonil derivados (Barberán, 2003).

➤ Taninos

En general, el término tanino se refiere a una fracción de compuestos polifenólicos especialmente astringentes, cuya característica fundamental es su alto peso molecular. Estas estructuras poseen una alta capacidad de asociación con otros polímeros biológicos esenciales como las proteínas y los hidratos de carbono.

En el reino vegetal los taninos se encuentran usualmente en dos amplias modalidades metabólicas: los hidrolizables y los condensados. Los primeros son estructuras más simples constituidas por unidades de ácido gálico libre o esterificado, también conocidos como galotaninos. Los condensados, comúnmente denominados proantocianidinas, son polímeros naturales compuestos de unidades de flavan-3-oles. La más común de estas estructuras son las proantocianidinas que están basadas en (+) catequina y (-) epicatequina, que forman unidades estructurales (Barberán, 2003).

1.4.2 Importancia de los polifenoles

Existe un alto interés en los compuestos fenólicos en relación a su fisiología potencial que depende de su actividad antioxidante, su habilidad para atrapar especies de oxígeno activo y electrófilos, de quelatar iones metálicos, su potencial para la autoxidación y su capacidad para modular ciertas actividades enzimáticas celulares (Marquina et al., 2008).

A estos compuestos se les han asignado diversas propiedades biológicas como antioxidantes, anti-inflamatorios, antialérgicos y actividad anticarcinogénica, además se han empleado como marcadores en estudios taxonómicos y también se relacionan con la calidad alimentaria. Asimismo, recientemente se ha comenzado a evaluar la capacidad que presentan dichos compuestos para inhibir la actividad bacteriana.

Es necesario mencionar que los compuestos polifenólicos participan en el metabolismo de las plantas, siendo responsables de su crecimiento y exhibiendo determinadas interacciones con otros organismos vivos.

Entre otras funciones se puede citar la protección de la planta contra infecciones y agresiones por otros microorganismos. Existen evidencias que sugieren que estos compuestos son muy importantes para sus ciclos vitales, así los compuestos polifenólicos puede servir como pantallas contra la radiación UV, una función crucial es cuando están sometidas a altas dosis de radiación (Marquina et al., 2008).

Estos compuestos son potentes antioxidantes, interceptan los radicales libres, son agentes quelatantes de metales e inhiben la peroxidación de lípidos.

Las consecuencias de estas propiedades son los efectos que los compuestos fenólicos exhiben en la prevención de la oxidación, inflamación, alergias y cáncer. También se han realizado diferentes revisiones sobre los aspectos relacionados con la salud de distintos flavonoides encontrados en uvas, considerando que existe una estrecha asociación entre su actividad antioxidante y contra varios tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y algunos desórdenes dérmicos (Marquina et al., 2008).

1.5 Permeabilidad

Es la capacidad de un material para que un fluido lo atraviese sin que se afecte su estructura, este fenómeno es conocido como transmisión de vapor de agua (TVA) la velocidad con que el fluido se filtra a través del material depende de la porosidad de éste, la densidad y presión del fluido, para que el recubrimiento comestible sea permeable debe contener microporos, es decir, micro espacios vacíos que le permitan absorber los gases y el vapor de agua que libera el alimento (De Moura et al., 2009).

2 METODOLOGÍA DEL DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1 Problema: Influencia de un recubrimiento de NLS sobre la concentración de polifenoles totales presentes en la guayaba cuando ésta es sometida a almacenamiento en refrigeración.

Hipótesis General: Debido a que las nanopartículas permiten tener un recubrimiento capaz de funcionar como barrera semipermeable al intercambio de gases con el ambiente, entonces a medida que se aumenta la concentración de (NLS) en el recubrimiento, la permeabilidad de éste aumentará y provocará cambios en la guayaba como, una mayor firmeza, menor % de pérdida de peso, menor índice de madurez y se conservarán mayor tiempo los polifenoles totales durante el almacenamiento

2.1.1 Objetivos

Objetivo general: Evaluar el efecto que tiene un recubrimiento de nanopartículas lipídicas sólidas-xantana sobre la concentración de polifenoles totales y vida útil de la guayaba almacenada en refrigeración.

Objetivo particular 1: Establecer las condiciones para el desarrollo del recubrimiento de NLS “*in vitro*”, que garantice el espesor obtenido durante la aplicación en guayaba fresca, de acuerdo con la cantidad y en función de la superficie.

Objetivo particular 2: Determinar la permeabilidad al vapor de agua de los recubrimientos “*in vitro*” de NLS-xantana en relación a la proporción empleada (60, 65, 70 y 75 %) mediante el método ASTM, para relacionarla con los cambios en polifenoles cuando se utilizan como recubrimiento de guayaba fresca.

Objetivo particular 3: Establecer el efecto de la utilización de diferentes concentraciones de recubrimientos “*in situ*” de NLS sobre los cambios en polifenoles totales determinados por el método de Folin-Ciocalteu.

En la figura 1 se muestra el cuadro metodológico para proyectar el trabajo conjunto, en el se muestran las actividades a desarrollar.

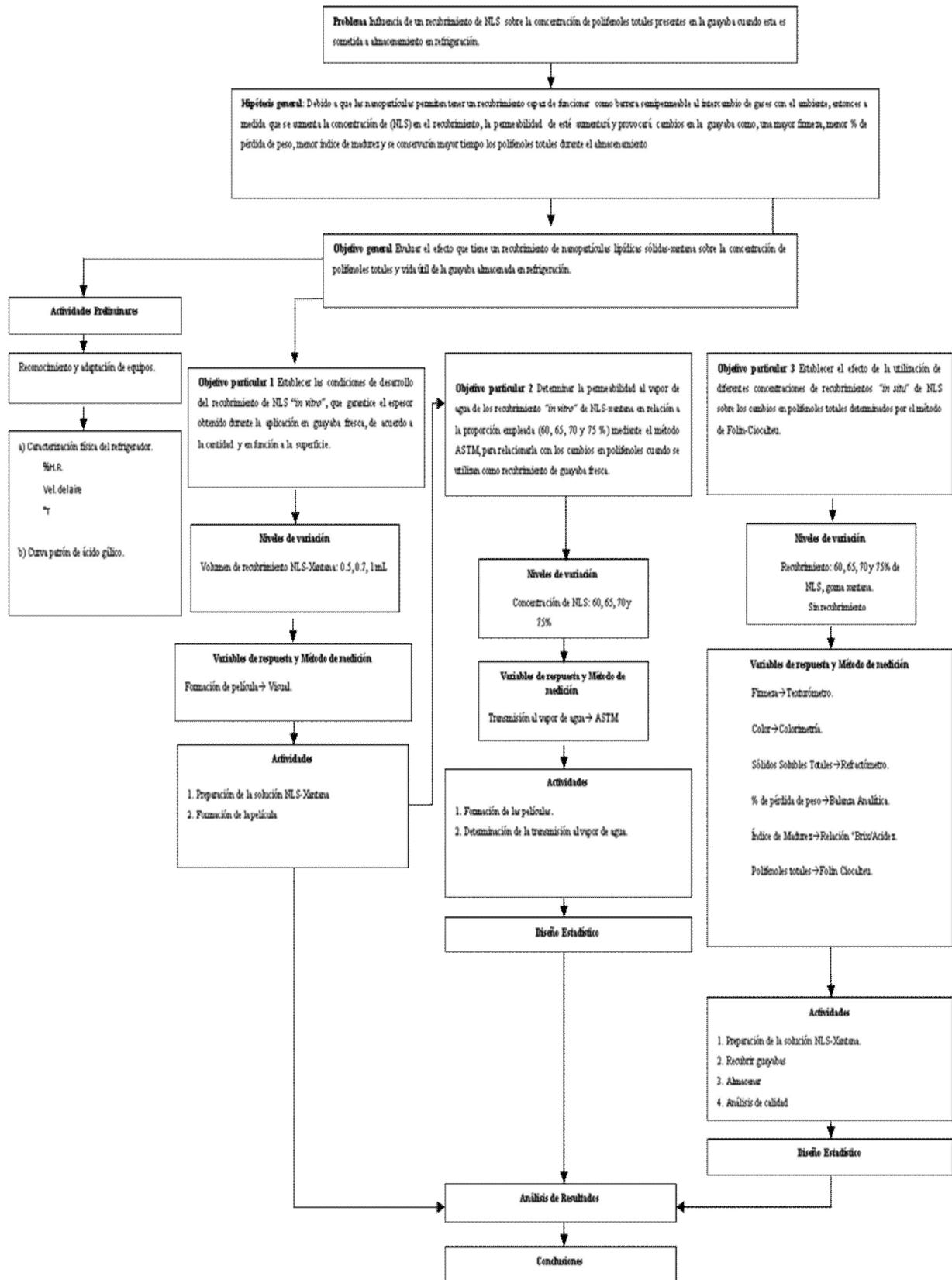


Figura 1. Cuadro metodológico

2.2 Materiales

a. **Materia prima:** El producto se obtuvo en la central de abastos de Tultitlán Estado de México, a partir de un lote de 120 kg de guayaba, variedad media china proveniente del estado de Aguascalientes. Las guayabas fueron seleccionadas con base a su estado de madurez (70% color verde, 30% amarillo), la similitud de su forma, tamaño (45 a 55 cm) y ausencia de lesiones externas (daños mecánicos, por granizo, por plagas y enfermedades), con la finalidad de formar aleatoriamente 6 lotes de 48 guayabas cada uno (Mercado-Silva et al., 1998).

b. Cera de candeuba como fase lipídica, pluronic-127 como estabilizante, agua destilada calidad Milli-Q (Millipore®, USA-Bedford, MD), goma xantana (Sigma Aldrich) la cual fue utilizada como matriz continua del recubrimiento y propilenglicol (99 %) marca Sigma Aldrich como plastificante. Se utilizó Sílica gel como agente captador de humedad.

c. **Preparación nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) por homogenización en caliente.** Las nanopartículas lipídicas sólidas fueron elaboradas a partir del método homogeneización a alta presión en caliente, este proceso se lleva a cabo a temperaturas por encima de la de fusión del lípido (83 °C).

Para la obtención de las NLS se obtiene una pre-emulsión en caliente (90 °C) O/W, para posteriormente con la ayuda de un dispositivo mezclador a alta velocidad, Ultra Turrax modelo T50 de IKA USA durante 3 ciclos de 5 minutos se lleva a cabo la homogeneización de la emulsión (Jiménez y López, 2009).

d. **Caracterización de las nanopartículas lipídicas sólidas.** Para conocer la estabilidad de la emulsión se evaluaron parámetros como: tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial zeta, durante 7 días continuos. Se utilizó un sistema de dispersión láser “nanosizer” marca Malvern Instruments versión del software 5.02.

e. Para desarrollar los recubrimientos se utilizó como soporte goma xantana y se varió la concentración de NLS en el sistema de acuerdo con las formulaciones mostradas en la tabla 3.

Tabla 3. Preparación de recubrimientos NLS/goma xantana

Formulaciones (%)	NLS	Agua destilada	Propilenglicol	Goma xantana
60	60	39.43	0.50	0.16
65	65	34.36	0.50	0.14
70	70	29.38	0.50	0.12
75	75	24.4	0.50	0.10
Goma xantana	--	99.1	0.50	0.40

f. Almacenamiento refrigerado

Con la finalidad de tener un control de los cambios asociados a la aplicación de diferentes concentraciones de recubrimiento NLS-xantana, las muestras de guayaba fueron codificadas de la A a la F para identificar el tipo de recubrimiento aplicado (A, muestras recubiertas con 60% de NLS, B, muestras con 65% de NLS, C, muestras con 70% de NLS, D, muestras con 75% de NLS, E, muestras recubiertas con goma xantana y F, muestras control) y enumeradas del número 1 al 48 para identificar las muestras a estudiar cada día, fueron almacenadas en un sistema de refrigeración, el cual proporcionaba una velocidad del aire de 3.5-1.9 m/s, temperatura de $8\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de 80 % durante 4 semanas para estudiar los cambios ocurridos en la guayaba durante este tiempo.

El desarrollo experimental se llevó a cabo mediante pruebas destructivas por lo que las muestras se fueron retirando de acuerdo con la planeación experimental.

En la figura 2 se muestra el diagrama de bloques seguido para la aplicación de un recubrimiento en la superficie de la guayaba.

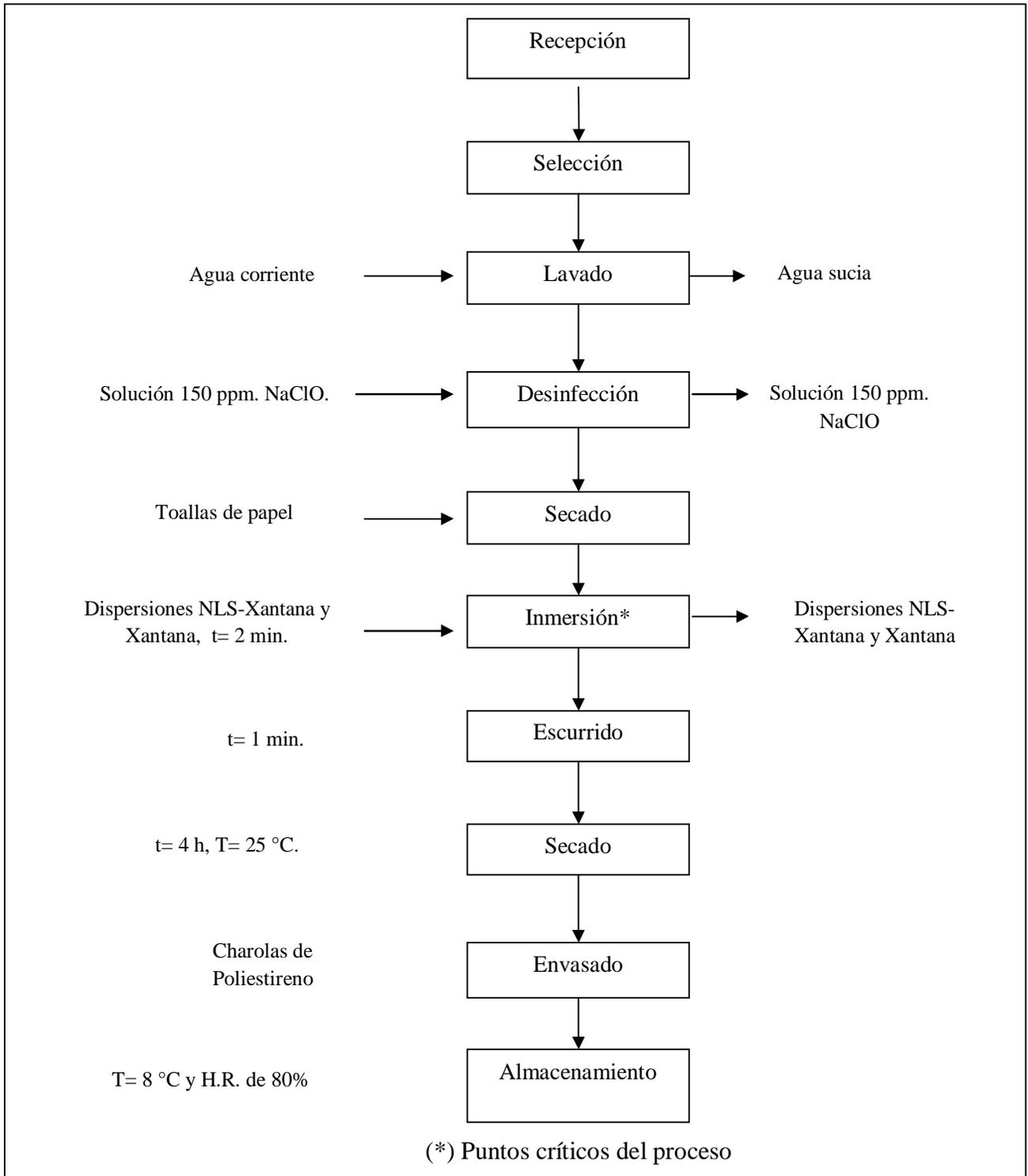


Figura 2. Diagrama de bloques seguido para la aplicación de los recubrimientos en la superficie de guayabas.

2.3 Descripción del diagrama de bloques seguido para la aplicación de un recubrimiento de nanopartículas lipídicas sólidas

➤ Recepción de materia prima

La materia prima fue comprada en la central de abastos de Tultitlán Estado de México a 48 horas después de su cosecha y fue llevada a la nave 2000 de la FESC-C1, UNAM.

➤ Selección de materia prima

Las guayabas fueron seleccionadas de acuerdo con sus características físicas y al color representativo del estado “sazón”, se eliminaron aquellas que presentaron lesiones mecánicas y se aceptaron las de apariencia firme y sin presencia de hongos, así como un olor agradable propio de la guayaba.

➤ Lavado

Las guayabas se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso de tierra o materia extraña que pudieran contener, también se utilizó jabón y una esponja para poder retirar la suciedad adecuadamente. El lavado se realizó con cuidado para no eliminar la capa cerosa propia de la fruta.

➤ Desinfección

Con el objetivo de disminuir la carga microbiana en la superficie del fruto y evitar la contaminación del proceso, las muestras fueron sumergidas durante 5 minutos en una solución de hipoclorito de sodio a 150 ppm.

Los utensilios utilizados durante el proceso también fueron lavados con agua y jabón y desinfectados mediante una inmersión en una solución de cloruro de Benzalconio a 350 ppm durante 5 minutos.

➤ Secado

Se efectuó con toallas de papel para eliminar el excedente del desinfectante y no afectar la formación del recubrimiento.

➤ Inmersión

Las guayabas se sometieron a inmersión en las soluciones NLS-Xantana y Xantana durante 2 minutos para garantizar la formación del recubrimiento controlando el tiempo de inmersión y el tiempo de escurrimiento. (*) Esta etapa del proceso es importante porque aquí se forma el recubrimiento, por lo tanto es un punto crítico sobre el cual se debe poner especial cuidado en esta parte del proceso.

➤ Escurrimiento

Se eliminó el excedente de las soluciones con 1 minuto de escurrimiento, esto se realizó con la ayuda de un clip abierto, las puntas de este se colocaron en los extremos de la guayaba sin perforarla para hacer más eficiente este paso.

➤ Secado

Se colgaron las guayabas en una cortina metálica con la ayuda de clips y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 4 horas.

➤ Envasado

Una vez secas las guayabas, fueron colocadas de manera ordenada en charolas de poliestireno (etiquetadas con el tipo de recubrimiento que tenían las guayabas almacenadas en estas) para prolongar durante más tiempo la vida del producto.

➤ Almacenamiento

Se cerraron las charolas y se almacenaron a temperatura de $8^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ y H.R. de 80 % por 4 semanas, las muestras se fueron retirando conforme se avanzó en la experimentación.

En la figura 3 se muestra el diagrama de bloques de la aplicación de un recubrimiento “*in situ*”.

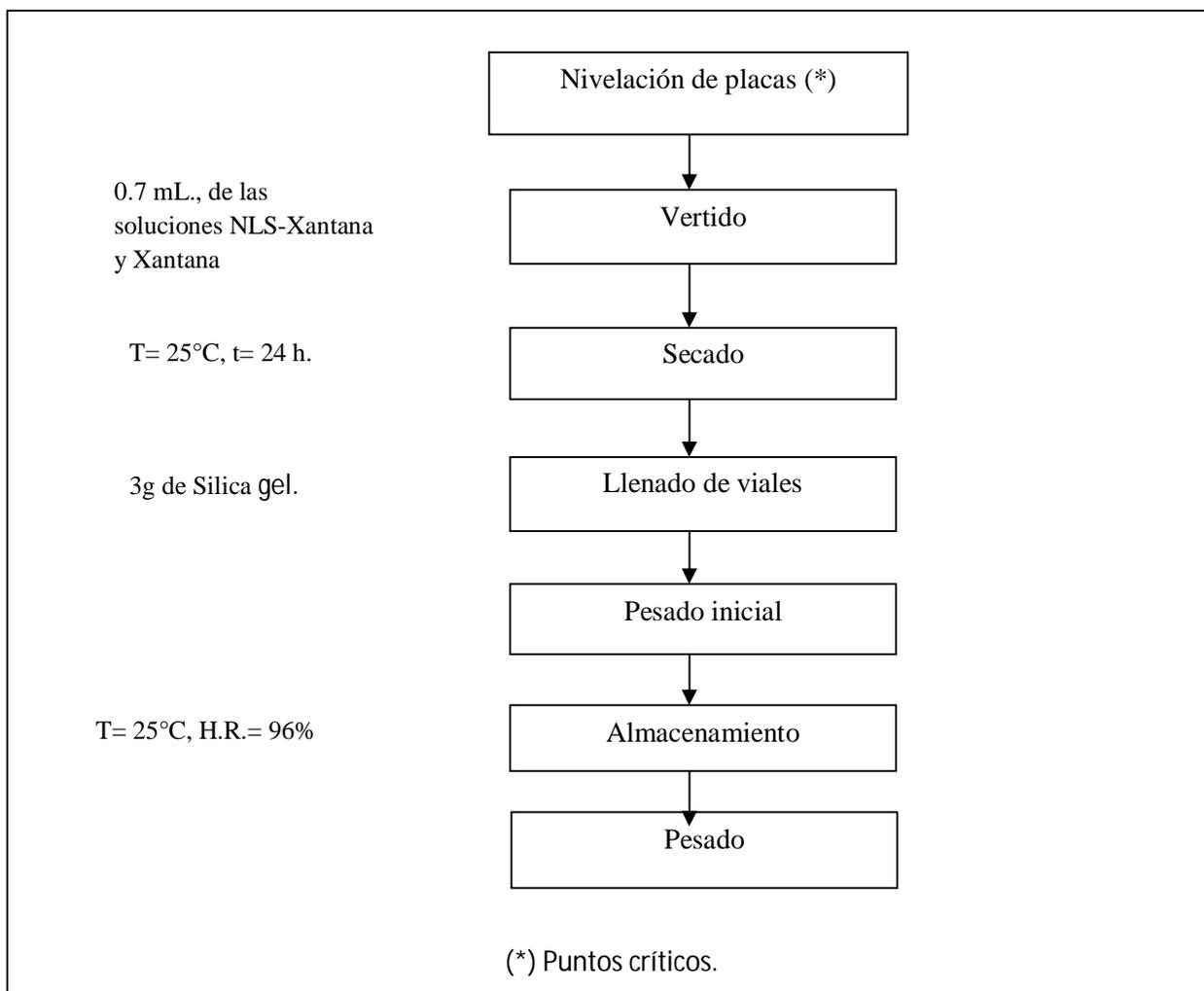


Figura 3. Diagrama de bloques seguido para la elaboración de un recubrimiento “*in situ*”.

2.4 Descripción del diagrama de bloques seguido para la elaboración de un recubrimiento “*in situ*”

➤ Nivelación de placa

En un contenedor para formar películas se nivelaron placas de teflón de un diámetro de 0.015 m con la finalidad de garantizar la distribución homogénea de las soluciones formadoras de la película, por lo tanto, de la película también, (*) este paso es importante debido a que es necesario que la película sea homogénea en toda su área, por este motivo la nivelación de la placa es un punto crítico.

➤ Vertido

Se adicionaron 0.7mL de cada solución en las placas de teflón para formar la película, la placa fue cubierta con una fina capa de aceite para evitar que el recubrimiento se pegara a la superficie de las placas.

➤ Secado

Se dejaron secar las películas a una temperatura de 25 °C durante 24 h en un desecador para evitar cambios bruscos de temperatura.

➤ Llenado de viales

A cada vial se adicionaron 3g de sílica gel la cual tuvo la función de captar la humedad, se taparon los viales con la película antes formada sellándose con un tapón perforado que no afectó el área.

➤ Pesado Inicial

Se tomó el peso inicial de los viales para llevar el control de cambios de peso cada hora y posteriormente calcular la permeabilidad y la transmisión del vapor de agua de las películas.

➤ Almacenamiento

Una vez pesados los viales éstos fueron colocados en un desecador a temperatura ambiente (25 °C) y con una H.R. de 96% se inició el monitoreo de cambio de peso por ganancia de humedad.

➤ Pesado

Las primeras 12 horas de experimentación se monitoreo el cambio de peso cada hora, transcurridas 24 horas, se midió la ganancia de peso cada 2 h, y a las 36 horas de iniciada la experimentación, el cambio de peso se midió cada día hasta obtener una ganancia del 10%.

2.5 Métodos de análisis

Técnicas analíticas

Durante las 4 semanas de almacenamiento se determinaron los parámetros que establecieron la calidad de la guayaba asimismo, los cambios en la concentración de polifenoles totales durante la refrigeración del producto.

a) Pérdida de peso

Este parámetro se monitoreó con el uso de una balanza digital marca Ohaus Voyager modelo VP613C con capacidad de 610g y sensibilidad de 0.1mg fabricada en USA, las pruebas se realizaron registrando el peso inicial de la muestra menos el peso final de ésta, obteniendo el porcentaje de pérdida de peso con la siguiente ecuación.

$$\% \text{ pérdida de peso} = \frac{\text{Peso inicial de la muestra} - \text{peso final de la muestra}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \quad (100)$$

b) Color

La medición se llevó a cabo mediante el empleo de un colorímetro marca Konica Minolta con un sensor modelo CR-300 y una consola DP-301 fabricado en Japón. De acuerdo a la técnica AOAC, 1995 con la cual se determinarán los parámetros L a y b para poder calcular lo siguiente:

$$croma = \sqrt{a^2 + b^2} \qquad HUE = \arctan \frac{b}{a}$$

c) Textura

La firmeza en los frutos se determinó como el cambio en la fuerza de punción para lo cual se utilizó una máquina universal Instron modelo 4411 USA, con celda de carga de 5kN y el empleo de una sonda parcialmente semiesférica de 12 mm de diámetro y velocidad de 150 mm/min, se utilizó el software series IX de Instron para llevar a cabo el análisis de los resultados de pruebas mecánicas.

d) pH

Se determinó de acuerdo con la técnica del AOAC, 1995. Mediante el empleo de un potenciómetro y un electrodo marca Philip Harris modelos E3039018G/K y P43-120, respectivamente, el segundo contiene una solución de KCl al 0.1 molar fabricado en Shenstone England.

e) Sólidos solubles totales

La determinación se realizó mediante el empleo de un refractómetro de mesa ABBE de 120 volts y 50/60 AMPS marca Spectronic Instruments, USA, con rangos de medición del índice de refracción de 1.300 a 1.700nD y una precisión de ± 0.0002 nD y con rangos de medición del contenido de azúcar de 0 al 95% con una precisión de $\pm 0.25\%$ de acuerdo a la técnica del AOAC, 1995.

f) Acidez titulable

Las determinaciones se realizaron de acuerdo con la técnica del AOAC y a la NMX-FF-011-1982 Productos alimenticios no industrializados, para uso humano – fruta fresca.

El cual se basa en la neutralización de los iones H⁺ con solución valorada de hidróxido de sodio (NaOH), en presencia de una sustancia indicadora (Fenolftaleina).

$$\% \text{ Acidez} = \frac{\text{ME} \cdot \text{N} \cdot \text{V}_1}{\text{V}_0} * 100$$

Donde ME son los miliequivalentes de la solución de NaOH, N es la normalidad de la solución tituladora, V₁ es el volumen de la solución de NaOH consumida y V₀ son los gramos de muestra.

g) Polifenoles totales

Se utilizó el método estándar de cuantificación en base al uso del reactivo de Folin-Ciocalteu y la calibración de las muestras patrones en el espectrofotómetro con ácido

gálico. La lectura de los preparados se realizó con un espectrofotómetro CINTRA-10 DOUBLE BEAM UV VISIBLE a 725 nm de absorbancia.

h) Permeabilidad ASTM E96 (1980)

La permeabilidad al vapor de agua se determinó mediante el método gravimétrico establecido por la norma ASTM E96 para determinar la velocidad de transmisión de vapor de agua mediante el método de agua, donde después de ganado el 10% del peso inicial se calculó la velocidad mediante las siguientes ecuaciones (Baldwin et al, 1999):

Ganancia de peso = G/t

$$TVA = \frac{G/t}{A}$$

Donde G es la ganancia de peso, t es el tiempo y A el área de la película.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS MISMOS

3.1 Caracterización de la cámara de refrigeración

Antes de iniciar el almacenamiento refrigerado fue necesario caracterizar y adaptar la cámara de refrigeración con la finalidad de evitar cambios de temperatura que pudiesen afectar el experimento y establecer un rango definido de temperatura y humedad relativa de acuerdo con el tamaño de la cámara que son los parámetros más importantes a controlar durante el almacenamiento.

Dimensiones de la cámara de refrigeración: Ancho = 50 cm, largo = 60 cm, alto = 130 cm, distancia entre anaqueles (rejillas): 30 cm, número de anaqueles = 4.

a. Humedad relativa (H.R.)

En la figura 4 se presenta la grafica de los valores de humedad relativa tomados durante 24 horas de monitoreo con la cámara vacía.

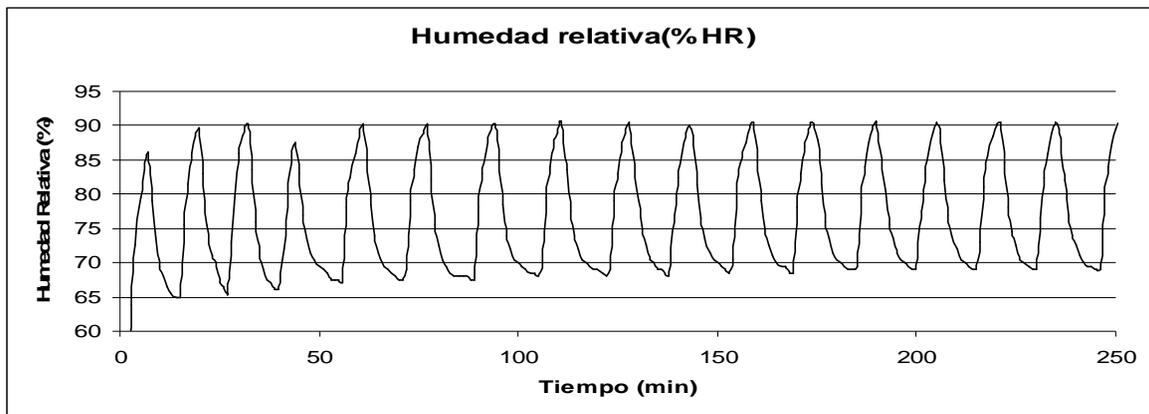


Figura 4. Humedad relativa dentro de la cámara de refrigeración

Se observa que la humedad relativa se mantuvo en función al tiempo entre 65 y 90%, teniendo un valor promedio de 80 ± 10 %, esta variación en los datos es debida a los paros y arranque realizados por el compresor dentro del sistema de refrigeración de la cámara.

b. Temperatura

En la figura 5 se muestra el valor de temperatura en °C, en la cual se realizó el almacenamiento en refrigeración de guayabas tratadas con recubrimientos a base de goma xantana/NLS.

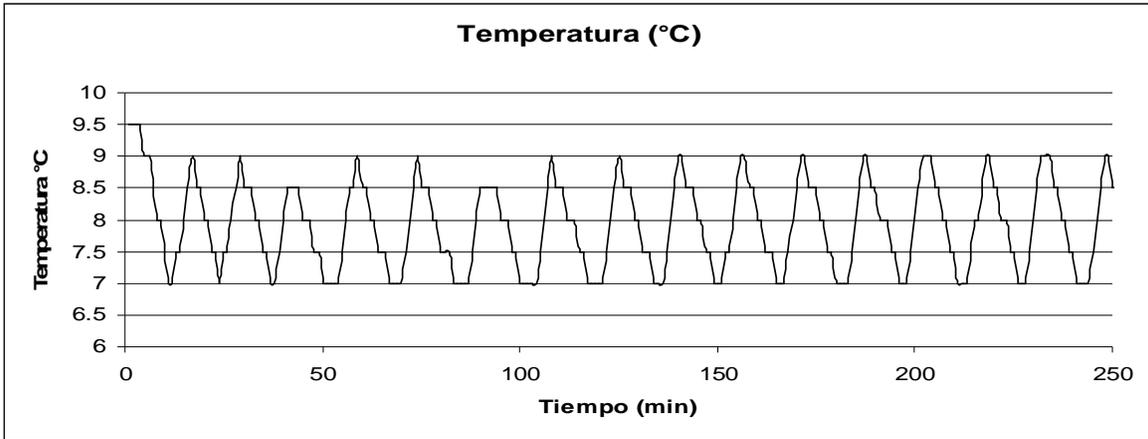


Figura 5. Temperatura dentro de la cámara de refrigeración

Se puede observar que dentro de la cámara de refrigeración se mantuvo a una temperatura de 8 ± 1 °C, estas variaciones son debidas de igual manera que en la HR a los paros y arranques del compresor.

c. Velocidad de aire

La velocidad del aire (m/s), fue determinada utilizando un anémometro de hilo caliente. En la figura 6 se muestra el valor de la velocidad del aire en m/s, en la cual se realizó el almacenamiento en refrigeración de guayabas tratadas con recubrimientos a base de goma xantana-NLS.

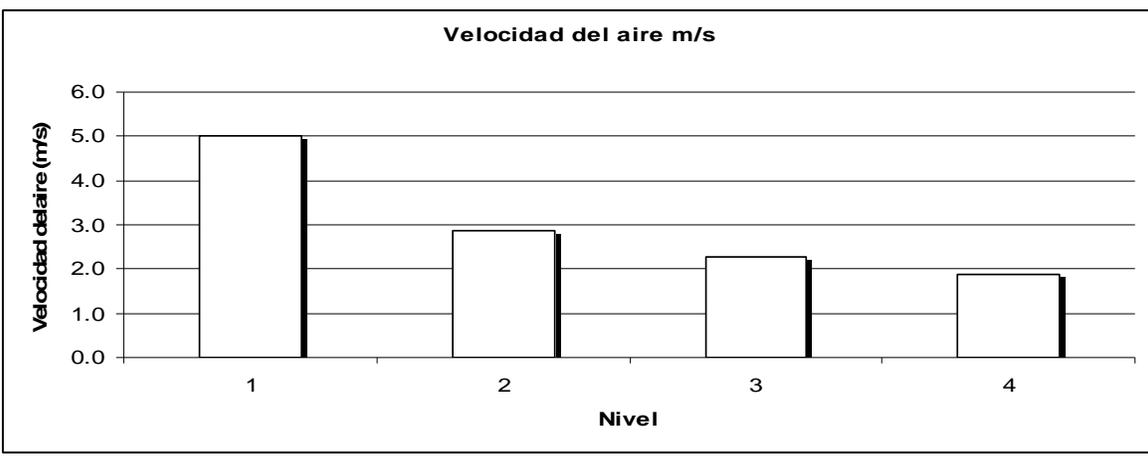


Figura 6. Velocidad del aire dentro de la cámara de refrigeración

Se puede observar que el valor disminuye conforme se aumenta la distancia con respecto al ventilador, también se muestra que en los primeros niveles es muy alta, por lo que fue

necesario colocar una tabla de madera para distribuir de modo más ligero y homogéneo la cantidad de aire dentro de la cámara de refrigeración.

3.2 Curva de calibración de ácido gálico

Se realizó una curva de calibración que relacionara la absorbancia contra la concentración de equivalentes de ácido gálico (EAG), las diluciones de la solución preparada de ácido gálico se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Diluciones para la elaboración de la curva de calibración

Solución (mL/100mL)	EAG
0.5	50
1	100
2	200
3	300
4	400
5	500
6	600
7	700
8	800
9	900

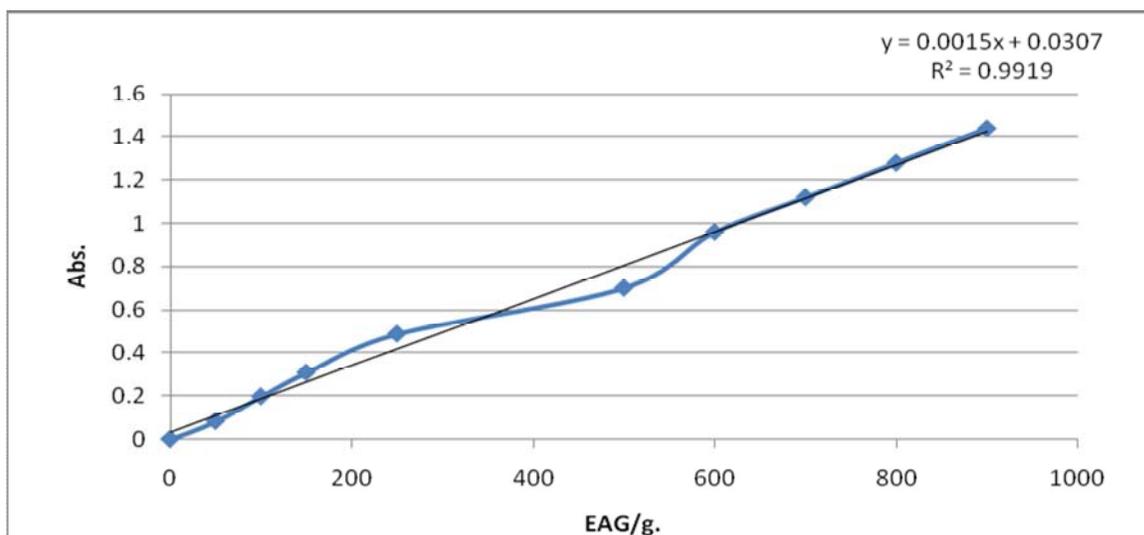


Figura 7. Curva de calibración de ácido gálico

3.3 Tamaño de partícula

En la figura. 8 se muestra el comportamiento del tamaño de partícula en función a la concentración y el tiempo de almacenamiento.

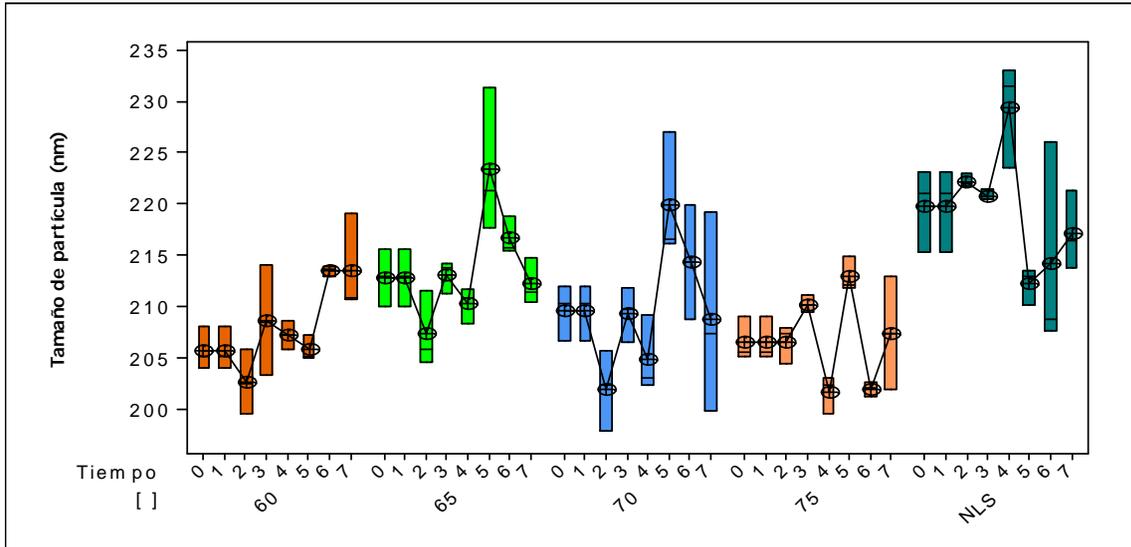


Figura 8. Tamaño de partícula en función a la concentración y tiempo de almacenamiento

Se observa que el tamaño es ligeramente menor ($\approx 7.2\%$) cuando se utiliza la goma xantana como soporte, ayudando con ello a la distribución homogénea de las partículas y evitar su agregación. La estabilidad química de las nanopartículas lipídicas sólidas está en función de dos factores: la capacidad de la suspensión a permanecer homogénea y evitar la cristalización (Weiss et al, 2008). En este estudio se evaluaron los cambios en tamaño de partícula durante el almacenamiento de las NLS durante 7 días, las muestras con 60, 65 y 70% de NLS se mantienen estables en cuanto al tamaño de partícula y al día 4 y 5 se presenta un incremento en la talla de 9 nm en promedio, debido a un posible error experimental, lo cual no ocurrió para las concentraciones de 75% y NLS.

Es importante destacar que el tamaño de partícula está íntimamente ligado al índice de polidispersión debido a que al disminuir el tamaño de partícula la superficie de contacto de las partículas se reduce y se evita la aglomeración (Jiménez et al, 2009).

En la tabla 5 se presenta el análisis de varianza para el tamaño de partícula.

Tabla 5. ANOVA de tamaño de partícula en función a la concentración y tiempo de almacenamiento.

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	4	2552.12	638.030	41.23	0.000
Tiempo	7	379.03	54.148	3.50	0.003
Interacción	28	1930.89	68.960	4.46	0.000
Error	80	1238.10	15.476	-	-
Total	19	6100.14			
Media: 3.934, % Variable de respuesta: 79.70%, Variación del % variable de respuesta: 69.81%					

El análisis de bloques completos mostró que existe influencia de la concentración de NLS y tiempo de almacenamiento ($p \approx 0.000$) sobre la estabilidad del sistema, al igual que la interacción entre el tiempo y concentración de NLS ($p \approx 0.003$).

3.4 Índice de polidispersión

En la figura 9 se muestra el comportamiento del índice de polidispersión con respecto al tiempo de almacenamiento (7 días) y concentración (ver tabla 3).

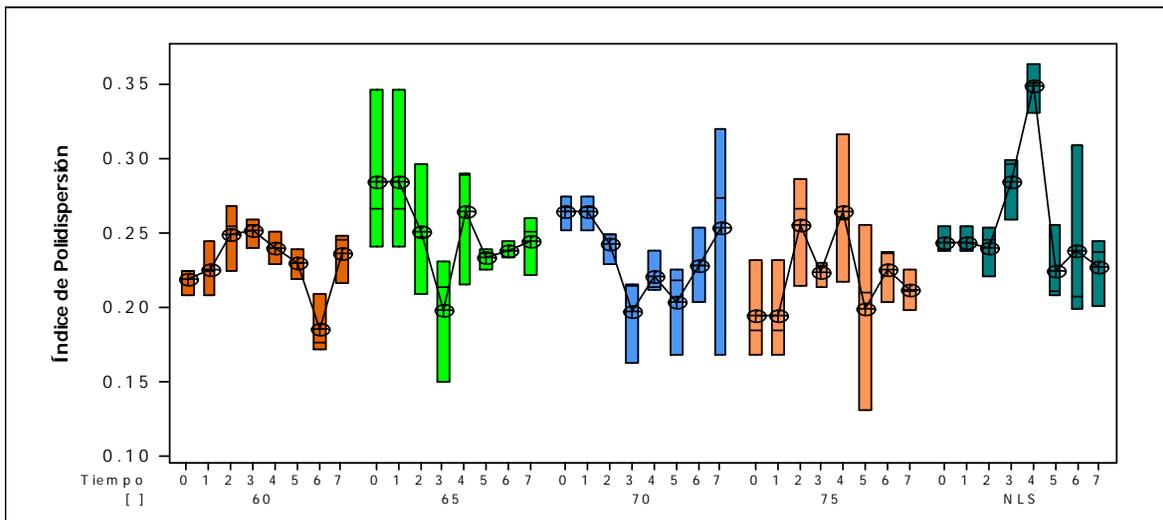


Figura 9. Índice de polidispersión en función a la concentración y tiempo de almacenamiento.

En la grafica se observa que existe una buena homogeneidad en las muestras, es decir, la diferencia de tamaños de partícula está dentro del rango “aceptable” (< 0.3).

En la tabla 6 se presenta el análisis de varianza para el índice de polidispersión.

Tabla 6. ANOVA del índice de polidispersión en función a la concentración y tamaño de partícula

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	4	0.020329	0.0050823	5.08	0.001
Tiempo	7	0.025142	0.0035917	3.59	0.002
Interacción	28	0.066741	0.0023836	2.38	0.001
Error	80	0.079997	0.0010000		
Total	119	0.192210			
Media: 0.03162, % Variable de respuesta: 58.38%, Variación del % de respuesta: 38.09%					

La tabla 6 muestra el cuadro de bloques donde se observa que la concentración ($P \approx 0.001$) y el tiempo ($P \approx 0.002$) tienen una influencia significativa sobre el índice de polidispersión al igual que la interacción de estos dos factores, sobre la estabilidad de la emulsión ($P \approx 0.001$).

3.5 Potencial zeta (Ψ_z).

En la figura 10 se muestra el comportamiento del potencial zeta con respecto a la concentración (ver tabla 3) y el tiempo (7 días).

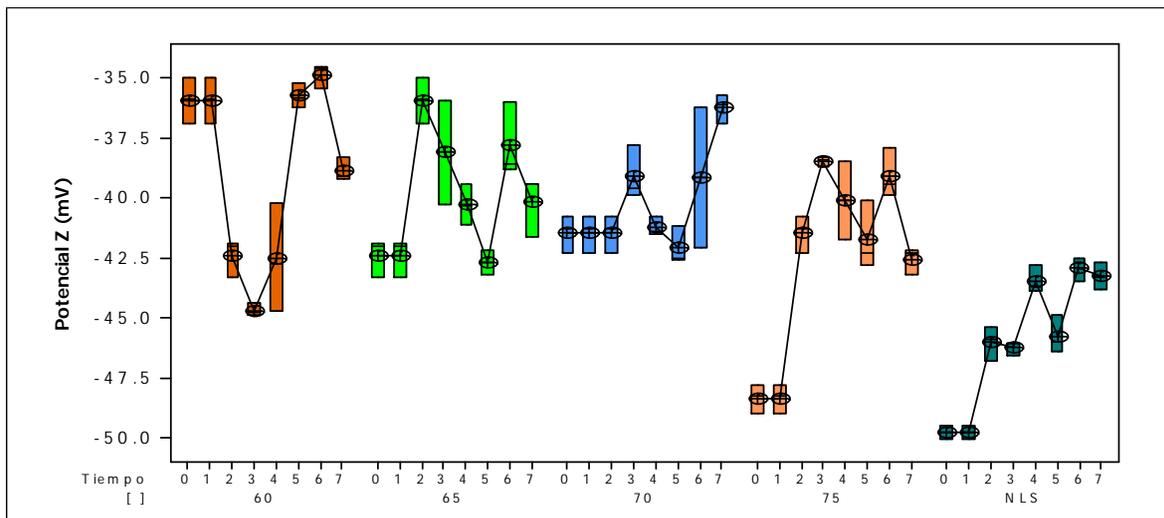


Figura 10. Potencial zeta en función a la concentración y tiempo de almacenamiento

Es apreciable que al incrementar la concentración de goma xantana el potencial zeta disminuye de -45mV a -40mV en promedio, por lo tanto existe una disminución en la estabilidad del sistema (Radomska, 2007), esto puede ser debido a los grupos carboxilos

libres que tiene la goma xantana y que cuentan con carga negativa, estos grupos interactúan con la carga negativa del sistema y se vuelve positiva, lo cual nos lleva a un incremento del (Ψ_z).

En la tabla 7 se presenta el análisis de varianza del potencial zeta.

Tabla 7. ANOVA del potencial zeta con respecto a la concentración y tiempo de almacenamiento

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	4	750.54	187.634	175.86	0.000
Tiempo	7	270.13	38.590	36.17	0.000
Interacción	28	724.24	25.866	24.24	0.000
Error	80	85.36	1.067		
Total	119	1830.26			
Media: 1.033, % Variable de respuesta: 95.34%, Variación del % de respuesta: 93.06%					

De acuerdo al análisis de bloques completos se observa que la concentración y el tiempo tienen una influencia sobre la estabilidad de la emulsión ($P \approx 0.000$), al igual que la interacción entre estos dos factores.

En la tabla 8 se presentan los cambios de potencial zeta ocurridos durante los 7 días de almacenamiento.

Tabla 8. Cambios en el potencial zeta con respecto al tiempo de almacenamiento.

Potencial zeta (mV)					
Días	60% NLS	65% NLS	70% NLS	75% NLS	NLS
0	-35.93	-42.4	-41.46	-48.36	-49.8
1	-35.93	-42.4	-41.46	-48.36	-49.8
2	-42.4	-35.93	-48.36	-41.46	-45.5
3	-44.7	-38.16	-39.1	-38.46	-46.3
4	-38.2	-40.26	-41.23	-44.83	-43.7
5	-35.76	-42.7	-42.1	-41.73	-46.06
6	-34.83	-37.8	-30.8	-39.6	-42.7
7	-38.86	-40.13	-36.23	-42.56	-43.30

Esta tabla se presenta con el fin de hacer más evidente la disminución del potencial zeta de las emulsiones con respecto a los 7 días de almacenamiento.

3.6 Cambios fisicoquímicos en guayaba almacenada

De un lote de 45 kg de guayaba se seleccionaron aquellas con un tamaño similar y estado de madurez “sazón”. El peso inicial de la guayaba correspondió a los siguientes intervalos de confianza $58.63 < 59.65 < 60.49$. Con respecto al diámetro, los intervalos de confianza fueron a $42.99\text{g} < 43.41\text{g} < 43.83\text{g}$.

En cuanto al color para L, a y b son los siguientes: L $60.19 < 60.88 < 61.57$, b, $43.29 < 43.78 < 44.27$, a $-15.60 < -15.29 < -14.97$.

Los resultados anteriores fueron obtenidos de una muestra de 300 guayabas y representan variaciones mínimas al inicio de la experimentación.

3.6.1 Pérdida de peso

a) Comportamiento a temperatura de refrigeración

La figura 11 expone el comportamiento de la pérdida de peso con respecto al tiempo.

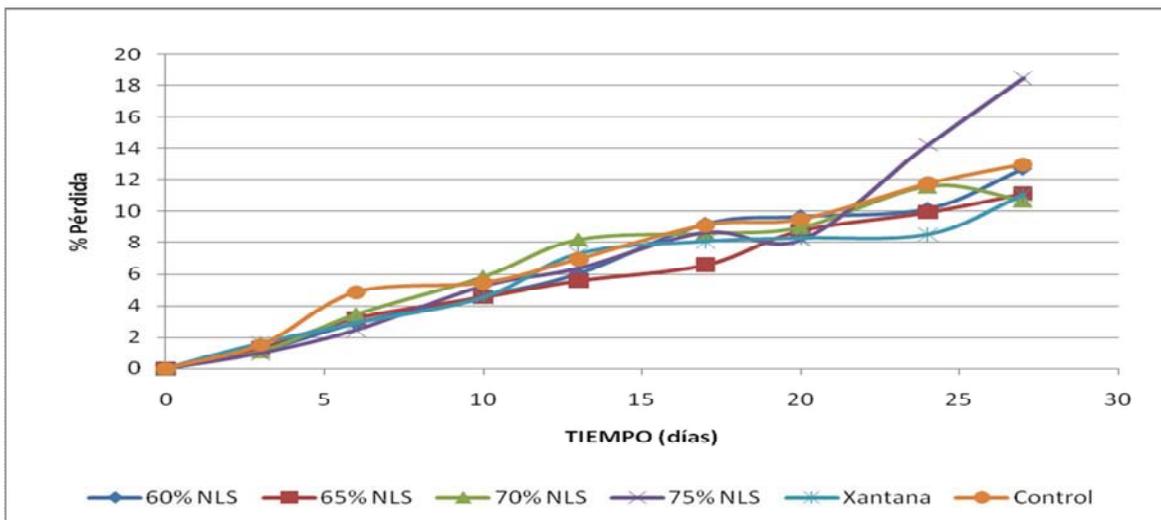


Figura 11. Comportamiento de la pérdida de peso con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración

La muestra control fue la que más rápido perdió peso a lo largo del tiempo de almacenamiento, y alcanzó un 13% de pérdida de peso al día 28 por efecto de la maduración del producto. Los resultados de las guayabas recubiertas con goma xantana tienen una pérdida constante y es al día 10, cuando ésta se acelera, después de este día hay

un comportamiento constante y es al día 24 cuando nuevamente reinicia la pérdida de peso por maduración del fruto.

En cuanto a las muestras con 75% de NLS tienen un comportamiento inestable pues al día 20 se dispara la pérdida hasta alcanzar un 18%. Mientras tanto las muestras con 70% de NLS presentan una pérdida de peso constante, la cual al día 6 se incrementa pues el producto comienza su proceso de maduración y al día 24, disminuye para alcanzar un porcentaje de pérdida de peso de 11%.

Durante el almacenamiento de las muestras con 65% de NLS se mantuvo una pérdida de peso constante y es al día 17 cuando nuevamente se incrementa para alcanzar un 11% de pérdida. Por último, las muestras con 60% de NLS muestran un incremento en la pérdida de peso constante, el cual al día 13 aumenta su velocidad para alcanzar un 11% de pérdida.

b) Comportamiento a temperatura ambiente durante cinco días después de almacenamiento.

En la figura 12 se muestra el comportamiento de la pérdida de peso con respecto al tiempo de almacenamiento.

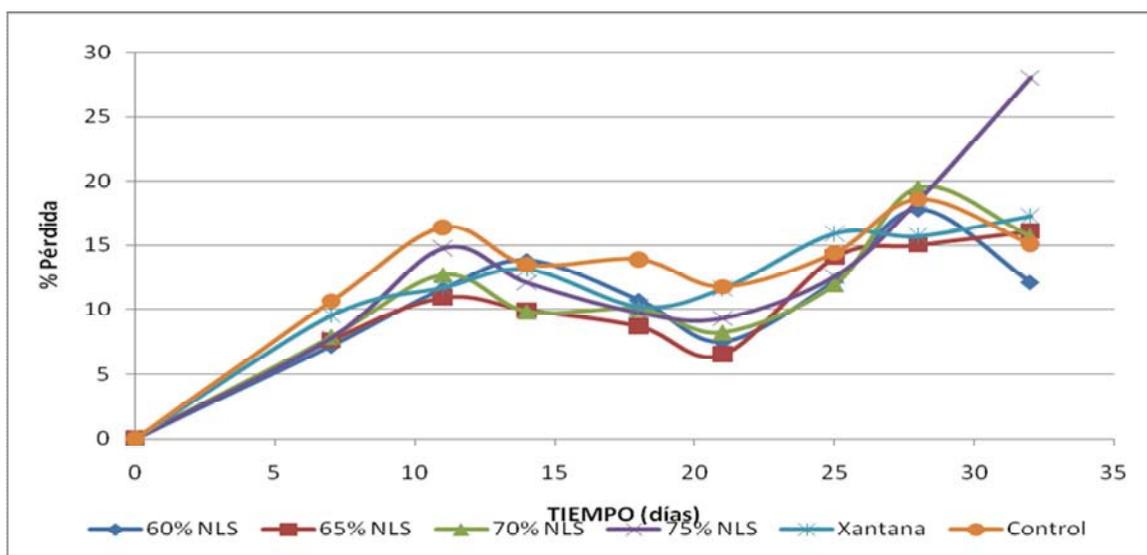


Figura 12. Comportamiento de la pérdida de peso con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días.

Los resultados de las guayabas sin recubrimiento tienen un incremento en el porcentaje de la pérdida de peso y es a partir del día 10 cuando este comportamiento se mantiene constante hasta el día 21 y es aquí donde se acelera la velocidad de maduración del

producto hasta alcanzar el 19% de pérdida al día 28, lo cual indica que el producto alcanzó su máximo climatérico pues posteriormente se presenta una caída en el porcentaje de pérdida de peso por efecto de la senescencia, en cuanto a las muestras con goma xantana muestran un incremento y al día 14 éste disminuye y se mantiene hasta el día 21 cuando nuevamente hay un repunte hasta el valor de 17% al día 32 por la maduración del producto.

Las muestras recubiertas con 75 y 65% de NLS tienen una reducción en la velocidad de pérdida de peso al día 11, y al día 21 existe un repunte pues el fruto acelera su proceso de maduración hasta perder el 28% y 16% respectivamente al día 32. En cuanto a las muestras con 70% de NLS, éstas tienen un comportamiento muy similar a las concentraciones anteriores con la diferencia de que al día 28 alcanza el 20% de pérdida fisiológica de peso al alcanzar su máximo climatérico y posteriormente comienza la senescencia al disminuir el porcentaje de pérdida de peso. Por último la concentración con 60% de NLS tiene un incremento del 14% en la velocidad de pérdida de peso hasta el día 14 el cual nuevamente cae hasta el día 21 al 8%, después de este día hay un repunte en la pérdida para alcanzar el 18% al día 28 pues el fruto alcanza su máximo climatérico.

Uno de los principales problemas durante el almacenamiento de los frutos, es la pérdida de peso por causa de los procesos de respiración y transpiración debido a que esto nos conduce a un ablandamiento de los tejidos y torna al producto más susceptible a deteriorarse, resultados similares fueron reportados por Azzolini y Jacomino, 2004. Es notorio durante la experimentación que el uso de un recubrimiento durante el almacenamiento de los frutos, disminuye la pérdida de peso, en comparación con las muestras que no son recubiertas, esto es confirmado por Pal et al., 2004; Tomás et al., 2005; Singh et al., 2007, quienes al analizar guayabas de variedad media china obtuvieron resultados similares a los mostrados anteriormente. Estas diferencias se deben a la pérdida de agua, la cual al aplicar un recubrimiento se modifica la permeabilidad al vapor de agua del producto (Singh et al., 2007) y a la degradación de algunos compuestos bioquímicos del fruto, como es el almidón a azúcares (Bashir et al., 2003), por lo cual también la pérdida de peso es mayor al 8% recomendado por la FDA. También la menor disminución en el contenido de humedad de las muestras recubiertas con respecto a la control puede justificarse en la naturaleza hidrofóbica del recubrimiento, el cual actúa como barrera al agua y presenta mayor

eficiencia en la retención de esta como reportó en mango recubierto con dos tipos diferentes de recubrimiento (Baldwin et al., 1999).

La pérdida de masa de las muestras sometidas a temperatura ambiente durante cinco días es mayor a la pérdida de las muestras a temperatura de refrigeración, caso similar a lo ocurrido en la guayaba que almacenó a 20 °C (Castellano et al., 2005), donde las muestras control a esas condiciones perdió aproximadamente del 16-18% al día 25 de almacenamiento y las muestras de esta experimentación perdieron el 17% aproximadamente al día 30. Es claro que el uso de altas temperaturas también tiene un efecto directo sobre la respiración, debido al efecto de la presión parcial del O₂ sobre la respiración, como ocurrió en un estudio de aguacate cubierto con una película de polietileno de baja densidad (Zarazúa-Escobar et al., 2005).

3.6.2 Sólidos solubles totales

a) Comportamiento a temperatura de refrigeración.

En la figura 13 se muestra el comportamiento de los sólidos solubles totales (SST) con respecto al tiempo de almacenamiento, cuando las muestras son sometidas a temperaturas de refrigeración.

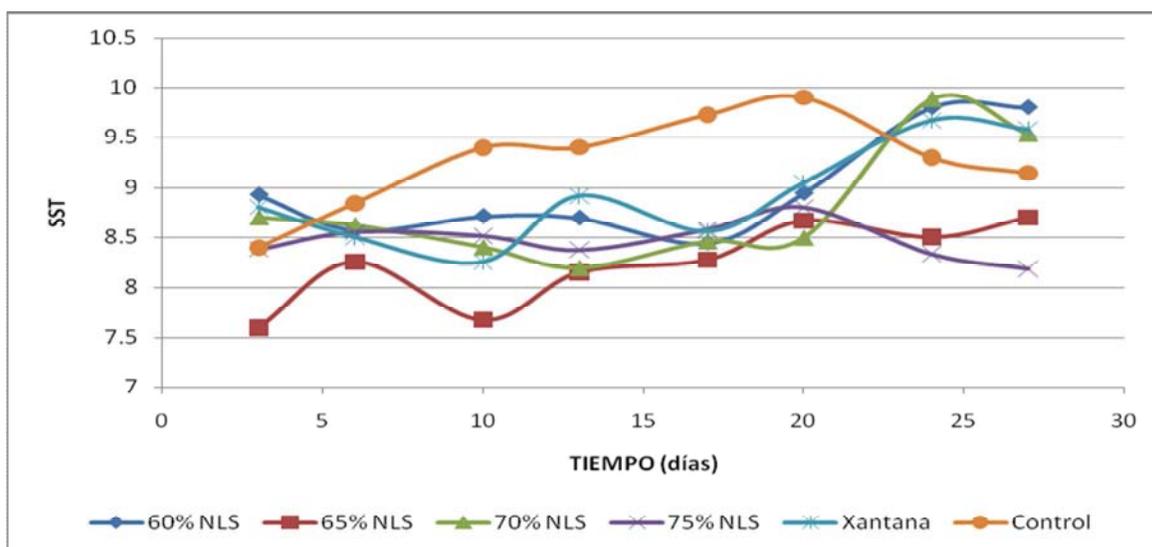


Figura 13. Comportamiento de los sólidos solubles totales con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

Se observa que para la muestra control hay un incremento de los sólidos solubles, disminuyendo al día 20, dando lugar a la senescencia del producto. Para las guayabas recubiertas con goma xantana existe un incremento de los sólidos solubles totales del día 10 al día 24 cuando estos tienden a disminuir debido al comienzo de la post-maduración del producto (Tómas et al., 2005). Las muestras con 75% de NLS tienen un incremento constante de los sólidos solubles, y al día 20 disminuyen debido a que este día alcanzaron su máximo climatérico, este tiempo de maduración es similar al que se obtuvo en un estudio de la maduración de la guayaba media china (Mercado Silva et al., 1998), en cuanto a la concentración de 70% de NLS, estas tienen un comportamiento constante y es al día 13 cuando comienza el incremento de los sólidos solubles totales, lo cual nos indica el comienzo de la maduración y es al día 24 cuando esta etapa termina dando lugar a la senescencia. Las concentraciones de 65 y 60% de NLS tienen un incremento constante en los sólidos solubles totales y no alcanzan la maduración durante el almacenamiento.

b) Comportamiento a temperatura ambiente

En la figura 14 se muestra el comportamiento SST con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días.

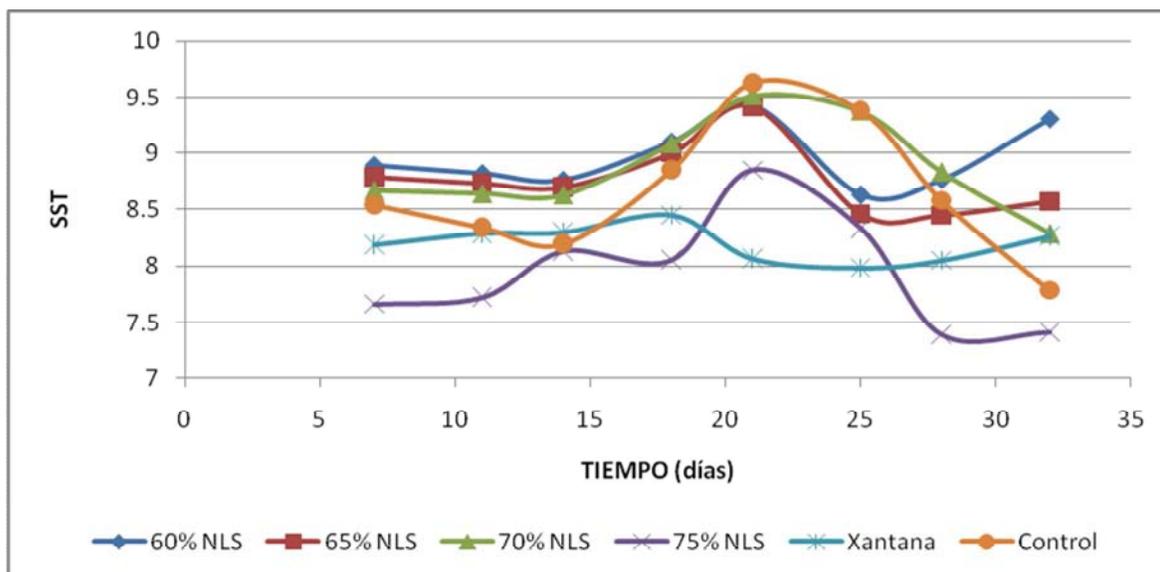


Figura 14. Comportamiento de los sólidos solubles totales con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días

Se observa que la muestra control tiene un comportamiento más o menos constante y es al día 14 cuando hay un incremento en los sólidos solubles totales, lo que nos indica el comienzo de la maduración del producto, esta etapa llega a su fin el día 21, dando paso a la senescencia. En cuanto a los resultados de goma xantana, éstos no muestran diferencias significativas hasta el día 18, cuando se alcanza el máximo climatérico del producto. Las muestras con 75% de NLS tienden a aumentar los sólidos solubles y es el día 21 cuando esta etapa termina para comenzar a disminuir. Con 70% de NLS es apreciable que la maduración del producto inicia al día 14 la cual dura hasta el día 21 cuando comienza la etapa de senescencia del producto. Los SST de la concentración de 65% NLS se mantienen constantes y al día 14 tienden a incrementar con respecto al tiempo de almacenamiento y es al día 21 cuando disminuyen para permanecer constantes hasta el final de la experimentación. Por último las muestras con 60% de NLS se mantienen constantes, incrementándose los sólidos solubles totales hasta el día 21 cuando nuevamente disminuyen, y es 4 días después que se presenta un repunte de éstos.

Los sólidos solubles totales son una medida directa del contenido de azúcares de la guayaba, pues éstos representan el 85-90% del contenido total (Chitarra, 2005), los sólidos solubles totales varían según la variedad y del tiempo en que se haya cosechado el producto. En el caso de ambas temperaturas es notable la influencia de un recubrimiento sobre la calidad del producto, pues la muestra control tiene una concentración de sólidos mayor que la que tiene recubrimiento y una aceleración en la velocidad de hidrólisis, caso similar a lo ocurrido con la maduración de la guayaba recubierta con goma de mezquite (Tomás et al., 2005) y guayaba sometida a atmosferas controladas, lo cual indica que el control de la atmosfera del fruto modifica el intercambio gaseoso de tal manera que se logra retardar la maduración e incrementar el tiempo de vida útil (Singh et al., 2007). Se le llama máximo pico climatérico al incremento máximo de los sólidos solubles totales dado por la hidrólisis del almidón presente en la pared celular de la guayaba en azúcares (Bashir et al., 2003), el almidón es el polisacárido (estructural) presente en mayor concentración en los frutos no maduros (Jain et al., 2003), y la fructosa el azúcar principal de los frutos (Azzolini y Jacomino, 2004). La pérdida de azúcares presente después del pico climatérico se debe a que éstos son utilizados por el fruto para continuar con el proceso de respiración, como se reportó en el estudio de la maduración de guayaba (Mercado-Silva et al., 1998).

3.6.3 Acidez titulable

a) Comportamiento a temperatura de refrigeración

En la figura 15 se muestra el comportamiento de la acidez titulable (AT) con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

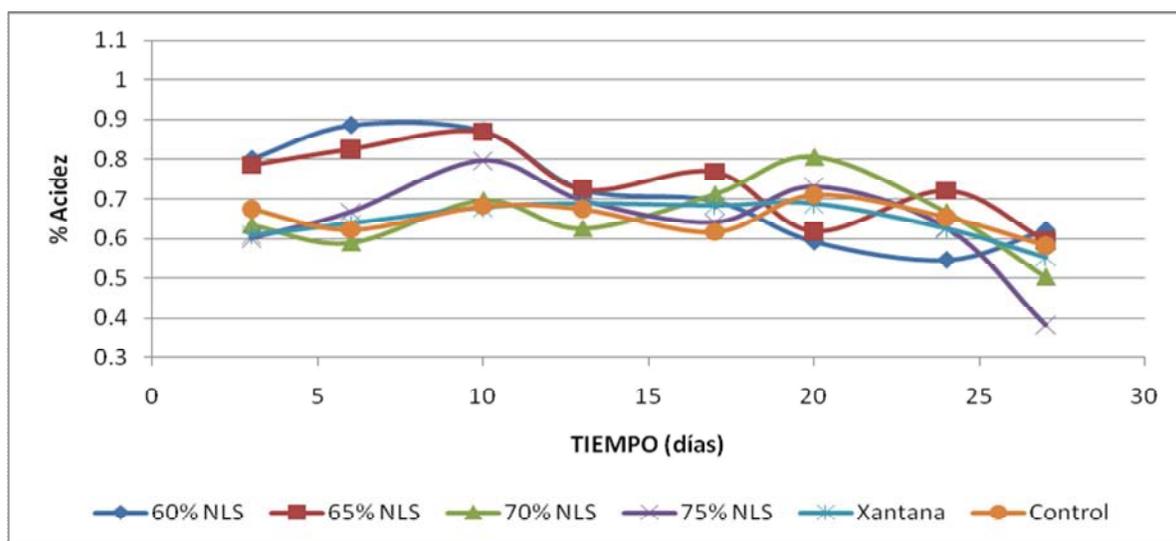


Figura 15. Comportamiento la acidez titulable con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

Es notorio que la muestra control se mantiene casi estable durante toda la etapa de almacenamiento y es a partir del día 20 cuando la acidez titulable comienza a disminuir pues los ácidos orgánicos comienzan a degradarse, según los resultados del estudio de la guayaba almacenada en atmósferas controladas (Singh y Pal., 2008) hasta alcanzar un valor de 0.58%, caso similar a lo ocurrido a las guayabas con recubrimiento de goma xantana las cuales tuvieron una pérdida hasta el 0.55%. En cuanto a la concentración de 75% de NLS, los ácidos orgánicos presentan una disminución a partir del día 10 y después del día 20 se observan daños fisiológicos en el producto hasta llegar al 0.38% de acidez titulable. Las muestras recubiertas con 70% de NLS tiene incrementos en la acidez y es a partir del día 20 cuando se presenta una disminución hasta un valor de 0.50%, y por último las concentraciones de 65 y 60% de NLS tienen una tendencia descendente durante toda la etapa de almacenamiento hasta alcanzar un valor de acidez titulable del 0.60% en promedio.

b) Comportamiento a temperatura ambiente durante cinco días

En la figura 16 se muestra el comportamiento de la acidez titulable con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días.

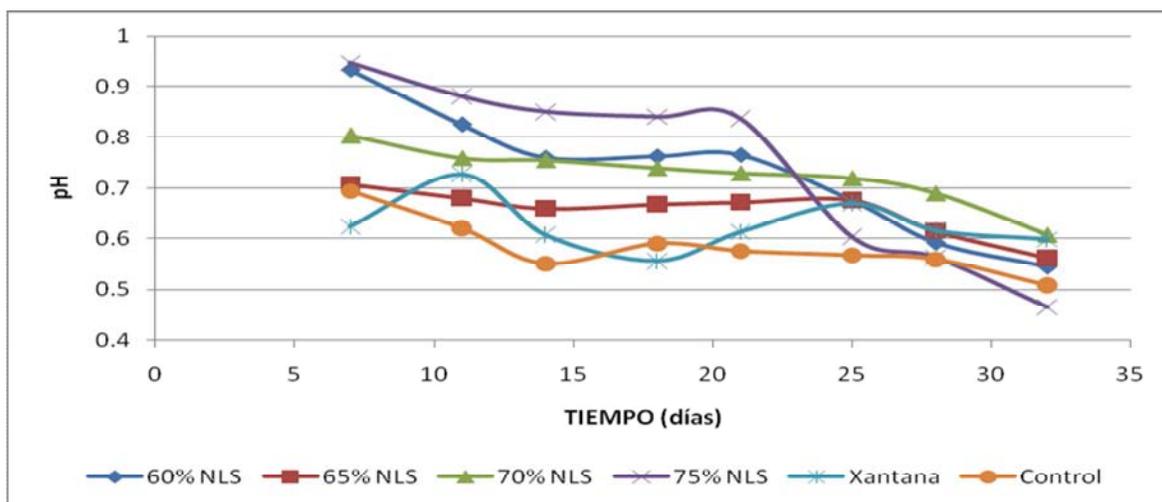


Figura 16. Comportamiento de la acidez titulable con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días.

La acidez tienen una tendencia descendente en todos los casos siendo la muestra control la que a partir del día 7 presenta una baja en la concentración de los ácidos orgánicos hasta alcanzar un valor del 0.50%, en cuanto a las guayabas recubiertas con goma xantana, la acidez titulable del producto presenta una aceleración en la disminución a partir del día 11 hasta alcanzar un valor de 0.59%, para la concentración de 75% de NLS el comportamiento es inusual a partir del día 21, cuando existe una aceleración en la disminución de la acidez y además del desarrollo de daños fisiológicos del producto, alcanzando el 0.46% de acidez. La muestra con 65% de NLS tuvo un comportamiento sin diferencias significativas hasta el día 25 cuando la acidez titulable comienza a perderse hasta alcanzar el valor de 0.56% y por último la concentración de 60% de NLS la cual a partir del día 21 presenta un incremento en la velocidad de pérdida de acidez y alcanza un valor final de 0.54%.

El porcentaje de AT también es conocido como el de ácido cítrico contenido en los frutos (Saénz et al., 2007), la tendencia a disminuir de la acidez, como ocurrió en la experimentación, es un comportamiento propio de los frutos, debido a que al madurar el producto existe una degradación de los ácidos orgánicos pues éstos son uno de los dos principales sustratos de la actividad respiratoria (Singh y Pal., 2008). Es importante

destacar que al modificar la atmósfera del fruto, el decline de la AT es menor que el de las muestras control, debido a que se limita la respiración del producto al modificar la permeabilidad de éste y por lo tanto a su velocidad de maduración, resultados similares se obtuvieron con guayaba variedad “Allahabad safeda” sometida a una atmósfera modificada (Singh y Pal, 2007).

La temperatura de refrigeración también es un factor importante en la disminución de acidez, las temperaturas altas aceleran el metabolismo del fruto y la respiración, entonces también la degradación de ácidos orgánicos como ocurrió con guayaba variedad media china almacenada en atmósferas modificadas (Zarazúa-Escobar et al., 2005).

3.6.4 Ángulo Hue

a) Comportamiento a temperatura de refrigeración

El color de la cáscara se expresa de acuerdo al ángulo de color ($^{\circ}h$) (Mercado-Silva et al., 2003), el cual es una medida para expresar los cambios de color de la cáscara del fruto de un color verde a amarillo (Mercado-Silva et al., 1998), característicos de la maduración de la guayaba. Los parámetros de medición indican que un ángulo de 180° representa un color verde y 90° un color amarillo.

En la figura 17 se muestra el comportamiento del ángulo Hue ($^{\circ}h$) para guayaba almacenada en refrigeración.

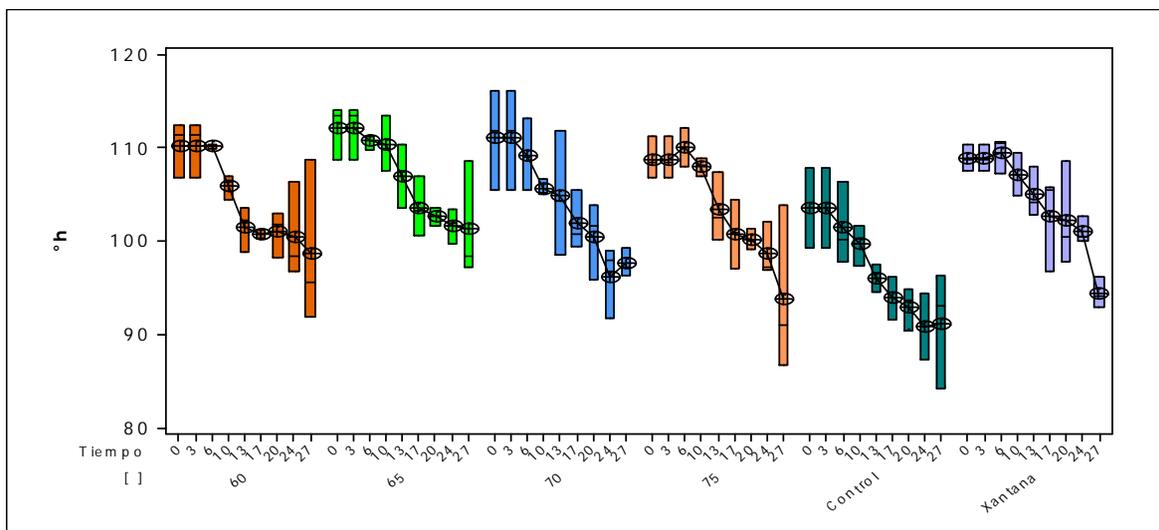


Figura 17. Comportamiento del ángulo Hue con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

Es evidente que en las muestras sin tratamiento alcanzaron un color amarillo correspondiente al máximo climatérico (Mercado Silva et al, 2003), después de transcurridos 17 días, después de este tiempo comenzó la senescencia del fruto marcado por el desarrollo de una tonalidad de amarillo oscuro. Las muestras con 70 y 75% de NLS y goma xantana, tienen un color amarillo al final de la experimentación lo cual nos indica que sí alcanzaron la madurez, mientras que las muestras 60 y 65% retuvieron mejor el color verde, esto es lo esperado en la refrigeración, retardar la madurez de la guayaba. La muestra con 70% de NLS alcanzó la máxima madurez alrededor del día 24, 75% y con goma xantana el día 27, 60 y 65% no alcanzaron su máximo climatérico.

En la tabla 9 se muestra el análisis de varianza del Angulo Hue.

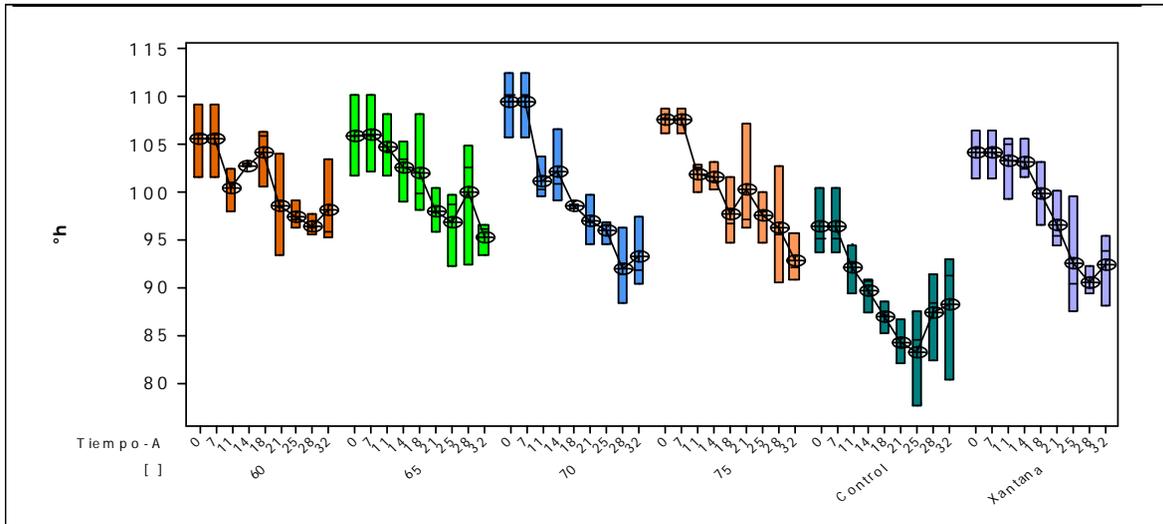
Tabla 9. ANOVA del ángulo Hue con respecto a la concentración y tiempo de almacenamiento

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	5	1474.23	294.845	22.01	0.000
Tiempo	8	3556.37	444.546	33.18	0.000
Interacción	40	205.60	3.140	0.38	1.000
Error	108	1447.06	13.399		
Total	161	6683.26			
Media: 3.66, % Variable de respuesta: 78.35%, Variación del % de respuesta: 67.72%					

Se observa que la concentración y el tiempo tienen influencia significativa sobre la maduración de la guayaba, la interacción entre estos dos factores no tiene influencia significativa.

b) Comportamiento a temperatura ambiente durante cinco días

En la figura 18 se muestra el comportamiento del °h con respecto a la concentración y el tiempo cuando las muestras permanecen a temperatura ambiente durante 5 días.



18. Comportamiento del ángulo Hue con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días

Se observa que existe una maduración casi homogénea donde todas las muestras, a diferencia de los resultados a temperatura de refrigeración. Las muestras con 60 y 65% de NLS alcanzaron su máximo climatérico al día 25 de almacenamiento, 70% lo logra el día 21, 75% el día 18, las muestra recubiertas únicamente con goma xantana alcanzaron su madurez máxima el día 21 mientras que la muestra control lo hizo apenas al día 7 de almacenamiento. En la mayoría de las concentraciones es apreciable que la temperatura sí cumplió su función de retardar la maduración del producto, debido a que todas las muestras sometidas a refrigeración alcanzaron su máximo climatérico días después de lo que lo hicieron a temperatura ambiente, a excepción de las muestras con 70% de NLS las cuales alcanzaron su máxima maduración antes.

En la tabla 10 se muestra el análisis de varianza del ángulo Hue.

Tabla 10. ANOVA del ángulo Hue con respecto a la concentración y tiempo de almacenamiento

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	5	2765.03	553.006	43.79	0.000
Tiempo	8	2972.97	371.621	29.43	0.000
Interacción	40	557.29	13.932	1.10	0.338
Error	108	1363.81	12.628	-	-
Total	161	7659.10	-	-	-
Media: 3.54, % Variable de respuesta: 82.19%, Variación del % de respuesta: 73.46%					

De acuerdo al cuadro de bloques, se observa que la concentración y el tiempo tienen una influencia significativa sobre la maduración de la guayaba, y la interacción entre estos dos factores no.

Los factores responsables del cambio de color en los frutos, en este caso guayaba, son la degradación de la clorofila y la síntesis de carotenoides (Azzolini y Jacomino, 2004). La degradación de la clorofila se debe principalmente a un aumento en la actividad de las enzimas que degradan la clorofilasa, clorofiloxidasa y peroxidasa (Jain et al., 2003). Como es posible observar en los resultados de esta experimentación, queda claro que las altas temperatura favorecen los cambios de color de verde a amarillo, esto es porque el calor acelera los procesos de degradación de clorofila (Jacomino et al., 2001), resultados similares a los anteriormente mostrados se presentaron en guayaba almacenada a temperatura ambiente y de refrigeración donde se retardó la maduración hasta el día 11 (Singh y Pal, 2008).

3.6.5 Cromaticidad

a) Comportamiento temperatura de refrigeración

En la figura 19 se muestra el comportamiento del croma con respecto a la concentración y el tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

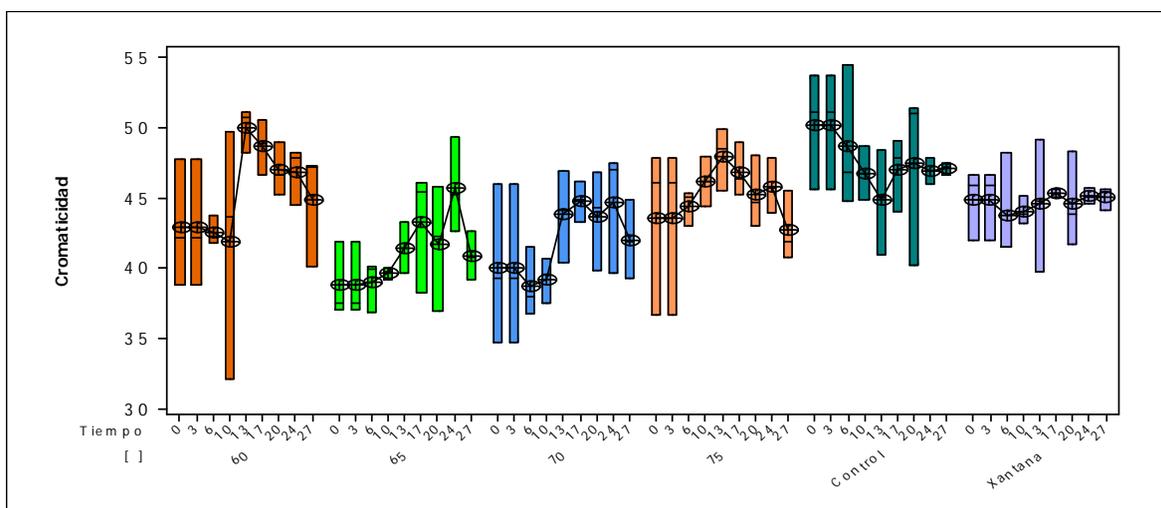


Figura 19. Comportamiento de la cromaticidad con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración

Las observaciones registradas son las siguientes, la intensidad de color en las muestras con 60, 65, 70 y 75% de NLS muestran un incremento en la tonalidad del color conforme pasan los días de almacenamiento, mientras que la muestra control va perdiendo esa propiedad después de 17 días de almacenamiento y la muestra con goma xantana no muestra grandes cambios al paso del tiempo, manteniéndose casi constante durante el periodo de almacenamiento.

Los mejores resultados son los de las concentraciones 65 y 70% ya que su cromaticidad siempre fue en aumento y es hasta el día 24 cuando esta comienza a disminuir el valor de esta propiedad. A pesar de que 75% tiene un buen comportamiento, es al día 13 cuando comienza la pérdida de saturación del color, al igual que ocurrió con las muestras de 60% de NLS.

En la tabla 11 se muestra el análisis de varianza para la cromaticidad a temperatura de refrigeración.

Tabla 11. ANOVA de la cromaticidad con respecto a la concentración y tiempo de almacenamiento

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	5	810.66	162.133	13.50	0.000
Tiempo	8	232.31	29.039	2.42	0.019
Interacción	40	402.61	10.066	0.84	0.733
Error	108	1297.26	12.012		
Total	161	2742.86			
Media: 3.466, % Variable de respuesta: 52.70%, Variación del % de respuesta: 29.49%					

La concentración y el tiempo tienen una influencia significativa sobre los cambios en la saturación del color de las muestras, mientras que la interacción concentración-tiempo no presentan esta característica.

b) Comportamiento a temperatura ambiente

En la figura 20 se muestra el comportamiento de la cromaticidad con respecto al tiempo y a la concentración durante el almacenamiento a temperatura ambiente durante cinco días.

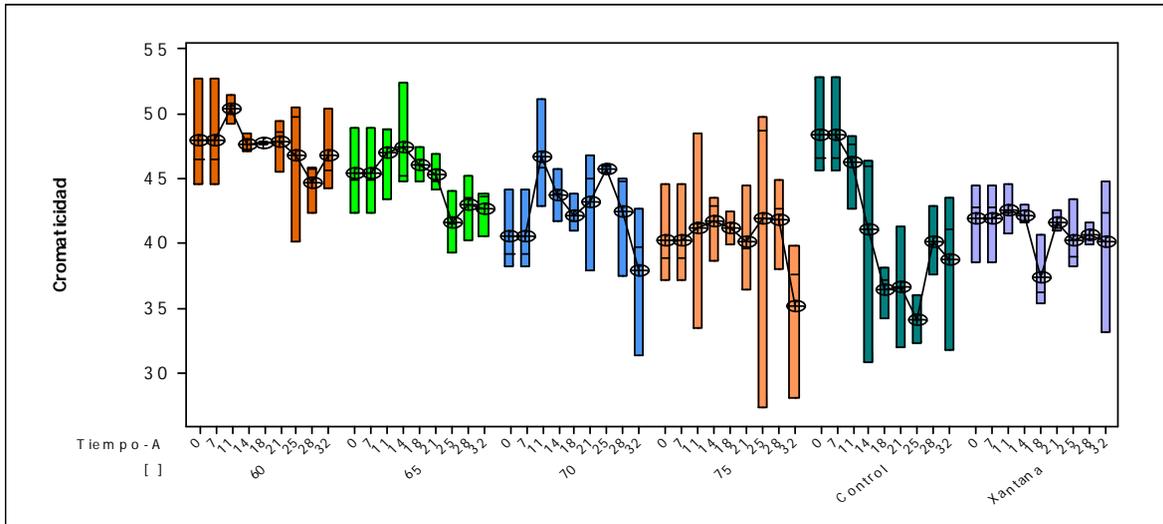


Figura 20. Comportamiento de la cromaticidad con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días.

Los mejores resultados se encuentran en 65, 70 y 75% NLS ya que se mantuvieron casi estables y es hasta el día 25 cuando comienza a disminuir su cromaticidad. Las muestras control y 60% de NLS tienden a disminuir a partir del día 11 y la goma xantana no presenta grandes cambios conforme transcurre el tiempo de almacenamiento. A diferencia de los resultados de temperatura de refrigeración, donde los resultados tenían una tendencia ascendente hasta los últimos días, en el almacenamiento a temperatura ambiente, la tendencia es descendente y en ambas temperaturas las muestras recubiertas con goma xantana no presentan grandes cambios en el comportamiento al paso de los días de almacenamiento.

En la tabla 12 se presenta el análisis de varianza para la cromaticidad de las muestras a temperatura ambiente.

Tabla 12. ANOVA de la cromaticidad con respecto a la concentración y tiempo de almacenamiento

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	5	1047.67	209.534	12.94	0.000
Tiempo	8	394.38	49.297	3.05	0.004
Interacción	40	794.36	19.859	1.23	0.203
Error	108	1748.19	16.187		
Total	161	3984.60			
Media: 4.073, % Variable de respuesta: 56.13%, Variación del % de respuesta: 39.60%					

El cuadro de bloques muestra que la concentración y el tiempo tienen una influencia significativa sobre la saturación del color de la guayaba, mientras que la interacción entre estos dos factores no la tiene.

3.6.6 Firmeza

a) Comportamiento a temperatura de refrigeración

En la figura 21 se muestra el comportamiento de la textura durante el almacenamiento de las guayabas a temperatura de refrigeración.

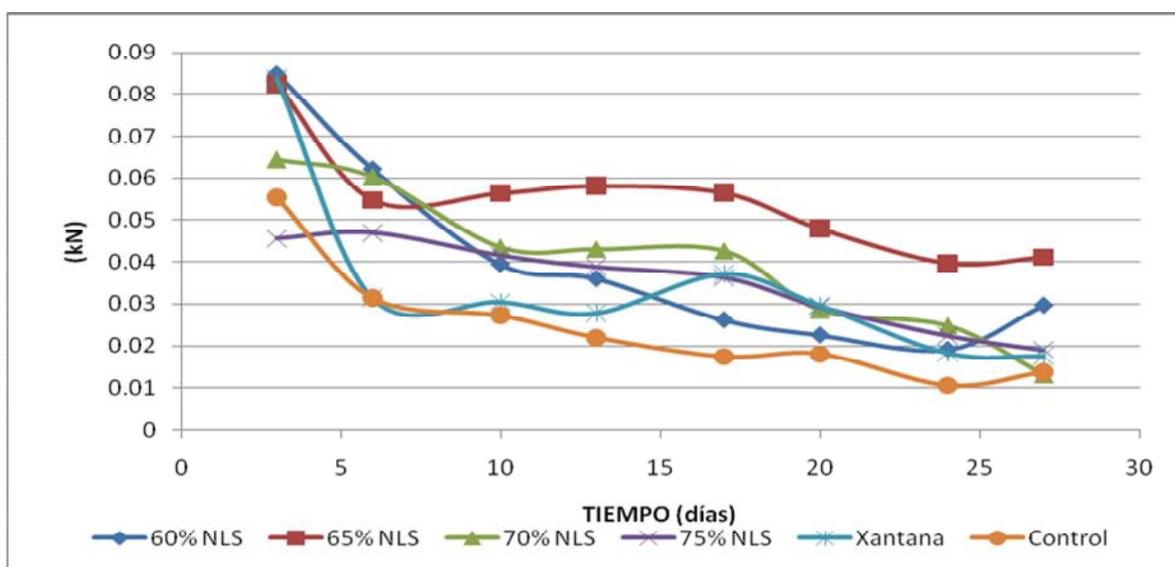


Figura 21. Comportamiento de la firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración.

Se observa todas las muestras perdieron firmeza durante el almacenamiento pero las muestras control, 70% de NLS y goma xantana perdieron esta propiedad más rápidamente pues al día 28 presentaron una pérdida del 78% aproximadamente y requirieron de una fuerza de 0.015 kN para penetrar el pericarpio y mesocarpio del fruto. Las muestras con 60 y 75% de NLS perdieron al final del almacenamiento un 60% de firmeza de acuerdo al valor inicial y requirieron de una fuerza de 0.24kN en promedio. Según el comportamiento de las muestras se puede decir que la concentración que preserva mejor al producto es la de 65% de NLS pues su firmeza apenas alcanzó una pérdida del 50% y requirió de una fuerza de penetración de 0.04 kN.

b) Comportamiento a temperatura ambiente

En la figura 22 se muestra el comportamiento de la firmeza de la guayaba durante el almacenamiento a temperatura ambiente durante cinco días.

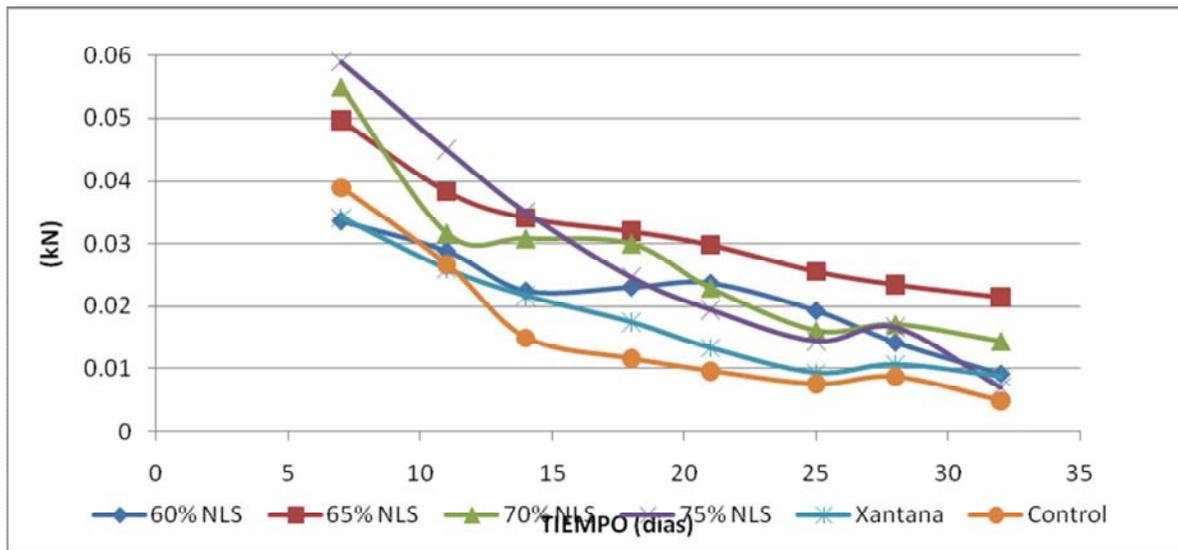


Figura 22. Comportamiento de la firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días.

Se observa que todas las muestras tienen una pérdida de firmeza con respecto al tiempo de almacenamiento y la mayor pérdida la tiene la muestra control y 75% de NLS pues al día 32 perdieron el 88% de la firmeza al inicio de la experimentación y fue necesario aplicar una fuerza de 0.0059 kN, mientras que las muestras con 60, 70 y goma xantana perdieron el 73% de la firmeza inicial, requiriendo una fuerza de penetración de 0.01kN. El resultado más satisfactorio lo representan las muestras con recubrimiento de 65% de NLS pues al día 32 perdieron únicamente el 56% de su firmeza inicial y requirieron de una fuerza de penetración de 0.02kN.

La pérdida de firmeza en los productos hortofrutícolas es directamente proporcional al grado de madurez del producto. Esto es debido a la actividad de enzimas hidrolizantes como la poligalacturonasa y pectinametilesterasa que promueven la solubilización de las pectinas constituyentes de la pared celular (Azzolini y Jacomino, 2004). La pérdida de firmeza también es atribuible a la pérdida de agua de la pared celular (Jain et al., 2003). En cuanto al contraste, la temperatura ambiente presenta mayores pérdidas de firmeza que las

guayabas almacenadas en refrigeración, como ocurrió con las muestras de la variedad media china recubiertas con una película de polietileno (Pal et al., 2004).

3.6.7 Polifenoles totales

a) Comportamiento a temperatura de refrigeración

En la figura 23 se muestra el comportamiento de los polifenoles totales, reportado como equivalentes de ácido gálico (EAG), contenidos en la guayaba con respecto al tiempo de almacenamiento en temperatura de refrigeración.

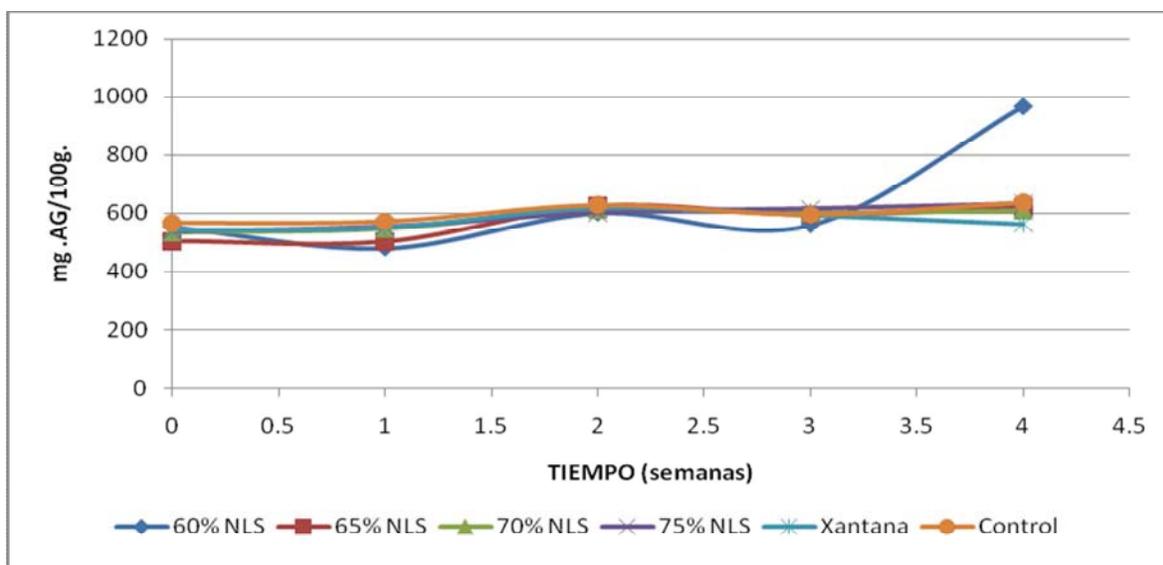


Figura 23. Comportamiento de los polifenoles totales con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura de refrigeración

Se observa que existe un incremento de éstos con respecto a la maduración del producto, la muestra recubierta con goma xantana presenta una pequeña caída en la concentración de polifenoles totales a partir de la tercera semana hasta alcanzar una concentración final de 536.46 EAG/g a la cuarta semana de almacenamiento.

En cuanto a las recubiertas con las concentraciones de 65, 70, 75% de NLS y control, se observa que éstas tienen un comportamiento ascendente similar para todas, aunque las guayabas con 65% de NLS presentaron un incremento en la concentración de polifenoles totales más acelerado del día cero a la semana dos, a las cuatro semanas de almacenamiento los resultados fueron los siguientes 619.53 para las muestras recubiertas

con 65% de NLS, 606.2 EAG/g para 70%, 626.2 EAG/g para 75% y 632,86 EAG/g para la muestra control.

El comportamiento inusual de las muestras recubiertas con 60% de NLS a partir de la semana tres puede ser debido a una mala medición de la absorbancia pues a la cuarta se obtiene un valor final de 966.2 EAG/g.

b) Comportamiento a temperatura ambiente durante cinco días

En la figura 24 se muestra el comportamiento de los polifenoles totales con respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días.

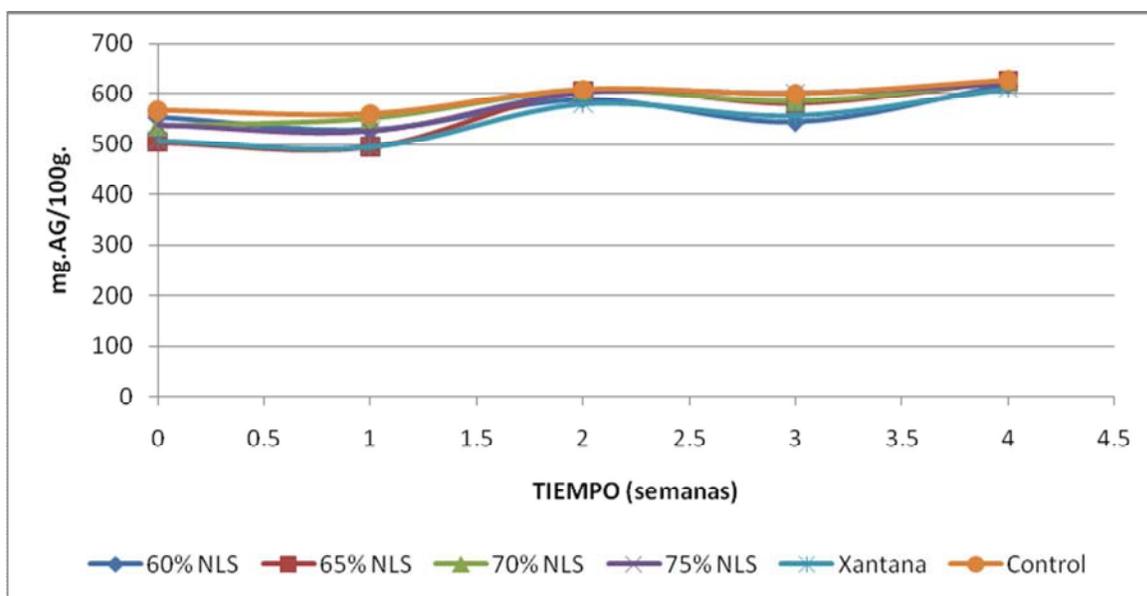


Figura 24. Comportamiento de los polifenoles totales respecto al tiempo de almacenamiento a temperatura ambiente durante 5 días

Se observa que existe un aumento gradual en concentración de ácido gálico hasta el día 14, posteriormente se observa una pequeña disminución de la concentración de éste para nuevamente repuntar hasta la semana cuatro, lo cual nos indica que el contenido de polifenoles aumenta con respecto a la semanas de almacenamiento, incluso después de la maduración, también es importante destacar que la muestra recubierta con 65% de NLS al igual que a temperatura de refrigeración muestra un incremento más acelerado en la concentración de ácido gálico de la semana cero a la semana dos, después de ésta no existe mucha diferencia entre los resultados de todas las muestras. Los valores alcanzados al final de la experimentación fueron 612.86 EAG/g, para 60% y 75% de NLS, 619.53 EAG/g, para

65 y 70% de NLS, las muestras recubiertas únicamente con goma xantana tuvieron una concentración final de polifenoles totales de 646.2 EAG/g y la muestra control 626.2 EAG/g.

Debido a la mayor proliferación de enfermedades crónicas degenerativas, las personas son más conscientes de su alimentación para prevenir la aparición de estos males que afectan la calidad de vida y situación económica. Muchos factores nutricionales son ampliamente considerados como los críticos para la salud humana, los radicales libres han sido detectados como uno de los factores que contribuyen al desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas (Patthamakanokporn et al., 2008).

En el cuerpo, los radicales libres se derivan de dos fuentes: endógenas, por ejemplo, el metabolismo de los nutrientes y el proceso de envejecimiento; y exógenas, como la contaminación del aire. El ataque de los radicales libres a diferentes sustratos del cuerpo humano puede derivar en enfermedades tales como la oxidación, problemas cardiovasculares, modificación del ADN el cual desempeña un papel importante en la carcinogénesis humana entre otras (Patthamakanokporn et al., 2008).

Los compuestos fenólicos son sustancias orgánicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal. Se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa, y son en gran medida responsables de las propiedades del color, la astringencia y el flavor (sabor y aroma) de los vegetales. Se encuentran en las verduras y frutas. Su estructura química es propicia para secuestrar radicales libres (Kuskoski et al., 2005) siendo los flavonoides y los antocianos los más capacitados para hacerlo (Rojas et al., 2008) es por esto que los compuestos fenólicos han adquirido gran importancia, pues con la ingesta de éstos se previene el desarrollo de las enfermedades causada por los radicales libres. Los resultados obtenidos anteriormente coinciden con un estudio previo realizado por (Rojas et al., 2008) donde obtuvieron que la guayaba regional blanca tiene una concentración de 616-813 mg AG/100 g. Es importante mencionar que la mayor concentración de polifenoles se encuentra en el epicarpio (Marquina et al., 2008). La maduración de los frutos conlleva a la producción de etileno, el cual es una fitohormona o también conocida como hormona de la maduración, que provoca cambios en la composición de los frutos. (Mondal et al., 2007) demostró que el etileno favorece un aumento en la concentración de los polifenoles totales,

además el color de la muestra afecta también a la lectura de polifenoles totales, pues los carotenos están estrechamente relacionados a éstos. Al final de la experimentación y análisis de las muestras se concluyó que las de polifenoles totales estaban muy concentradas y esto puede derivar en el comportamiento inusual de algunas de ellas.

3.6.8 Condiciones de desarrollo de un recubrimiento “*in vitro*”

De acuerdo con lo observado en la experimentación, las condiciones óptimas para elaborar un recubrimiento de NLS fueron a un volumen de 0.7 mL de solución y una temperatura de secado de 25 °C durante 24 horas a una humedad relativa de 35%. El volumen de 0.5 mL no fue suficiente para formarlo ya que al secarse la película no era homogénea y en cuanto al volumen de 1mL, el espesor de ésta era considerable, lo cual impediría resultados acertados en la medición de la permeabilidad.

3.6.9 Transmisión al vapor de agua

En la tabla 13 se muestran los resultados de la transmisión de vapor de agua (TVA) y permeabilidad de vapor de agua (PVA). a las 24 y 125 horas de la experimentación.

Tabla 13. Resultados de TVA y PVA a 24 y 125 horas

Concentración	TVA (g/h*m ²)	PVA (g*mm/kPa*h*m ²)
24 Horas		
60% NLS	172413.793	2.01418E-06
65% NLS	159151.194	2.10714E-06
70% NLS	145888.594	1.8558E-06
75% NLS	212201.592	2.93806E-06
Xantana	570291.777	7.9398E-07
125 Horas		
60% NLS	172413.793	2.10418E-06
65% NLS	132625.995	1.75595E-06
70% NLS	132625.995	1.68709E-06
75% NLS	198938.992	2.75443E-06
Xantana	583554.377	8.12361E-07

Se observa que en cuanto a la transmisión del vapor de agua las películas de goma xantana son las que muestran un resultado mayor en ambos tiempos lo cual nos indica que esta concentración no es una buena barrera, caso contrario a lo sucedido con las muestras

recubiertas con NLS. También se puede ver que la TVA es inversamente proporcional a la permeabilidad al vapor de agua.

Los resultados de la concentración 75% de NLS no tienen la misma tendencia que las demás pues en éstas, a menor concentración de NLS mayor transmisión de vapor de agua lo cual explica el por qué en las pruebas anteriores esta concentración muestra comportamientos inusuales pues probablemente haya un exceso de NLS el cual inhiba demasiado la respiración del producto y por lo tanto su vida útil sea acortada, también se comprueba que la adición de NLS modifica las propiedades de las películas como reportó (Baldwin et al., 1999) al aplicar un recubrimiento de cera de carnauba en mango.

En la figura 25 se expone el comportamiento de la permeabilidad al vapor de agua.

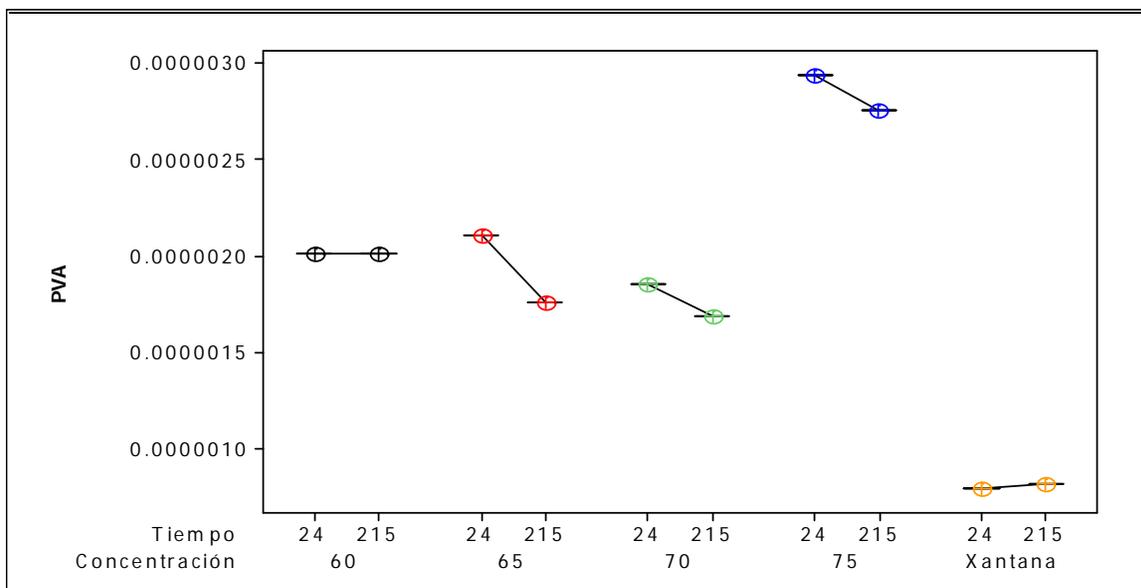


Figura 25. Comportamiento de la permeabilidad al vapor de agua de los recubrimientos de NLS/Xantana y Xantana durante la experimentación

Se observa que las concentraciones 60, 65 y 70% de NLS tienen un comportamiento similar, no así la muestra con 75% de NLS y goma xantana pues demuestran que la permeabilidad al vapor de agua es inversamente proporcional a la TVA además de que este comportamiento tiene su explicación en que la transmisión de vapor de agua está regida por dos factores, la difusividad y la solubilidad del agua en la matriz de la película y para este caso es posible se presentara una modificación en éstas ya que la película es de origen

lipídico, por esta razón se lleva a cabo un fenómeno lipofóbico, el cual evita la difusión y solubilización (Hu et al., 2008).

En la tabla 14 se presenta el análisis de varianza de la permeabilidad al vapor de agua en función al tiempo de almacenamiento y concentración de la película.

Tabla 14. ANOVA del PVA en función al tiempo de almacenamiento y concentración

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Media cuadrada	F	P
Concentración	4	0.00	0.00	8.42E+17	0.000
Tiempo	1	0.00	0.00	3.71E+16	0.000
Interacción	4	0.00	0.00	9.11E+15	0.000
Error	20	0.00	0.00		
Total	29	0.00			
Media: 1.94E+15, % Variable de respuesta: 100%, Variación del % de respuesta: 100%					

Se observa que tanto la concentración, el tiempo y la interacción entre éstos tienen una influencia significativa sobre la transmisión al vapor de agua de las películas NLS-Xantana ya que al aumentar la concentración de NLS a la formulación, estas limitan la transferencia del vapor de agua.

CONCLUSIONES

1. El recubrimiento de NLS/Xantana tiene influencia indirecta sobre la concentración de polifenoles totales debido a que está relacionada con la producción de etileno del fruto y la cantidad de éste influye en la maduración de la guayaba, es decir, a mayor concentración de etileno, mayor concentración de polifenoles totales, lo cual eleva la calidad del producto debido a la importancia de los antioxidantes en la salud humana. En cuanto a la vida útil del producto sí existe una influencia directa de los recubrimientos, ya que al modificar la atmósfera del fruto se retarda la maduración de éste y si se aplican bajas temperaturas de almacenamiento se extiende aún más la vida útil del producto.
2. La formulación del recubrimiento 65% NLS/Xantana es la que prolonga durante más tiempo la vida útil de la guayaba, ya que retarda la síntesis de azúcares, conserva durante más tiempo el color, existe menor pérdida de peso y conserva mejor la firmeza del producto. En cuanto a los recubrimientos con 70 y 75% de NLS/Xantana, se concluyó que la concentración de NLS es excedente y por lo tanto limita demasiado la respiración del producto, ocasionando que se acelere la maduración en vez de retardarla. La barrera que interpone el recubrimiento de goma Xantana al intercambio gaseoso es muy pobre y por este motivo no tiene gran influencia sobre la conservación de la guayaba.
3. La permeabilidad de los recubrimientos demuestran que las NLS forman una barrera eficiente al intercambio gaseoso, aunque en concentraciones por arriba de 65% su eficiencia disminuye pues lo impide y esto acelera la maduración del producto.
4. Como recomendación es importante profundizar en el estudio de la actividad antioxidante de la guayaba y realizarlo mediante métodos más exactos a los utilizados en este proyecto con la finalidad de obtener resultados más claros.

BIBLIOGRAFÍA

AOAC. 1995. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemist International. 13th ed. Arlington, Virginia.

ASTM E96. 1980. Standard test methods for water vapor transmission of materials. ASTM Standards and Test Methods. pp. 685-693.

Azzolini M.; Jacomino A.; Urbano I. 2004. Índices para evaluar localidad post cosecha de la guayaba en diferentes estadios de maduración. Escuela Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Depto. de Ciencias Biológicas, 39, 139-145.

Badui D. Salvador. 2006. Química de los alimentos. Cuarta edición, Pearson Educación, México.

Baldwin, E.; Burns, J.K.; Kazokas, W. 1999. Effect of two edible coatings with different permeability characteristics on mango (*Mangifera indica* L.) ripening during storage. Postharvest Biology and Technology, 17, 215–226.

Barberán, T. 2003. *Food Polyphenols and Health*. Primera edición, INIA, España.

Bashir, A. H.; Abu, B. A.; Abu, G. 2003. Compositional changes during guava fruit ripening. Food Chemistry, 80, 557-563.

Casp V. A. 2003. Procesos de conservación de los alimentos. Segunda edición, Mundi-Prensa, España.

Castellano, G.; Quijada, O.; Ramírez, R.; Sayago E. 2005. Comportamiento postcosecha de frutas de guayaba (*psidium guajava* L.) tratados con cloruro de calcio y agua caliente a dos temperaturas de almacenamiento. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 6, 78-82.

Castillo, J.; Valero, O.; Serrano D.. 2008. Use of alginate or zein as edible coatings to delay postharvest ripening process and to maintain tomato (*Solanum lycopersicon* Mill) quality. *Journal Science Food Agriculture*, 88, 1287–1293.

Chitarra, M.I.F.; Chitarra, A.B. 2005. Post cosecha de frutos y hortalizas: Fisiología y manejo. Segunda edición, UFLA, Brasil.

De Moura, M. R.; Aouada, A. F.; Avena, B. R. J.; Mc Hugh, T. H.; Krochta, J. M.; Mattoso, L. H. C. 2009. Improved barrier and mechanical properties of novel hidroxypropyl methylcellulose edible films with chitosan/tripolyphosphate nanoparticles.

Hu, V.; Topolkarav, V.; Hiltner, A.; Baer, E. 2001. Measurement of water vapor transmission rate in highly permeable films. *Journal of Applied Polymer Science*, 81, 1624-1633.

Jacomino A.P.; Kluge R.A.; Grígoli C.A.; Monteiro J.M. 2001. Evaluation of plastic packages for guava refrigerated preservation. *Packaging technology and science*, 14, 11-19.

Jain, N.; Dhawan, K.; Malhotra, S.; Singh, R. 2003. Biochemistry of fruit ripening of guava (*Psidium guava* L.): compositional and enzymatic changes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 58, 309-315.

Jiménez, C. P. E.; López P. M. R. 2009. Evaluación del potencial uso de las nanopartículas lipídicas solidas en recubrimientos de película acuoso. Tesis de Licenciatura. UNAM. FES Cuautitlán. pp. 15-20.

Kader, A. 2002. Postharvest Technology Research and Information Center. En línea. 1^a versión. Universidad de California. Disponible en: <http://postharvest.ucdavis.edu/favicon.ico> Visitado en 03/2010.

Kuskoski, E.; Asuro, A.; Troncoso, A.; Mancini, F. J. 2005. Aplicación de diversos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de fruta. Sevilla, España.

Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf> Visitado en 03/2010.

Lin, D. y Zhao, Y. 2007. Innovation in the development and applications of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **6**, 60-71.

Marquina, V.; Araujo, L.; Ruiz, J.; Rodriguez-Malaver, A.; Vit, P. 2008. Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.), Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, **58**, 98-102.

Mehnert W.; Mader K. 2001. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **47**, 165–196.

Mercado, S. E.; Benito, B. P.; García, V. M. 1998. Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*, **13**, 143-150.

Mercado-Silva E. y López-Enríquez, E. 2003. Cambios fisiológicos y de calidad en guayaba mínimamente procesada, Facultad de Química, Depto. de Investigación y Posgrado en Alimentos, Querétaro. México.

Michelis A. 2006. Elaboración y conservación de frutas y hortalizas. Primera Edición, Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina. pp. 108-118.

Mondal, K.; Singh, A. P.; Saxena, N.; Malhotra, S. P.; Dhawan, K.; Singh, R. 2007. Possible interactions of polyamines and ethylene during ripening of guava (*Psidium guajava* L.) fruits. *Journal of Food Biochemistry*, **32**, 46-59.

Pal, R. K.; Ahmad, M. S.; Roy, S. K.; Manio, S. 2004. Influence of storage environment, surface coating and individual shrink wrapping on quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruits. *Plant Food for Human Nutrition*, **59**, 67-72.

Patthamakanokporn, O.; Puwastie, P.; Nitithamyong, A.; Sirichakwal, P. 2008. Change of the antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, **21**, 241/248.

Radomska, A. S. 2007. Stability of lipid excipients in solid lipid nanoparticles. *Journal of Physics: Conference Series*, **146**, 311-319. Poland.

Rojas, B. D. R.; Narváez, C. E. C.; Restrepo, S. L. P. 2008. Evaluación del contenido de vitamina C, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Sáenz, C. A. 2007. Potencialidades de la Guayaba Tai-kuo-bar. Consejo Nacional de la Producción -CNP-. Área Poscosecha. San José, Costa Rica. Boletín Poscosecha 49 (2).

SAGARPA, Plan Rector Sistema Nacional Guayaba, 2005.

SAGARPA, Plan Rector Sistema Nacional Guayaba, 2009.

Singh S. P.; Pal R. K. 2007 Controlled atmosphere storage of guava (*Psidium guajava* L.). *Postharvest Biology and Technology*, **47**, 296-306.

Singh S. P.; Pal R. K. 2008. Response of climacteric-type guava (*Psidium guajava* L.) to postharvest treatment with 1MCP. *Postharvest Biology and Technology*, **47**, 301-314.

Tomás, S. A.; Bosquez, M. E.; Stolik, S.; Sanchez, F. 2005. Effects of mesquite gum-candelilla wax based edible coatings on the quality of guava fruit (*Psidium guajava L.*). *Journal Physique IV*, **125**, 889-892.

Velázquez de la Cruz, G.; Martín Polo, M. O.; Martínez Peniche, R.; Robles Cárdenas, M. 1998. Efecto de la temperatura, humedad relativa y tipo de recubrimiento sobre la respiración de la guayaba. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, **2** (2), 54-59.

Weiss, J.; Decker, E.; Mc Clements, D.; Kristbergsson, K.; Helgason, T.; Awad, T. 2008. Solid lipid nanoparticles as delivery system for bioactive food components, *Food Biophysics*, **3**, 146-154.

Wissing, S. A.; Kayser, O.; Muller, R. H. 2004. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Review*, **56**, 1257-1272.

Zarazúa Escobar J. A.; Martínez Damián Ma. T.; Colina León Ma. T.; Barrientos-Priego A. F.; Aguilar-Melchor J. J. 2005. Frigoconservación y atmósferas modificadas en frutos de aguacate mínimamente procesado. Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo.