



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Influencia de las condiciones de operación en el
proceso de pasteurización de jugo de sandía
adicionado con nanocápsulas de
 α - tocoferol**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

FELIPE GARCÍA FRÍAS

ASESORES:

**M. EN C. RICARDO MOISÉS GONZÁLEZ REZA
DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA**

CUAUTITLÁN IZCALLI EDO. DE MÉXICO 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

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

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

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

Influencia de las condiciones de operación en el proceso de pasteurización de jugo de sandía adicionado con nanocápsulas de α - tocoferol.

Que presenta el pasante: **Felipe García Frias**
Con número de cuenta: 308166770 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 02 de Octubre de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.A. Alfredo Álvarez Cárdenas	
VOCAL	I.A. Edgar Francisco Arechavaleta Vázquez	
SECRETARIO	I.A. Ricardo Moisés González Reza	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
2do. SUPLENTE	M.N.H. Juana Gutiérrez Bautista	

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

EL PRESENTE PROYECTO FUE FINANCIADO POR:

- El proyecto PAPIIT IT201617, “Efecto de recubrimientos nanoparticulados y tratamiento con luz UV-C sobre la actividad antioxidante, enzimática e integridad de frutas y hortalizas cortadas”.
- El Programa Interno de Apoyo a Proyectos de Investigación (PIAPI 1647) de la UNAM: Evaluación y diseño de sistemas nanoparticulados para la conservación refrigerada y/o congelada de productos de origen vegetal.

LUGAR DE REALIZACIÓN DE LA TESIS:

Laboratorio de Procesos de Transformación y Tecnologías Emergentes en Alimentos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán – UNAM.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a la **Universidad Nacional Autónoma de México** y cada uno de sus profesores que fueron pilar importante en mi desarrollo profesional.

Al **M. en C. Ricardo Moisés González Reza** por su confianza, tiempo y por sus conocimientos. Gracias por el apoyo y paciencia que desde LEM IV me brindo, siempre estando disponible y abierto a transmitir conocimientos.

A la **Dra. Maria de la luz Zambrano Zaragoza** y a su equipo del **Laboratorio de Transformación y Tecnologías Emergentes de Alimentos**, por el apoyo académico brindado.

A la **Dra. María de los Ángeles Cornejo Villegas** por el apoyo técnico en el desarrollo metodológico de este trabajo de tesis en el Laboratorio de Transformación y Tecnologías Emergentes de Alimentos en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria.

Al **jurado asignado** para este proyecto, quienes con sus observaciones y conocimientos han enriquecido mi trabajo profesional, de igual forma por su gran labor que realizar como catedráticos de esta institución.

DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo a las personas más cercanas e importantes en mi vida, ya que jugaron un papel fundamental en esta etapa.

Mi **mamá**, quien sin lugar a dudas fue mi impulsora a terminar este trabajo, gracias por recordarme lo importante que es cerrar esta etapa de mi vida, Gracias por enseñarme a nunca darme por vencido y concluir las metas que uno se propone. Por el esfuerzo que tú y mi papa hicieron durante mi formación académica para que siempre tuviera las herramientas necesarias para culminar. Te quiero mamá, siempre!

A mi **papá**, por demostrarme que lo más importante es la educación, gracias por enseñarme que nadie tiene límites y que si se quiere se puede lograr. Tú eres mi ejemplo de perseverancia, tenacidad y fuerza, que las barreras solo están en la mente. Te quiero papa!

A mi **hermana Gelita**, quien durante esta etapa siempre estuvo para apoyarme en las buenas y en las malas, porque a pesar de que nos peleamos siempre me apoyó con sus consejos. Sé que siempre estarás para mí y debes de saber que siempre estaré para apoyarte a ti y a tu familia, los quiero!

A **Cynthia**, tu que fuiste siempre mi gran apoyo para terminar esto, tu que siempre me decías, "esa tesis", eres un ejemplo de entrega y perseverancia. Por acompañarme en esta gran etapa, por que hemos vivido tanto juntos, hemos madurado de la mano y quiero seguir contigo y compartir los nuevos retos que comienzan. Gracias por apoyarme siempre y por hacer de esta etapa algo inolvidable. Te amo siempre Cynthi!

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN	VI
INTRODUCCIÓN.....	VII
CAPITULO 1 MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Pasteurización.....	1
1.1.1 Definición moderna de la pasteurización.....	2
1.1.2 Aplicación.....	2
1.1.3 Equipos.....	4
1.2 Jugo de Sandía	7
1.2.1 Definición.....	7
1.2.2 Parámetros físicos y fisicoquímicos	9
1.2.3 Parámetros químicos.....	11
1.3 Actividad Enzimática	16
1.3.1 Pectinmetilesterasa (PME).....	18
1.3.2 Peroxidasa (POD).....	20
1.3.3 Métodos de Inhibición.....	22
1.3.4 Efectos por tratamiento térmico	22
1.3.5 Métodos de cuantificación	23
1.3.6 Actividad residual relativa	24
1.4 Nanotecnología.....	24
1.4.1 Definición.....	24
1.4.2 Nanocápsulas	25

1.4.3	Encapsulación de Nutracéuticos.....	30
CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL		36
2.1	Objetivos.....	36
2.1.1	Objetivo General.....	36
2.1.2	Objetivos Particulares.....	36
2.2	Materiales y Métodos.....	37
2.2.1	Materiales	37
2.2.2	Preparación de las Nanocápsulas de α - tocoferol.....	38
2.2.3	Tamaño de Partícula (TP) e Índice de Polidispersión (IPD).....	38
2.2.4	Potencial Zeta (ζ)	38
2.2.5	Elaboración del Jugo de Sandía	39
2.2.6	Pasteurización del Jugo	39
2.2.7	pH.....	39
2.2.8	Sólidos Solubles (°Brix)	39
2.2.9	Determinación de Acidez Titulable (Análisis Volumétrico)	40
2.2.10	Colorimetría.....	40
2.2.11	Turbidimetría.....	41
2.2.12	Contenido de Licopeno	41
2.2.13	Fenoles Totales.....	42
2.2.14	Ácido Ascórbico	43
2.2.15	Actividad Peroxidasa (POD)	43
2.2.16	Actividad Pectinmetilesterasa (PME).....	44
2.2.17	Actividad Residual Relativa (ARR).....	45
2.3	Diseño Experimental	45
CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		46

3.1	Caracterización de las Nanocápsulas	46
3.2	Parámetros de Control	47
3.2.1	pH	47
3.2.2	°Brix	49
3.2.3	Acidez Titulable	50
3.3	Colorimetría	51
3.3.1	Índice de Color (IC)	53
3.3.2	Cromaticidad	55
3.3.3	Cambio Total de Color (ΔE)	56
3.4	Turbidez	59
3.5	Contenido de Licopeno	60
3.6	Fenoles Totales	65
3.7	Ácido Ascórbico	67
3.8	Pectinmetilesterasa (PME)	70
3.9	Peroxidasa (POD)	73
CONCLUSIONES		77
BIBLIOGRAFÍA		79

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Aplicación y condiciones de pasteurización de diferentes alimentos (Fellows & Javier, 2000)	3
Cuadro 2. Composición Química de la Sandía (North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services - Food and Drug Protection Division, 2014).	8
Cuadro 3. Factores utilizados en el diseño experimental sus niveles de variación.	45
Cuadro 4. Características de las nanocápsulas de α -tocoferol.	46
Cuadro 5. Promedios de pH, ° Brix y Acidez a las diferentes condiciones de operación respecto a la muestra control	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama isométrico de Intercambiador de superficie raspada.	6
Figura 2. Estructura del trans-licopeno (Bramley, 2002).	12
Figura 3. Estructura del Ácido Gálico (Forero et al., 2012).	13
Figura 4. Estructura del ácido ascórbico (Shyla & Nagendrappa, 2013).	15
Figura 5. Estructura tridimensional de la enzima PME (Johansson et al., 2002).	18
Figura 6. Mecanismo de acción de la PME (Wong et al., 2003).	19
Figura 7. Estructura tridimensional de la enzima POD (Kunishima et al., 1994).	21
Figura 8. Esquema del método de emulsificación-difusión (Mora-Huertas et al., 2010).	27
Figura 9. Estructura de los 4 diferentes tocoferoles (Yang & Suh, 2012).	34
Figura 10. Diagrama de Pareto para el pH.	48
Figura 11. Efectos principales para los °Brix en el jugo de sandía.	49
Figura 12. Interacciones evaluadas para la acidez titulable.	50
Figura 13. Ubicación en el círculo cromático las coordenadas de perfil de color (L^* , a^* y b^*) de las muestras analizadas.	52
Figura 14. Diagrama de cubo para el índice de color	53
Figura 15. Interacciones obtenidas en la cromaticidad de los jugos	55
Figura 16. Diagrama de Pareto para el cambio total de color	57

Figura 17. Interacciones obtenidas para la turbidez de las muestras	59
Figura 18. Diagrama de Pareto para el contenido de licopeno en los jugos.	61
Figura 19. Diagrama de cubo para la retención de licopeno en las muestras	63
Figura 20. Diagrama de cubos para el contenido de polifenoles totales (mg EAG/L)	65
Figura 21. Interacciones obtenidas para la retención de fenoles totales	66
Figura 22. Interacciones obtenidas para la concentración de ácido ascórbico.	68
Figura 23. Diagrama de cubo para la retención de ácido ascórbico.	69
Figura 24. Diagrama de cubo para la actividad PME en los jugos de sandía.	70
Figura 25. Diagrama de Pareto para la actividad residual relativa PME	71
Figura 26. Interacciones obtenidas para la actividad de la enzima POD.	73
Figura 27. Diagrama de Pareto para la ARR POD (%)	75

RESUMEN

En el presente trabajo se elaboró jugo de sandía, pasteurizado a diferentes condiciones de operación (velocidad de alimentación, flujo volumétrico y velocidad de aspás) en un intercambiador de superficie raspada. Se adicionaron nanocápsulas de α -tocoferol con la finalidad de preservar los fitoquímicos del jugo de sandía, que comúnmente se degradan con el tratamiento térmico. Para determinar la influencia de las condiciones de operación sobre el jugo de sandía y el efecto protector de las nanocápsulas se determinaron propiedades físicas y fisicoquímicas como parámetros control. También se determinaron propiedades químicas como el contenido de licopeno, fenoles totales y ácido ascórbico además de la actividad enzimáticas PME y POD antes y después cada tratamiento térmico.

Los parámetros control no presentaron diferencia significativa respecto a la muestra sin pasteurizar. El tratamiento térmico disminuyó las concentraciones de los compuestos termolábiles como el licopeno, ácido ascórbico y fenoles totales afectando diferentes propiedades del jugo como, la disminución de concentración de licopeno que tiene como efecto cambios de color. Además, la disminución de ácido ascórbico provocó un descenso en la acidez titulable. La condición de operación que más afectó a los componentes termolábiles fue la presión del vapor misma que está ligada a la temperatura en la etapa de calentamiento. Las condiciones de operación en las cuales se conservan en mayor proporción los compuestos fitoquímicos fueron de 100 kPa de presión del vapor, velocidad de alimentación de $4.2 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ y una velocidad del rotor de 3.6 s^{-1} que son las condiciones centrales del diseño. La actividad enzimática PME y POD se determinaron ya que generan deterioro en las propiedades físicas y fisicoquímicas del jugo de sandía. La condición de operación que tuvo mayor efecto sobre la actividad residual relativa de ambas enzimas fue la presión del vapor a la condición más alta propuesta (150 KPa).

INTRODUCCIÓN

La sandía (*Citrullus lanatus*) es una fruta que se consume comúnmente en muchos países, esto debido a que contiene muchos nutrientes en su composición como ácido ascórbico, β -caroteno, citrulina y licopeno, los cuales muestran una actividad antioxidante significativa. Es un fruto exótico que contiene antioxidantes lo cuales tienen beneficios a la salud, contiene potasio y magnesio, así como licopeno, el cual es un carotenoide con propiedades antioxidantes que le aporta la coloración roja a su pulpa (Kim et al., 2014; Rawson et al., 2011).

La pasteurización de jugos y bebidas es uno de los procesos térmicos más utilizados en la industria alimentaria el cual se realiza con el fin de eliminar los microorganismos patógenos presentes en los alimentos para que cuando sea ingerido por el consumidor este alimento no le cause ningún daño; consiste en un calentamiento por debajo de los 100°C, un mantenimiento y un enfriamiento, lo que sucede en este proceso es un choque térmico. Los factores más importantes en el proceso de pasteurización son la temperatura y el tiempo al que es sometido el producto. Uno de los problemas que se llegan a presentar en este proceso de pasteurización es evitar que sucedan reacciones indeseables al producto, como lo son cambio de color, reacciones de Maillard, degradación de compuestos termolábiles, etc.

En el mercado mundial la aceptación del jugo de sandía está incrementando al rededor del mundo debido a sus propiedades sensoriales, físicas y nutricionales. Sin embargo, se producen en él muchos cambios indeseables como el atractivo color rojo, la viscosidad y el sabor (Aguiló-Aguayo et al., 2010). Debido a esta demanda mundial de jugo de sandía se han buscado nuevas formas de desarrollar las condiciones óptimas para su almacenamiento, así como tratamientos térmicos que logren inactivar ciertas enzimas causantes de deterioro en ésta fruta. La tendencia actual de los consumidores a adquirir alimentos con alta calidad sensorial y alto valor nutritivo y funcional está haciendo que las industrias de procesado desarrollen tecnologías capaces de combinar estas propiedades

con la innegociable seguridad alimentaria. En el caso de los zumos de frutas se trata de conseguir este objetivo combinando tratamientos mínimos con la conservación refrigerada del producto durante su periodo de vida comercial.

La nanotecnología de los alimentos está ganando rápidamente la atención en la ciencia de los alimentos y sus aplicaciones industriales. Aspectos relacionados con la legislación, la aceptación general por los consumidores así como el desarrollo de métodos de fabricación para producir nanoalimentos competitivos, representan un cambio que tiene que ser enmarcada dentro de un multi e interdisciplinario alcance. (Hernández-Sánchez & Gutiérrez-López, 2015). El sistema de nanoencapsulación en alimentos ofrece numerosos beneficios, incluyendo la fácil manipulación, mayor estabilidad, protección contra la oxidación, retención de componentes volátiles, el enmascaramiento del sabor, liberación controlada activada por la humedad, liberación controlada activada por el pH, entrega consecutiva de múltiples ingredientes activos, cambios en las características del sabor, mayor percepción organoléptica y una mayor disponibilidad y eficacia (Neethirajan & Jayas, 2011).

CAPITULO 1 MARCO TEÓRICO

1.1 Pasteurización

Las primeras investigaciones sobre la pasteurización se llevaron a cabo en 1765 por Spallanzani, la cual se usaba para retrasar el deterioro y preservar el extracto de la carne. De 1862 a 1864, Pasteur demostró que las temperaturas de 50 °C-60 °C durante un corto período de tiempo eliminaba efectivamente microorganismos contaminantes presentes en el vino y cerveza. El concepto pasteurización surge aproximadamente en el año de 1862 descrito por Louis Pasteur es cual refiere a que es un tratamiento térmico que va de 50 °C-90 °C que sirve para inactivar células vegetativas y microorganismos patógenos.

La pasteurización es un método clásico en la preservación de alimentos la cual extiende la vida útil del alimento debido a que inactiva células vegetativas, así como microorganismos patógenos. Es un proceso aséptico, en el cual la mayoría de los productos pasteurizados son tratados en equipos que usan vapor o agua caliente como fluido de calentamiento. La temperatura de proceso que la pasteurización maneja habitualmente se encuentra entre 65 °C – 95 °C (González, 2012)

Este método físico sigue siendo altamente empleado por ser eficiente, amigable con el medio ambiente, seguro y de bajo costo comparado con otras tecnologías. Según Richard Simpson (*Engineering aspects of thermal food processing*, 2009) éste método se combina con métodos no térmicos de conservación de alimentos como la refrigeración (1 °C-8 °C), atmosferas modificadas y aditivos también menciona que hay una degradación mínima de la calidad organolépticas y nutricionales del producto después de ser pasteurizado respecto al producto fresco.

Los productos que emplean la pasteurización son variados y entre ellos se pueden mencionar productos como la leche, jugos de fruta, cerveza bebidas carbonatadas, huevo, quesos, salsas, entre otros. La pasteurización brinda un tiempo corto de estabilidad es por

ello que requiere de otros métodos de conservación adicionales como la refrigeración; sin embargo la pasteurización brinda muy buenos resultados destruyendo microorganismos patógenos (*Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella*, *Listeria* etc. En leche, *Salmonella* en huevo líquido).

1.1.1 Definición moderna de la pasteurización

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos ha realizado una definición moderna de pasteurización: " Es un proceso, tratamiento, o combinación de ambos, éste es aplicado en los alimentos para reducir la mayoría de los microorganismos resistentes de significado en la salud pública a un nivel que no presente riesgo para el consumidor bajo condiciones normales de distribución y almacenamiento" (NACMCF, 2006).

1.1.2 Aplicación

La pasteurización es el método más extensamente utilizado para la conservación de alimentos en el siglo XX (Moraga et al., 2011) es ampliamente utilizada en alimentos líquidos que son un buen sustrato por su alto contenido nutricional para el desarrollo microbiano como leche, jugos, huevo, mermeladas, etc. Los alimentos líquidos pueden ser pasteurizados por lotes, es decir directamente en los envases de vidrio para reducir el riesgo de fracturas por cambios bruscos de temperaturas (Fellows & Javier, 2000).

Los equipos que tienen operación por lotes constan de un contenedor n donde se colocan los envases, posteriormente se bombea agua caliente a una temperatura previamente establecida y se deja en contacto con el envase durante el tiempo de procesos estipulado. Posteriormente el contenedor se vacía y es llenado con agua fría para generar el choque térmico del alimento. (González, 2012). Cuando las necesidades cambian y se requiere pasteurizar líquidos sin envasar se utilizan diferentes tipos de intercambiadores de calor; los más utilizados son los intercambiadores de placas; estos equipos constan de placas de acero inoxidable sujetas a un marco. Las placas están corrugadas en un patrón para aumentar la turbulencia del flujo del medio y del producto (Riverol & Napolitano, 2005).

Cuadro 1. Aplicación y condiciones de pasteurización de diferentes alimentos (Fellows & Javier, 2000).

Alimento	Condiciones de Proceso	Objetivo Primario	Objetivo Secundario
Leche	63 °C, 30 min 71.5 °C, 15 s	Destrucción de Microorganismos patógenos (<i>Br. Abortus</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>C. burnetti</i>)	Destruir microorganismos alterantes
Huevo liquido	64.4 °C, 2.5 min 60 °C, 3.5 min	Destruir microorganismos patógenos (<i>Salmonella Seftenburg</i>)	Destruir microorganismos alterantes
Helados	65 °C, 30 min 71 °C, 10 min 80 °C, 15 s	Destruir microorganismos patógenos	Destruir microorganismos alterantes
Jugos de Frutas	65 °C, 30 min 77 °C, 1 min 88 °C, 15 s	Inactivar enzimas: pectinesterasa y poligalacturonasa	Destruir levaduras y mohos alterantes
Carne	65-68 °C, 20 min 72-75 °C, 1-4 min (900-1.000 kPa)	Destruir los microorganismos patógenos.	Destruir levaduras y bacterias lácticas.
Vino	82-85 °C, 1min	Destruir los microorganismos patógenos.	Destruir levaduras y bacterias lácticas.
Conservas en medio ácido (pH 3.7)	74 °C, 15 min	Destruir microorganismos que causan descomposición acidúrica.	----
Vinagre	65.6-71.1 °C, 1 min 60 °C, 30 min	Destruir microorganismos que causan descomposición acidúrica.	----

Estos equipos son muy utilizados en la industria de los alimentos debido a su tamaño compacto, fácil desmontaje y limpieza (Gut & Pinto, 2003). Los alimentos que se pasteurizan en estos intercambiadores de calor son de viscosidades bajas como leche, productos lácteos, jugos de frutas, cerveza, vino y huevo líquido. Por otra parte estos tratamientos pueden ocasionar cambios nutricionales o sensoriales, los cuales dependerán de la temperatura y el tiempo de tratamiento (González. 2012).

Actualmente la aplicación de la pasteurización se ha modernizado y se han creado diversos métodos con diferentes aplicaciones cada uno de ellos. Se conocen tres métodos con los

cuales se trabaja actualmente, primero podemos mencionar el LTLT (por sus siglas en ingles) el método de baja temperatura y largo tiempo, consiste en aplicar de 63-66 °C durante 30 minutos. En segundo lugar tenemos el llamado HTST (por sus siglas en ingles) que va de 71-75 °C durante 15 s que se refiere a temperaturas altas en un corto tiempo.

En ambos casos los productos involucrados requieren de refrigeración posterior al tratamiento para lograr una vida de anaquel de un par de semanas aproximadamente. Por ultimo tenemos al UHT (por sus siglas en ingles) el cual consiste en aplicar de 135-140 °C durante 2-10 s, por sus características es nombrados ultra pasteurización. Estos alimentos se envasan asépticamente y no requieren refrigeración para su almacenamiento y tiene una vida de anaquel de 3 a 4 meses (Badui, 1993). En general el proceso de pasteurización es aplicado a productos como la leche, jugo, crema, cerveza, algunas salsas, bebidas carbonatadas, encurtidos e ingredientes alimentarios para poder prolongar su vida de anaquel sin riesgos a la salud (González, 2012).

1.1.3 Equipos

El intercambiador de superficie raspada (ISR) es una pieza de equipo especializado de transferencia de calor, que fue patentado en 1926 por Clarence Vogt, en un esfuerzo para desarrollar un congelador más eficiente para hacer helados. El diseño incorporaba una acción de raspado para evitar la acumulación de helado congelado en las superficies de transferencia de calor (González, 2012). En la actualidad muchos productos farmacéuticos y alimentos procesados requieren tratamientos térmicos para poder alargar su vida útil; sin embargo muchos de estos productos son de viscosidad alta los cuales requieren de un equipo especial que pueda llevar a cabo los tratamientos térmicos efectivamente.

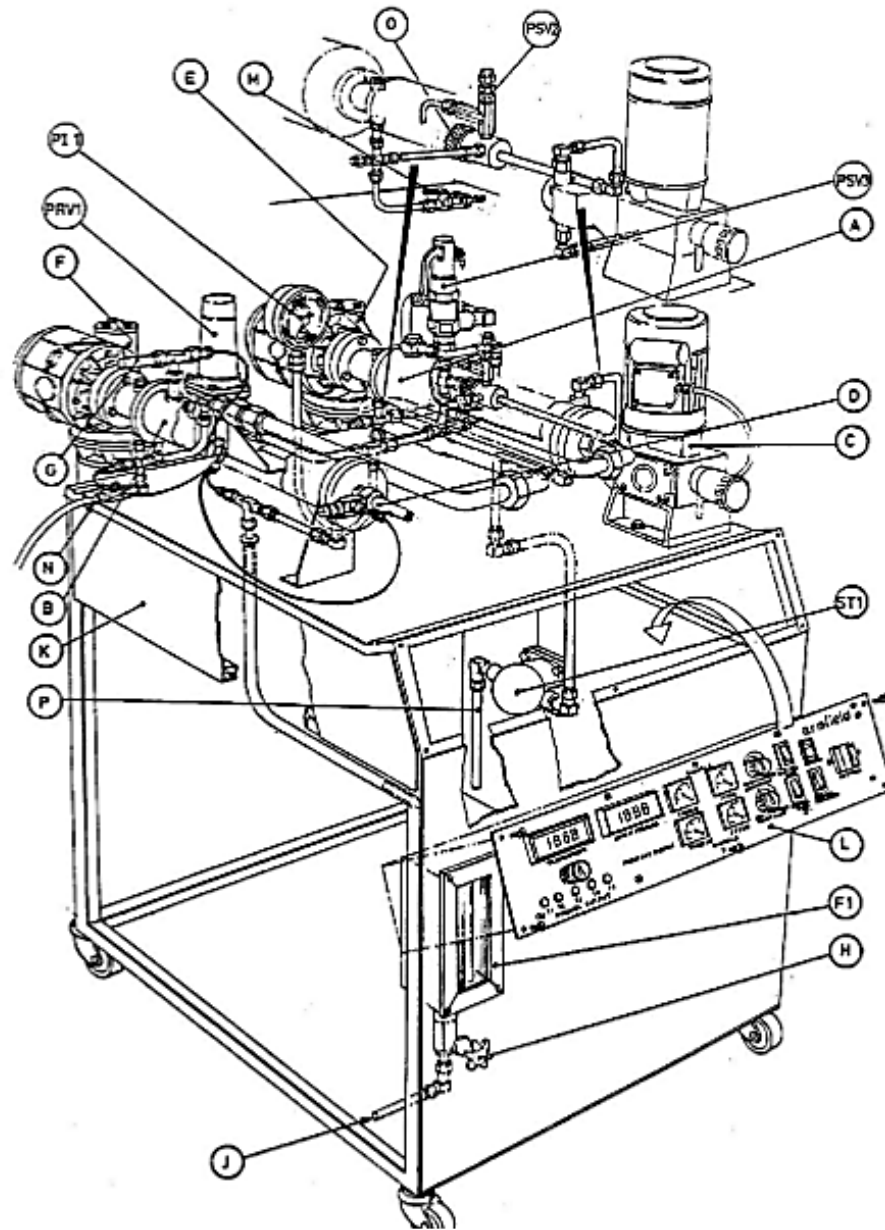
Los intercambiadores de superficie raspada suelen emplearse para para calentar y enfriar suspensiones de líquidos viscosos, soluciones acuosas y orgánicas viscosas, así como, numerosos productos alimenticios, tales como la margarina, concentrados de diferentes tipos de jugos y helados (APV Crepaco, Inc., 1999).

Estos intercambiadores se emplean comúnmente en la industria alimentaria, química y farmacéutica para la transferencia de calor, cristalización y otros procesos continuos. Son ideales para los productos con alta viscosidad y que contienen partículas en suspensión, o que necesitan un cierto grado de cristalización. Dado que estas características describen una gran mayoría de los alimentos procesados, son especialmente adecuados para productos alimenticios bombeables.

Durante el funcionamiento, el producto se pone en contacto con una superficie de transferencia de calor el cual pasa rápidamente y es raspado continuamente por las aspas internas, exponiendo así la superficie para el paso del producto sin tratar.

Además de mantener el intercambio de calor elevado y uniforme, las cuchillas raspadoras también proporcionan una agitación. El intercambio de calor de los alimentos viscosos, tales como aderezos para ensaladas pesada, margarina, chocolate, mantequilla de maní, pasta de azúcar, helados, y mantecas sólo es posible mediante el uso del ISR. Los coeficientes de transferencia de calor altos se logran debido a que en la capa límite se sustituye continuamente por material fresco. Además, el producto está en contacto con la superficie de calentamiento por sólo unos pocos segundos y los gradientes de temperatura pueden ser utilizados sin el peligro de causar reacciones indeseables en el producto (Rao & Hartel, 2006).

Este intercambiador consiste en dos cilindros concéntricos y un eje central, el fluido de trabajo es localizado entre los dos cilindros (Dehkordi et al., 2015). Este equipo consta de un intercambiador de tubo doble con un cilindro enchaquetado que contiene el vapor de agua o el líquido de enfriamiento y un eje interno el cual se acoplan a laminas raspadoras.



E-F: Motores de velocidad variable

F1: Rotámetro

J: Entrada de agua helada

K: Estante móvil de acero inoxidable

A: Cilindro de calentamiento

PVR1: Válvula de diafragma

B: Cilindro de enfriamiento

H: Válvula de ajuste del rotámetro

G: Salida de agua helada

L: Consola de Control

C: Bomba de diafragma

P: Manómetros

Figura 1. Diagrama isométrico de Intercambiador de superficie raspada (APV Crepaco, Inc., 1999).

El diseño térmico del intercambiador de superficie raspada está basado en coeficientes de transferencia de calor altos (U) con valores normales en un rango de 500-1000 w/m² K, debido a las paredes relativamente gruesas del tubo donde se lleva a cabo la transferencia de calor, por otra parte el diferencial de temperatura entre el medio de calentamiento y el producto (aproximadamente 25 °C) es más alto que en otros intercambiadores de calor (Handbook of Food Processing Equipment, 2016). En general el intercambiador de superficie raspada presenta muy buenas ventajas ante otros intercambiadores, sin embargo, es un equipo costoso y su uso solo es justificado cuando se utilicen fluidos con alta viscosidad o productos con partículas en suspensión como helados, cajeta y algunos jugos de frutas.

1.2 Jugo de Sandía

1.2.1 Definición

La sandía (*Citrullus lanatus*) es una cucurbitácea cuyo origen se centra en países tropicales de África. El cultivo de esta herbácea se ha extendido por numerosas regiones hasta llegar al continente Americano donde México figura dentro de sus principales países productores (Salaya et al., 2002; Quek et al., 2007). Es un fruto de forma elipsoidal u oblonga de tamaño variable, de corteza verde de acuerdo con la variedad (*Citrullus lanatus*), la parte interna de ésta y la pulpa (porción comestible) son carnosas y jugosas siendo de color blanco la primera y rojo intenso o pálido la segunda, de sabor dulce con gran número de semillas negras o café oscuro y perteneciente a la familia de las cucurbitáceas las cuales tienen un elevado contenido de agua a lo que debe su escaso valor calórico. Está constituida por componentes solubles como el potasio y el magnesio y su color rojo característico es debido al licopeno que también le aporta propiedades antioxidantes (Nayar & More, 1998). Su sabor característico y su aroma se deben principalmente a la combinación de compuestos volátiles y no volátiles los cuales cumplen una función muy importante con respecto a la calidad del fruto (Hinojosa, 1983; Yajima et al., 1985).

Cuadro 2. Composición Química de la Sandía (North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services - Food and Drug Protection Division, 2014).

NURIENTES	UNIDADES	VALOR POR 100 g
Agua	g	91.51
Energía	Kcal	32
Proteína	g	0.62
Grasas Totales	g	0.43
Carbohidratos	g	7.18
Fibra Dietética	g	0.5
Cenizas	g	0.26
MINERALES	-	-
Calcio	mg	8.0
Hierro	mg	0.17
Magnesio	mg	11.0
Fósforo	mg	9.0
Potasio	mg	116
Sodio	mg	2.0
Zinc	mg	0.07
Cobre	mg	0.032
Manganeso	mg	0.037
Selenio	µg	0.1
Vitaminas	-	-
Vitamina C	mg	9.6
Tiamina	mg	0.08
Riboflavina	mg	0.02
Niacina	mg	0.2
Ácido Pantoténico	mg	0.212
Vitamina B-6	mg	0.144
Vitamina B-12	µg	0.0
Vitamina A	IU	366
Vitamina E	µg	0.150
Ácido Fólico	µg	2.0

El jugo de sandía es el líquido sin fermentar, pero fermentable, obtenido de la parte comestible del fruto en buen estado debidamente maduro y fresco. Desde el punto de vista fisicoquímico puede ser considerado como una solución acuosa con componentes no solubles que se encuentran en suspensión (CODEX Alimentarius). El sabor del jugo de sandía es principalmente dulce. Entre los azúcares más importantes presentes en el jugo se encuentran la sacarosa, glucosa y fructuosa aunque también existen ácidos

predominantes como el ácido málico, cítrico, citro-málico, oxálico y ascórbico (García & Mirafuentes, 1993; Valdiviezo Macías, 2010).

1.2.2 Parámetros físicos y fisicoquímicos

1.2.2.1 Color

El color se percibe cuando la luz se refleja en la superficie del producto y llega a la retina del ojo; la percepción del color depende de tres factores: intensidad de la luz, características del fruto y la capacidad de percepción de cada persona. El color en los alimentos influye directamente en la calidad de los mismos, ya que siendo una característica organoléptica es el primer estímulo hacia el consumidor. Es por esta razón por la que existen diferentes métodos para la evaluación del color aplicada en el laboratorio, entre las cuales destaca la escala de Hunter, la cual se divide en tres zonas.

- ✚ Primera. Escala de luminosidad, va del blanco al negro con escalas de 0 a 100 y se representa por la letra L.
- ✚ Segunda. Variabilidad de rojo a verde y es representada por la letra a.
- ✚ Tercera. Variación del amarillo al azul y se denota con la letra b.

El color característico en la sandía depende de los pigmentos presentes en ella (licopeno, β -caroteno y xantofilas) y de los cambios a los que se someta durante su procesamiento. La pérdida del color en el jugo de sandía se debe a la degradación del licopeno, caroteno responsable de su color rojo característico; la degradación de carotenos puede llevarse a cabo por la acción del oxígeno, presencia de luz, tratamientos térmicos y presencia de ácidos. El color es un parámetro muy importante en la industria alimenticia debido a que es un factor determinante para que un consumidor acepte o rechace un producto.

Por lo tanto el color debe tomarse como un parámetro de calidad muy riguroso cuando se trata de un tratamiento térmico para poder cuantificar la degradación durante dicho procesamiento (Sharma et al., 2008). Los tratamientos térmicos afectan

considerablemente el cambio de color en los jugos de frutas, por eso es necesario realizar un tratamiento de escaldado, previo a su extracción para reducir la actividad enzimática.

1.2.2.2 Turbidez

La presencia de materias diversas en suspensión y otros organismos microscópicos dan lugar a la turbidez en un líquido. Estas partículas pueden ser de dimensiones variables, van desde los 10 nm hasta los 0.1 mm.

Los sólidos del jugo, están formados, fundamentalmente por los azúcares reductores y no reductores. Los principales azúcares en los jugos son la sacarosa, la glucosa y la fructosa. De acuerdo al porcentaje de sólidos que contenga el jugo, este se puede clasificar en tres:

- ✚ Jugo pulposo. Contiene más de 10 % de sólidos insolubles en suspensión.
- ✚ Jugo turbio. Menos de 10% de sólidos insoluble en suspensión.
- ✚ Jugo clarificado. Turbidez inferior a 5 NTU (Unidades Nefelométricas de Turbidez).

1.2.2.3 pH

El concepto de pH (potencial hidrógeno) deriva de la necesidad de cuantificar la acidez y la alcalinidad. La acidez es una propiedad que se detectó por el sabor agrio de las sustancias naturales, mientras que la alcalinidad se apreció por la sensación jabonosa de algunas sustancias al tacto. Para medir esta propiedad se creó una escala basada en la concentración de iones hidronio (H_3O^+) en una solución. En el agua pura estas concentraciones son exactamente iguales, se le considera neutro y es un pH igual a 7 (Barba, 1991). Mani López (2003) registró un promedio de 5.37 ± 0.15 para los valores de pH del jugo de sandía natural y en un estudio de conservación de sandía mínimamente procesada, los valores de pH iban de 5.12 a 5.6.

1.2.2.4 Acidez titulable

La acidez titulable viene determinada por la cantidad de ácidos orgánicos presentes en el fruto, estos van disminuyendo durante la maduración ya que algunos de ellos son utilizados durante dicho proceso. El porcentaje de acidez está relacionado con el sabor y así mismo con la percepción organoléptica. El porcentaje de acidez en jugos de sandía es, en promedio de 0.09 ± 0.01 (Mani López, 2003).

1.2.2.5 Sólidos solubles

Los sólidos solubles totales son todos los sólidos disueltos en un medio acuoso, éstos incluyen sales entre otros aunque en su mayoría son azúcares las cuales se miden en grados Brix ($^{\circ}$ Brix). Un grado Brix se define como la densidad que tiene una solución de sacarosa al 1% lo que corresponde a un índice de refracción (Primo, 1997). Un jugo natural de sandía tiene valores promedio de 8.10 ± 0.63 $^{\circ}$ Brix (Mani López, 2003).

1.2.3 Parámetros químicos

1.2.3.1 Licopeno

Los carotenoides se encuentran situados en las membranas de los cloroplastos y cromoplastos. El color se debe a la clorofila en tejidos fotosintéticos, pero en periodos posteriores del desarrollo de la planta estos pigmentos proporcionan el color de las flores, frutos y algunas raíces como la zanahoria. Los carotenoides se absorben a través de la dieta y a menudo se metabolizan en otros compuestos. Son los responsables de los colores familiares de los algunos animales, como la langosta, flamencos y pescados como el salmón (Bartley & Scolnik, 1995).

Los carotenoides han estado recibiendo atención debido a sus beneficios para la salud, ya que todos muestran actividad de provitamina A la cual se relaciona con sus propiedades antioxidantes. Por otra parte, los carotenoides son responsable de los diferentes colores

en frutas y verduras. La intensidad de color se considera un indicador fiable de mayor valor nutritivo. Como se ha indicado por Marx et al. (2003) los tratamientos térmicos promueven isomerización de los carotenoides, lo que lleva a la degradación de sus funciones fisiológicas y la consiguiente modificación del color en los productos.

El licopeno es un carotenoide con propiedades antioxidantes que aporta la coloración roja al jugo de sandía. Se han usado dos principales sistemas para clasificar los carotenoides: en carotenos y xantofilas por su estructura química y en carotenoides por su funcionalidad. Gracias a sus propiedades estos compuestos pueden ayudar a prevenir enfermedades degenerativas tales como cáncer y la arterosclerosis ya que protege a las células contra el daño oxidativo (Vasconcellos, 2002).

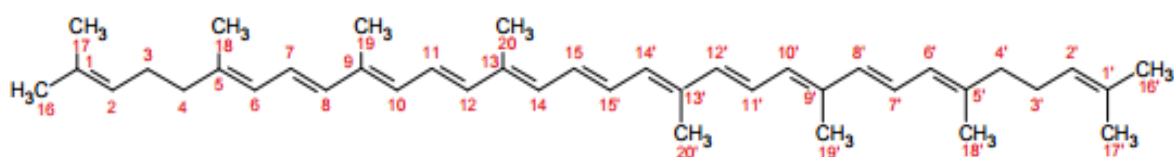


Figura 2. Estructura del trans-licopeno (Bramley, 2002).

La fórmula molecular condensada del trans-licopeno (mostrada en la figura anterior) es $C_{40}H_{56}$. El licopeno es un polímero a cíclico de cadena abierta con 13 dobles enlaces, 11 de esos dobles enlaces se conjugan en un arreglo lineal lo cual hace al licopeno más extenso entre los carotenoides (Xianquan, 2005).

1.2.3.2 Fenoles

Los compuestos fenólicos comprenden un grupo diverso de moléculas clasificadas como metabolitos secundarios en las plantas los cuales tienen una amplia gama de estructuras y funciones (Haminiuk et al., 2012). Los compuestos fenólicos se pueden encontrar en vegetales y plantas. Estos compuestos tienen diferentes estructuras, principalmente como ésteres y tienen diferentes propiedades funcionales (como lo es su capacidad

antioxidante). Estos compuestos pueden prevenir el peligroso daño causado por los radicales libres (Goncalves et al., 2010).

Los fenoles y los alcoholes presentan el mismo grupo funcional OH y algunas de sus propiedades son similares, por ejemplo los fenoles se comportan también como ácidos pero más fuertes que los alcoholes. En los fenoles el enlace C - OH es muy difícil de romper y por eso no se comportan como base. Esto se debe a que el grupo OH está unido directamente a un anillo aromático de benceno (Acuña, 2006).

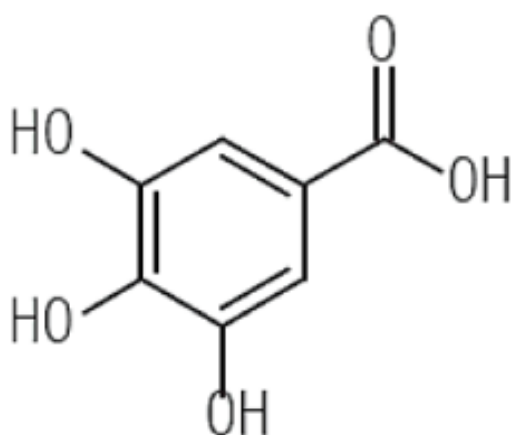


Figura 3. Estructura del Ácido Gálico (Forero et al., 2012).

Según un artículo basado en la dieta mediterránea publicado en 2003 (Zapata et al., 2003) el contenido de fenoles totales se puede correlacionar positivamente con la actividad antioxidante total de los compuestos hidrosolubles contenidos en frutos, lo que indica que los compuestos fenólicos pueden ser responsables en gran medida de las propiedades antioxidantes que presenta la sandía. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe sobre todo a las propiedades de óxido - reducción (redox) ya que retrasan la degradación oxidativa de los lípidos y por tanto mejoran la calidad y el valor nutricional de los alimentos. Estos compuestos se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa y son en gran medida responsables de las

propiedades del color, el sabor astringente y el aroma de la sandía debido a que en su composición forma parte un grupo hidroxilo OH - aromático.

1.2.3.3 Ácido Ascórbico

El ácido ascórbico, también conocido como vitamina C es un compuesto hidrosoluble que se puede encontrar en frutas y vegetales. Es un antioxidante y captador de radicales libres, esencial para mantener el buen funcionamiento del organismo (Lee & Kader; 2000, Shyla & Nagendrappa; 2013). Por otra parte, el organismo no puede sintetizar este ácido por sí mismo, se obtiene por medio de la alimentación y su consumo, también evita contraer alguna enfermedad degenerativa (Smirnoff, 2000).

Es una de las vitaminas más inestables y es muy sensible a diversas formas de degradación. El ácido ascórbico es sensible particularmente a las reacciones de oxidación atmosférica, pH, la luz, presencia de enzimas destruyéndose con gran facilidad durante el procesado de los alimentos en presencia de oxígeno y tratados térmicamente (Shyla & Nagendrappa, 2013). El ácido ascórbico es fácilmente oxidable y su retención en jugos procesados se usa como índice de la efectividad del tratamiento térmico. Cuando se encuentra en soluciones acuosas o en alimentos se puede degradar fácilmente y su estabilidad está relacionada con las condiciones de almacenamiento (condiciones adversas de manipulación, un prolongado tiempo de almacenamiento, altas y bajas temperaturas, humedad relativa baja y daño mecánico) (Barrett et al., 2010).

Algunos investigadores han propuesto usar su contenido residual en los alimentos como un índice de retención de nutrimentos ya que se considera que si resiste el procesamiento y el almacenamiento indica que todos los demás nutrimentos se verán poco afectados. Las estructuras de enediol son poco estables y presentan una reactividad alta. Como ruta principal de degradación el ácido ascórbico se oxida a ácido dehidroascórbico en una reacción reversible, estableciendo un sistema de oxidación-reducción. A su vez, el ácido dehidroascórbico se sigue oxidando y se transforma en ácido 2,3-dicetogulónico que no tiene actividad biológica (Liao & Seib, 1987).

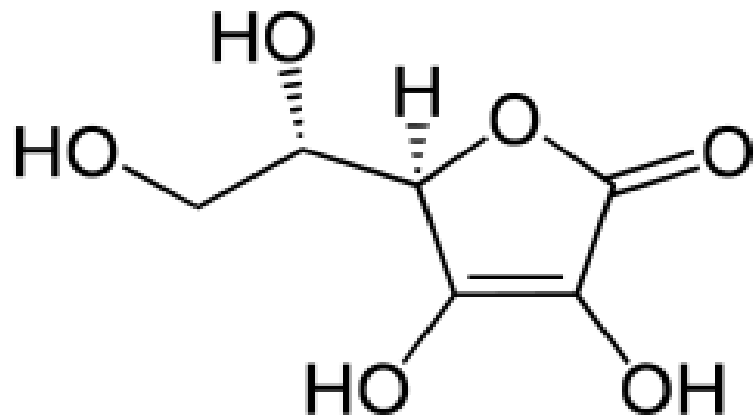


Figura 4. Estructura del ácido ascórbico (Shyla & Nagendrappa, 2013).

Según sean las condiciones del sistema y por medio de una degradación de Strecker el ácido 2,3-dicetogulónico se cicla y produce anhidrocarbónico y furfural, este último se polimeriza y forma las melanoidinas, de manera semejante a las que ocasionan el oscurecimiento no enzimático. En su destrucción el ácido ascórbico provee algunos grupos carbonilos para que continúe la reacción. En esta serie de transformaciones también se generan diversos compuestos, algunos de bajo peso molecular los cuales contribuyen al olor característico de los alimentos que han sufrido esta modificación.

Este mecanismo se complica considerablemente si hay azúcares reductores y aminoácidos que favorecen diversas rutas de degradación. La pérdida del ácido ascórbico además de las consecuencias nutricionales, también lleva consigo (sobre todo en frutas cítricas y sus derivados) la generación de olores indeseables y de oscurecimiento (Liao & Seib, 1987). Esta oxidación está en función de muchas variables, principalmente la temperatura, el pH, la disponibilidad de oxígeno, los metales de transición y las radiaciones electromagnéticas.

Además también influyen los azúcares reductores, algunas sales, la actividad acuosa, los peróxidos, ciertas enzimas y la presencia de otras vitaminas (sobre todo de la riboflavina). El ácido ascórbico es más estable a pH ácidos y en actividades acuosas bajas; en ausencia de oxígeno resiste temperaturas de esterilización, aunque se llega a destruir térmicamente

por vía no oxidativa de poca importancia que alcanza su máximo a pH 4 (Davies, Austin & Partridge, 1991).

1.3 Actividad Enzimática

Las enzimas son catalizadores de sistemas biológicos (aumentan la velocidad de reacción para alcanzar el equilibrio) son moléculas de gran interés que determinan la pauta de las transformaciones químicas que también intervienen en la transformación de una forma de energía a otra. Las características más sobresalientes de las enzimas son su poder catalítico y su especificidad. La catálisis tiene lugar en un centro específico del enzima, llamado centro activo ya que casi todas las enzimas son proteínas. Las proteínas son una clase de macromoléculas muy eficaces en catalizar una gran diversidad de reacciones químicas debido a su capacidad para unirse específicamente a un gran número de moléculas (Berg et al., 2008).

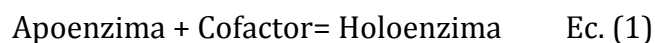
El mecanismo por el cual las enzimas incrementan la velocidad de la reacción es reduciendo la energía libre de activación requerida para la transformar un sustrato al producto correspondiente sin afectar la constante de equilibrio (Cedillo Jiménez & Hernández López, 2010). Todas las células incluyendo microorganismos y organismos superiores producen enzimas. Su acción está estrechamente ligada con las reacciones metabólicas y la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas a las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían si no estuvieran presentes las enzimas (Quirasco & Lopez-Munguia, 2006).

La aceptación del jugo de sandía alrededor del mundo ha aumentado debido a sus propiedades sensoriales, físicas y nutricionales que éste posee. Sin embargo también tiene muchos cambios indeseables en el color rojo, cambios en viscosidad y sabor y estos son catalizados por enzimas presentes en el jugo de sandía como la Peroxidasa (POD), Lipoxigenasa (LOX), Pectinmetilesterasa (PME) y Poligalacturonasa (PG) (Aguiló-Aguayo et al., 2010). Al reducir la actividad de la POD en el jugo de sandía se evita en gran medida el deterioro del color, cambios indeseables en sabor y menos pérdida de nutrientes

(Robinson, 1991). Por otra parte disminuyendo la acción de la PME puede limitarse la degradación de las sustancias pépticas presentes en el jugo. Por lo tanto las pérdidas concomitantes en la viscosidad y estabilidad podrían ser disminuidas (Kimball, 1991; Rodrigo et al., 2006). Comúnmente la reducción de actividad deteriorante de las enzimas, así como la inactivación de los microorganismos se pueden lograr con la aplicación de tratamientos térmicos convencionales como la pasteurización (Aguiló-Aguayo et al., 2010).

Las enzimas son catalizadores proteicos y poseen la capacidad de inducir una reacción química determinada. Una unidad de actividad enzimática (U) se define como la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1 μmol de sustrato en un minuto. La actividad específica es el número de unidades de enzima por miligramo de proteína (U/mg proteína) o por mililitro de disolución (U/mL) (Wong et al., 2003).

La actividad catalítica de muchas enzimas depende de pequeñas moléculas llamadas cofactores aunque su papel concreto varía con el cofactor y la enzima. Generalmente estos cofactores son capaces de llevar a cabo reacciones químicas que no pueden realizarse por el conjunto de los veinte aminoácidos diferentes existentes en las enzimas. Así una enzima sin su cofactor se denomina apoenzima, la enzima completa activa catalíticamente se llama holoenzima (Berg et al., 2008)



Los cofactores se dividen en dos grupos: metales y moléculas orgánicas pequeñas que con frecuencia son derivados de las vitaminas y pueden estar unidos a la enzima fuerte o débilmente (Berg et al., 2008).

1.3.1 Pectinmetilesterasa (PME)

La enzima pectinmetilesterasa (PME) (E.C. 3.1.1.11) se encuentran en gran variedad de plantas las cuales presentan una gran actividad de la enzima. Estas pueden ser identificadas en muchas plantas y frutos como por ejemplo la manzana, plátano, cerezas, cítricos (lima, naranja y mandarina), sandía, mango, papaya, pera, zanahoria, coliflor, pepino, cebolla, papa y jitomate (Wong et al., 2003). La PME se puede encontrar en varios tejidos y están principalmente asociadas por interacciones iónicas con las proteínas de la pared celular.

A parte de la presencia de muchos genes que codifican a las pectinmetilesterasas, estas enzimas se han detectado por su actividad en varias plantas lo que confirma su amplia distribución. Han sido identificadas en muchas frutas y vegetales. Dentro de cada especie se pueden mostrar múltiples formas de PME, en general se encuentran básicas, neutro y ácidos y difieren en varias propiedades bioquímicas como la masa molecular relativa y el pH óptimo. Su función exacta no se conoce pero puesto que son capaces de ser pectina esterificada y a menudo están presentes en la pared celular, está claro que están involucradas en la modificación de la pectina (Wong et al., 2003).

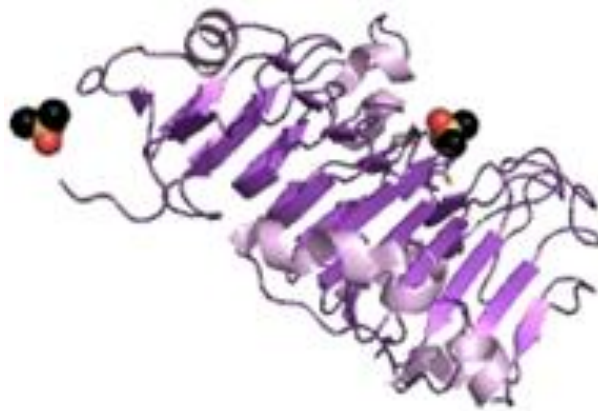


Figura 5. Estructura tridimensional de la enzima PME (Johansson et al., 2002).

1.3.1.1 Mecanismos de acción

Durante el crecimiento, la maduración y el almacenamiento de vegetales la textura cambia y se produce un reblandecimiento. Durante la maduración de los frutos, las pectinas son degradadas lo cual contribuye a cambios en textura como el ablandamiento y la liberación de jugo. Esta degradación ocurre por la acción de la enzima PME que desesterifica las pectinas y cataliza la desmetilación de las mismas, removiendo pequeñas ramificaciones de las cadenas pectídicas, altera la solubilidad de este y se vuelve sensible al ataque de las pectinasas endógenas como la poligalacturonasa (PG) que hidroliza el enlace de las pectinas y libera ácido galacturónico (Awad & Young, 1980).

La degradación de pectina es causada por la acción combinada de PME y PG en la fruta, pero ya que la actividad PG parece estar limitada por algunas restricciones químicas o físicas a pesar de estar presente en gran abundancia, la degradación de pectina es limitada. Durante la fermentación de las frutas, la acción de la PME es responsable de la liberación de metanol para mantener sus niveles por debajo de los límites permisibles por lo cual las pulpas de frutas tienen que ser pasteurizadas antes de la fermentación (Wong et al., 2003).

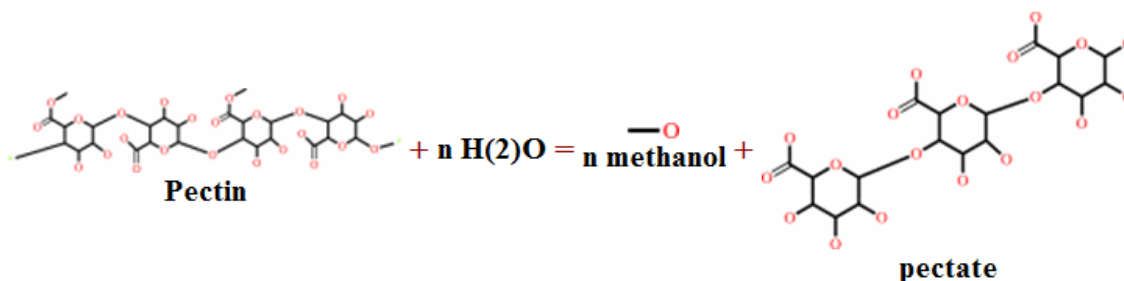


Figura 6. Mecanismo de acción de la PME (Wong et al., 2003).

La pectinmetilesterasa remueve los grupos metoxilo de las sustancias pépticas metiladas como la pectina, que es un coloide reversible de tipo liofílico, se le considera como una larga cadena de moléculas de ácido poligalacturónico con grupos carboxilo parcialmente

esterificados por alcohol metílico de modo que la PME pertenece a la subdivisión de enzimas que hidrolizan esteres de ácido carboxílico. Se le conoce también como pectasa, pectinmetoxilasa, pectindemetoxilasa, pectolipasa y pectinmetilesterasa (PME) (Wong, 2003).

Se ha encontrado que la enzima actúa sobre la pectina de manera continua a un pH cercano a 7.5, liberándose un protón cuando se hidroliza el enlace éster. Se cree que la PME ataca a la pectina en la posición adyacente a un grupo carboxilo libre, si se considera que en la pectina únicamente el 65-75% de los grupos carboxilo están esterificados existe una serie de puntos a lo largo de la cadena en los cuales la enzima puede empezar a remover los grupos metoxilo. El ácido poligalacturónico totalmente metilado no es adecuado para que actúe la pectinmetilesterasa pues requiere de grupos carboxilo libre para iniciar el ataque (Wong, 2003).

1.3.2 Peroxidasa (POD)

La POD (E.C. 1.11.1.7) es una enzima que se puede encontrar en vegetales y frutos, al inactivar esta enzima se puede aumentar la vida útil durante el almacenamiento en frío. También se encuentra presente en animales, plantas y microorganismos. En los vegetales, la POD está localizada en su forma soluble en el citoplasma de las células y de forma insoluble en la pared celular de la misma (Morales-Blancas et al., 2002).

Pertenece al grupo de oxidoreductasas las cuales descomponen peróxido de hidrógeno en presencia de un donador de hidrógeno es una de las enzimas que controlan el crecimiento fisiológico de las plantas, su diferenciación y desarrollo. Es bien conocido, que esta enzima participa en la construcción y lignificación de la pared celular, la biosíntesis de etileno a partir del ácido 1- aminociclopropanocarboxílico y peróxido de hidrógeno (H₂O₂), la regulación de niveles de auxina, la protección contra el deterioro de tejidos e infección por microorganismos patógenos y la oxidación de ácido indolacético (Sharma et al., 2001).

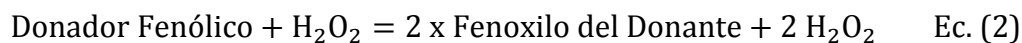
El término peroxidasa se refiere a una enzima que cataliza la oxido-reducción entre peróxido de hidrógeno y una gran variedad de donadores de hidrógeno como fenoles, aminas aromáticas y otros. Estas enzimas utilizan varios peróxidos (R-O-OH) como aceptores de electrones para catalizar dicha reacción de oxidación (Fleischmann et al., 2004).



Figura 7. Estructura tridimensional de la enzima POD (Kunishima et al., 1994).

1.3.2.1 Mecanismo de acción

La peroxidasa cataliza cuatro tipos de reacción: (a) Peroxidativas (b) Oxidativas (c) Catalíticas y (d) de hidroxilación. La ecuación global del mecanismo de reacción se presenta en la ecuación 3 (Selvara & Kumar, 1989). Una gran variedad de compuestos pueden actuar como donadores de hidrógeno incluyendo fenoles (p-cresol, guayacol, resorcinol) aminas aromáticas (anilina, bencidina, o-fenildiamina, o-dianisedina) nicotinamida-adenina dinucleotida reducida y nicotinamida-adenina dinucleotida fosfato reducida. La reacción oxidativa de POD puede tener lugar en ausencia de peróxido de hidrógeno. Se requiere de O_2 y cofactores como Mn^{2+} y un fenol (Thomson, 1993). Existe un mecanismo de reacción propuesto por la EBI:



1.3.3 Métodos de Inhibición

Investigaciones realizadas en frutas han establecido que un proceso muy efectivo para la inhibición de la actividad enzimática (PME y POD) es la pasteurización (Polydera et al., 2004) Este es un procedimiento relativamente suave, que contribuye con el aumento de la vida útil del alimento sobre el que se aplica, siempre que se mantenga posteriormente refrigerado o se complemente con otros métodos de conservación (Lewis & Heppell, 2000). La cinética de inactivación o inhibición de las enzimas puede ser determinada usando ya sea procedimientos en estado estacionario o en estado no estacionario. El procedimiento en estado estacionario sigue siendo un enfoque sencillo para el estudio para la cinética de inactivación térmica o por presión (Withaker, 2003).

Otra posibilidad es la adición de endopoligalacturonasa (Inhibición de PME) que descompone la pectina antes de que pueda coagular con calcio (Wong et al., 2003). La inactivación de la POD puede ser por métodos químicos que actúan con la enzima misma o con uno de los sustratos o productos de reacción tales como cianuro, sulfuro, óxido nítrico, hidroxilamina, DIECA, metabisulfito de sodio entre otros. Los inhibidores más utilizados en la práctica industrial son SO₂ y sulfitos los cuales previenen la pérdida de sabor pero solo reducen parcialmente la regeneración de la enzima (Cano et al., 1997).

1.3.4 Efectos por tratamiento térmico

Como sucede con cualquier otra reacción química, la velocidad de las reacciones enzimáticas se incrementa con la temperatura, al aumentar la energía cinética de las moléculas pero sólo en el intervalo en que la enzima es estable y retiene su capacidad catalítica, en casos extremos cuando el incremento es muy grande se favorece la desnaturalización y consecuentemente la proteína pierde su capacidad catalítica (Badui, 2006).

La PME y POD juegan un papel importante en el procesamiento de vegetales. El problema se puede superar por la inhibición con calor de dichas enzimas, pero se puede perjudicar el sabor o perjudicar todas las propiedades sensoriales de la fruta. Los jugos de tomate, naranja, limón, toronja deben su viscosidad y turbidez a las pectinas en suspensión que se liberan de sus tejidos en el proceso de extracción. La acción de las pectinasas causa la hidrólisis, la desesterificación y la desestabilización de los coloides, provocando su precipitación y la consecuente pérdida de sus características. El consumidor no acepta estos jugos sin su correspondiente turbidez, por lo tanto durante su manufactura es necesaria la inactivación enzimática endógena con tratamientos térmicos que dependen de pH (Badui, 2006).

Por este motivo la pasteurización es un proceso térmico que se ha diseñado para la eliminación de ciertas enzimas o microorganismos. En este sentido, se ha encontrado que la inactivación de la peroxidasa puede indicar un factor determinante de calidad en los procesos térmicos que como ya se ha explicado anteriormente, se utiliza para inactivar enzimas que causan el oscurecimiento de tejidos vegetales. Si la peroxidasa se inactiva totalmente, eso indicaría un tratamiento excesivo que repercutiría en detrimento de la textura del vegetal y/o calidad de jugos. El tratamiento adecuado sería tal que se conservara del 5 al 10% de la actividad presente originalmente (Badui, 2006).

1.3.5 Métodos de cuantificación

Existen métodos espectrofotométricos basados en la formación de compuestos coloreados que ocurren durante la reacción con el hidrógeno y el sustrato donador. También puede ser estimada por el método de densitometría visual o por la actividad residual después de un tratamiento por calentamiento así como por la composición de las isoenzimas (Sakharov et al., 1999; Sharma et al., 2001). La potencialidad o actividad de una enzima no puede medirse en términos de su concentración ya que puede estar presente pero en forma desnaturalizada y sin funcionalidad, por esta razón se emplea la Unidad de Actividad Enzimática (U) definida anteriormente.

1.3.6 Actividad residual relativa

Según Kim (2014) la actividad enzimática puede ser medida antes y después de que a un alimento se le aplique un tratamiento, esto con la finalidad de poder conocer en qué medida se ha podido reducir dicha actividad enzimática, a lo cual se le conoce como actividad residual relativa (ARR). Por lo tanto, se define como la relación entre la actividad de la enzima después del tratamiento con la actividad que tenía antes del mismo (Maca et al., 2013). Entonces la actividad residual relativa puede ser calculada con la siguiente ecuación:

$$ARR (\%) = \frac{A_t}{A_0} * 100 \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde A_t es la actividad enzimática de la muestra después del tratamiento y A_0 es la actividad enzimática de la muestra sin tratamiento o muestra control. La actividad residual relativa y la concentración de proteína poseen una relación directamente proporcional ya que de la cantidad de proteína activa (enzima activa) depende el porcentaje de actividad residual resultante. La desnaturalización de enzimas por calor suele a menudo ser irreversible debido a la ruptura de enlaces covalentes y/o la agregación de proteínas desdobladas (Ly-Nguyen et al., 2003; Puppo et al., 2004). Diversos autores coinciden en que el porcentaje de actividad residual relativa (ARR) de la enzima para jugos tratados térmicamente debe ser de un 10% para disminuir el riesgo de alterar las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y nutritivas del producto (Carbonell et al., 2005; Ingallinera et al., 2005; Osorio et al.; 2008; Sentandreu et al., 2005; Torres et al., 2008).

1.4 Nanotecnología

1.4.1 Definición

La nanotecnología de los alimentos está ganando rápidamente la atención en la ciencia de los alimentos y sus aplicaciones industriales. Aspectos relacionados con la legislación, la

aceptación general por los consumidores así como el desarrollo de métodos de fabricación para producir nano-alimentos competitivos representan un cambio que tiene que ser enmarcada dentro de un alcance multi e interdisciplinario (Hernández-Sánchez & Gutiérrez-López, 2015).

La nanotecnología es generalmente definida como el diseño, producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control del tamaño y la forma de un material a una escala de 10^{-9} . Las propiedades físicas, químicas y biológicas de las estructuras y sistemas a nano escala son sustancialmente diferentes a sus homólogos a macro escala debido a las interacciones de moléculas individuales y átomos ofreciendo así aplicaciones únicas y novedosas. (Neethirajan & Jayas, 2011).

1.4.2 Nanocápsulas

Desde el punto de vista químico-biológico, se denomina partícula a un sólido coloidal, formado de materiales aceptados como seguros en los que una sustancia de interés “activo” puede ser incorporada, absorbida o unida químicamente con un tamaño que oscila entre los 10 y los 100 nm. El término es utilizado para definir tanto nanoesferas como nanocápsulas (Quintanar-Guerrero et al., 1998). Las nanoesferas están formadas por una matriz polimérica densa, mientras que las nanocápsulas están compuestas de un líquido, por lo general oleoso rodeado por una membrana polimérica (Quintanar-Guerrero et al., 1996).

Los nanomateriales para la alimentación y las aplicaciones en bioprocesos pueden ser productos de la ingeniería de plantas o de microbios y a través de la transformación de materiales de desecho. El sistema de nanoencapsulación en alimentos ofrece numerosos beneficios incluyendo la fácil manipulación, mayor estabilidad, protección contra la oxidación, retención de componentes volátiles, el enmascaramiento del sabor, liberación controlada activada por la humedad, liberación controlada activada por el pH, entrega consecutiva de múltiples ingredientes activos, cambios en las características del sabor,

mayor percepción organoléptica y una mayor disponibilidad y eficacia (Neethirajan & Jayas, 2011).

Los sistemas de encapsulación de alimentos son elaborados con matrices de bases lipídicas que pueden ser consideradas como buenas opciones para la incorporación de una molécula bioactiva, especialmente cuando tales moléculas son hidrofóbicas. Entre los sistemas de encapsulación coloidales que pueden ser producidos usando matrices lipídicas, aptas para su incorporación en los alimentos se encuentran las emulsiones (macro, micro y nano), micelas, perlas de hidrogel, complejos moleculares, liposomas y partículas lipídicas (de La Torre & de Pinho, 2015).

1.4.2.1 Métodos de preparación

En general hay seis métodos clásicos para la formación de nanocápsulas: nanoprecipitación, emulsificación-difusión, doble emulsión, emulsión-coacervación, recubrimiento por polímero y capa por capa. También se han utilizado otros como emulsión-evaporación y metodologías para la preparación de liposomas de polímero (Mora-Huertas et al., 2010) y se describen a continuación:

- ✚ *Nanoprecipitación*: el método de precipitación también se denomina desplazamiento del disolvente o deposición interfacial. De acuerdo con Fessi et al. (1998), la síntesis de nanocápsulas necesita fases tanto de disolvente y no disolvente. La fase de disolvente o una mezcla de disolventes, de un polímero, la sustancia activa, el aceite y un tensoactivo lipofílico. Esta solución es invertida o inyectada en una solución acuosa que puede o no contener un estabilizante y se agita moderadamente, el disolvente se difunde inmediatamente en el agua permitiendo la agregación del polímero en forma de nanocápsulas.
- ✚ *Emulsificación-difusión*: permite la nanoencapsulación de sustancias activas tanto lipofílicas e hidrofílicas. Este método se puede considerar como una modificación del proceso de “salting-out”, pero sin el uso de sales, lo que evita los subsecuentes pasos

de purificación, así como los problemas relacionados con la compatibilidad entre los “activos” y los electrolitos empelados. La originalidad el método de emulsificación-difusión, consiste en el uso de disolventes parcialmente miscibles en agua, generalmente aceptados para uso farmacéutico y alimenticio. El procedimiento requiere de tres fases; orgánica, acuosa y dilución, empleando un disolvente parcialmente soluble en agua en el que se disuelve el agente activo generalmente oleoso y en la fase acuosa un surfactante. Específicamente la fase orgánica se hace primero y el aceite se disuelve en el disolvente orgánico, la fase acuosa contiene el emulsionante (Moinar-Chécot et al., 2008).

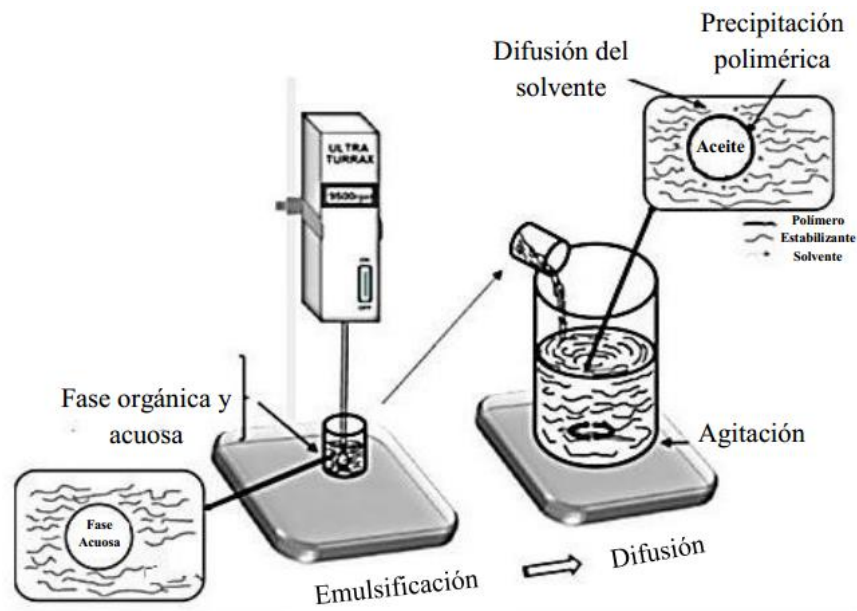


Figura 8. Esquema del método de emulsificación-difusión (Mora-Huertas et al., 2010).

De acuerdo con Quintanar Guerrero et al. (1998) la preparación de nanocápsulas por el método de emulsificación-difusión permite la nanoencapsulación de sustancias activas. El procedimiento experimental realizado para conseguir esto requiere de tres fases: orgánica, acuosa y dilución, es decir, el método consiste en dos fases empleando un disolvente parcialmente soluble en agua en el que se disuelve el agente activo generalmente oleoso y en la fase acuosa un surfactante. Específicamente la fase orgánica

se hace primero y el aceite se disuelve en el componente orgánico (previamente saturado con agua) y la fase acuosa (previamente saturada con disolvente orgánico que contiene el estabilizante). El tamaño de las nanocápsulas preparadas por este método es de aproximadamente 150-200 nm (Quintanar-Guerrero et al., 2005).

Cuando el objetivo es la nanoencapsulación de una sustancia activa lipofílica, la fase orgánica contiene el polímero, la sustancia activa, el aceite y un disolvente orgánico parcialmente miscible en agua que debe estar saturado. Este medio orgánico actúa como disolvente para los diferentes componentes de la fase orgánica. Si se requiere, la fase orgánica también puede incluir una sustancia activa disolvente o un aceite disolvente. La fase acuosa comprende la dispersión acuosa de un agente estabilizante que se prepara usando disolvente saturado con agua para asegurar el equilibrio termodinámico inicial de ambos líquidos mientras que la fase de dilución es normalmente agua (Pinto-Reis et al., 2006; Mora-Huertas et al., 2010).

Para la preparación de nanocápsulas utilizando este método, la fase orgánica se emulsiona con agitación vigorosa en la fase acuosa que contiene el estabilizador (Pinto-Reis et al.; 2006). La posterior adición de agua para el sistema que provoca la difusión del disolvente en la fase externa, resultando la formación de nanocápsulas. Esta puede ser eliminada por destilación o filtración de flujo transversal, en función del punto de ebullición del disolvente. Se ha mostrado que el tamaño de nanocápsulas está relacionado con la velocidad de cizallamiento utilizada en el proceso de emulsificación, la composición química de la fase orgánica, la concentración de polímero, la relación de polímero-aceite, y el tamaño de la emulsión primaria (Mora-Huertas et al.; 2010).

Esta técnica presenta varias ventajas, tales como la eficacia de la encapsulación altas (generalmente mayores a 70%), sin necesidad de homogeneización, la reproducibilidad alta de lote a lote, facilidad de ampliación, la sencillez y la distribución de tamaño estrecha. Las desventajas son los altos volúmenes de agua a ser eliminados de la suspensión y la filtración de la sustancia activa soluble en agua en la fase externa acuosa saturada durante

la emulsificación. Al igual que con algunas de las otras técnicas, este es eficiente en la encapsulación de ingredientes activos liófilos (Quintanar-Guerrero et al., 1998).

✚ *Doble emulsificación*: es un sistema heterodispersión complejo llamado “emulsiones de emulsiones”, que se pueden clasificar en dos tipos principales, emulsión agua-aceite-agua y emulsiones aceite-agua-aceite (Garti, 1997; Grigoriev & Miller, 2009). El principio de la formación de la doble emulsión, específicamente del tipo agua-aceite-agua se asocia con los principios tanto de nanoprecipitación y emulsificación-difusión. En la emulsión primaria agua-aceite el aceite se cambia por una fase orgánica que contiene un disolvente que es total o parcialmente miscible en agua, el polímero y el tensoactivo forman una película. El agua contiene un agente estabilizante y se añade al sistema para obtener la emulsión orgánica, en este paso, el endurecimiento de las partículas se obtiene a través de la difusión del disolvente y la precipitación del polímero (Bilati et al., 2005; Khoee & Yaghoobian, 2008).

✚ *Emulsificación-coacervación*: Esta técnica implica la emulsificación aceite-agua de una fase orgánica por una fase acuosa por agitación mecánica o ultrasonido y se lleva a cabo mediante el uso de cualquier electrolito, como lo describe a detalle Lertsutthiwong et al. (2008).

✚ *Recubrimiento por polímero*: Esta técnica se logra mediante la adsorción del polímero sobre nanocápsulas preformadas sin recubrimiento cuando este último se incubaba en dispersión del polímero bajo agitación y ciertas condiciones de tiempo (Calvo et al., 1997).

✚ *Capa por capa*: Es un proceso desarrollado por Sukhorukov et al. (1998) para la precipitación de partículas coloidales que permite obtener partículas vesiculares, llamadas cápsulas de polielectrolitos en hipersaturadas concentraciones de polielectrolitos a granel.

1.4.3 Encapsulación de Nutraceuticos

Un compuesto nutraceutico es un suplemento dietético, presentado en una matriz no alimenticia (píldoras, cápsulas, polvo, etc.), de una sustancia natural bioactiva concentrada presente usualmente en los alimentos y que, tomada en dosis superior a la existente en esos alimentos, tiene un efecto favorable sobre la salud, mayor que el que podría tener el alimento normal. El término “nutraceutico” fue utilizado, por primera vez, en 1989 por el doctor Stephen de Felice (Foundation for Innovation in Medicine, FIM) para referirse a aquel nutriente que posee beneficios para la salud más allá de sus valores nutricionales, tanto en la prevención como en el tratamiento de las enfermedades. Algunos autores identifican este término con el de alimento funcional, aunque hay un cierto consenso en identificar como nutraceutico el suplemento que aporta a la dieta una forma concentrada de un compuesto biológicamente activo, en un envase no alimentario (cápsula, ampolla, etc.). En contraposición, el alimento funcional sería un producto consumido como parte de una alimentación normal, y que contiene uno o más ingredientes activos incorporados en una matriz alimentaria. Así sucede con los tomates y la sandía, cuyo contenido en licopeno reduce el riesgo del cáncer de próstata, con muchos pescados, cuyo contenido en ácidos omega-3 reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, o con las frutas y verduras, cuyos flavonoides neutralizan los radicales libres oxidantes (Katan MB, 2003).

La encapsulación es un proceso utilizado para la preservación o protección de diferentes ingredientes comerciales, no solo alimenticios sino también farmacéuticos, químicos y cosméticos (Fuchs et al., 2006). El término nutraceutico proviene de “nutrición” y “farmaceutico”. Se define la nutraceutica como un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades. Se pueden encapsular moléculas no polares como lípidos, saborizantes, antimicrobianos, antioxidantes y vitaminas. Se han aplicado microemulsiones para la encapsulación de licopeno, luteína y ácidos grasos omega-3 y existe una patente para la encapsulación de alfa-tocoferol con el fin de reducir la oxidación de los lípidos en el aceite de pescado (AROMICS, 2008).

Existe una gran variedad de técnicas, aunque algunos autores los clasifican de manera general en métodos físicos o mecánicos y químicos. En los métodos mecánicos se encuentran el secado por atomización, la liofilización, el secado en lecho fluidizado y la extrusión; mientras que en los métodos químicos aparecen la coacervación compleja, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, co-cristalización y atrapamiento en liposomas (Pedroza Islas, 2002; Madene et al., 2006).

La industria alimentaria aplica la encapsulación por varias razones: para estabilizar el agente activo, para controlar la liberación del material encapsulado (velocidad y forma de liberación) y para separar componentes reactivos o incompatibles. Las microcápsulas permiten proteger componentes alimenticios sensibles, asegurarlos contra la pérdida nutricional, utilizar ingredientes sensibles, incorporar un mecanismo inusual del tiempo de liberación dentro de la formulación, enmascarar o preservar sabores y aromas y transformar líquidos en ingredientes sólidos de fácil manejo (Dsiezak, 1988).

Los procesos de encapsulación se han desarrollado como respuesta a la viabilidad de aquellos componentes activos presentes en muchos alimentos funcionales. Esta técnica consiste en la protección de dichos materiales cubriéndolos con un agente acarreador o encapsulante (Madene et al., 2006). La efectividad de los productos nutracéuticos o funcionales, la cual está relacionada con la prevención de enfermedades, depende del mantenimiento de la viabilidad de los ingredientes activos. La calidad de los encapsulados, es decir, su eficiencia en la protección y liberación controlada, depende de diversos factores, entre ellos, las condiciones de operación durante la producción (temperatura, pH, presión y humedad) y el manejo de estas partículas, así como la composición y estructura de los materiales utilizados (Fuchs et al., 2006).

Actualmente existe una amplia variedad de materiales encapsulantes y agentes activos. Se denominan agentes activos a aquellos compuestos e ingredientes que son protegidos mediante la encapsulación, entre los que se encuentran los nutracéuticos. De acuerdo a Lakkis (2016) los componentes o agentes encapsulantes se clasifican en diversas categorías:

- ✚ ceras y lípidos
- ✚ proteínas
- ✚ carbohidratos
- ✚ polímeros de grado alimenticio

Los carbohidratos son utilizados ampliamente en la encapsulación mediante el secado por atomización como soportes encapsulantes. Son excelentes candidatos en aplicaciones de encapsulación debido a que poseen muchos atributos, tales como: presentar baja viscosidad a altas concentraciones, formar parte integral de muchos sistemas alimenticios, tener un bajo costo, estar disponibles en un amplio intervalo de tamaños, además de tener buena solubilidad (Charalampopoulos et al., 2002).

Las maltodextrinas son un subgrupo importante de los carbohidratos, otros carbohidratos importantes son las gomas las cuales, generalmente, son insípidas, pero pueden llegar a tener un efecto en el sabor de los alimentos. Las proteínas tienen excelentes propiedades funcionales, tales como solubilidad, viscosidad y emulsificación. Tienen la propiedad de formar películas debido a sus diversos grupos químicos, sus propiedades anfóteras, su capacidad de asociación e interacción con diferentes tipos de sustancias (Madene et al., 2006).

Un agente acarreador especial son las ciclodextrinas las cuales son los únicos materiales que protegen al componente activo con base en la selectividad molecular. Generalmente, una molécula de agente activo, es incluida en una molécula de ciclodextrina, aunque para algunas moléculas con bajo peso molecular, más de una molécula del agente activo es adaptada a la cavidad de la ciclodextrina (Lakkis, 2016). Debido a la amplia gama de propiedades de los distintos agentes acarreadores en muchas ocasiones se ha utilizado una combinación de estos para obtener un efecto sinérgico. Shu et al. (2006) utilizaron gretina en combinación con sacarosa para encapsular licopeno y encontraron que los resultados fueron adecuados para una relación 3/7 gelatina/sacarosa.

Existe una gran variedad de materiales utilizados en la industria alimentaria para las diferentes técnicas de encapsulación. Sin embargo, también existe la necesidad de encontrar la mejor opción para lograr los resultados óptimos para cada caso en particular y con ello mantener las funciones de la gente activo y además obtener un encapsulado con alta homogeneidad y por lo tanto de alta calidad. Los materiales frecuentemente utilizados para encapsular son carbohidratos, lípidos, proteínas y algunos polímeros de grado alimenticio. Así también unos de los ingredientes comúnmente encapsulados son vitaminas, enzimas, aceites, microorganismos y algunos coadyuvantes del proceso. Entre las técnicas para determinar dicha calidad se tiene como herramienta la microscopía, además de técnicas específicas de acuerdo a cada agente activo. (Guevara Bretón & Jiménez Munguía, 2008)

1.4.3.1 α - tocoferol

Se conocen ocho compuestos de las familias de los tocoferoles y de los tocotrienoles, el α , β , γ y δ - tocoferol y el α , β , γ y δ - tocotrienol. El más activo es el α -tocoferol (100% de potencialidad) seguido del β (50%), el γ (5%) y el δ (1%). La palabra tocoferol proviene del griego *tokos* que significa descendencia y *pherin*, soportar o apoyar, el "ol" se le añade a la molécula para indicar que es un fenol.

El interés por la vitamina E (tocoferoles) ha aumentado en los últimos años debido a su potente poder antioxidante y a su papel frente a enfermedades relacionadas con la edad, trastornos cardiovasculares o alzheimer. Es considerado un compuesto fenólico liposoluble, cada tocoferol contiene un anillo de benceno y en su cadena contiene 16 carbonos. Dependiendo del número y posición de los grupos metilos en el anillo pueden existir α -, β -, γ -, δ - tocoferol (α - T, β - T, γ - T, δ - T) (Yang & Suh, 2012).

Sus estructuras se muestran en la Figura 9. El α -tocoferol está trimetilado en el 5, 7, y 8 de su posición del anillo, mientras que es metilado en la posición 7 y 8, el γ - tocoferol está metilado en la posición 8. La cola de hidrocarburo y el anillo facilita la lipofilia de los tocoferoles a ser incorporados en las bicapas lipídicas de membranas biológicas. El grupo

fenólico en el anillo extingue eficazmente los radicales libres de lípidos por una reducción de un electrón. El grupo radical fenoxi puede ser reducido por el ácido ascórbico o glutatión para regenerar el grupo fenólico. Este es probablemente el mecanismo más importante para brindar la acción antioxidante que protege la integridad de las membranas biológicas (Yang & Suh, 2012).

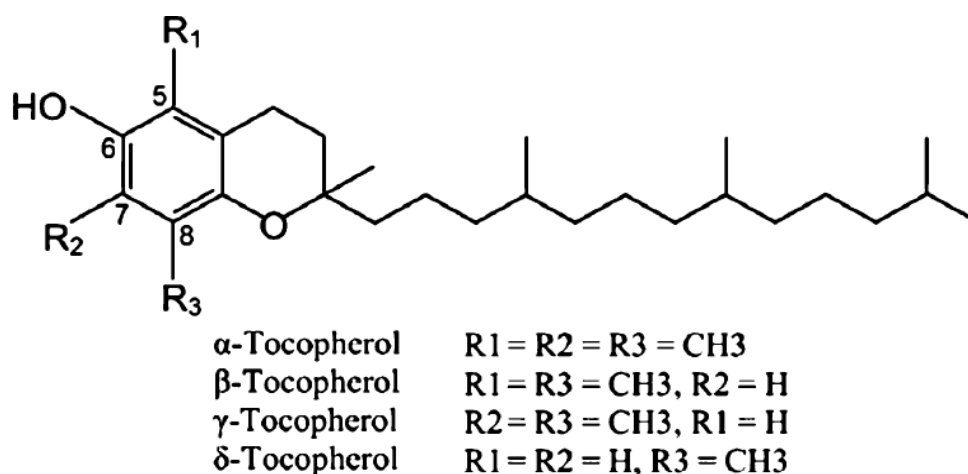


Figura 9. Estructura de los 4 diferentes tocoferoles (Yang & Suh, 2012).

La mayoría de los alimentos derivados de las plantas, especialmente vegetales, contienen bajos a moderados niveles de vitamina E pero debido a la abundancia de los alimentos de origen vegetal en nuestra dieta proporcionan una significativa fuente consistente de dicha vitamina (Jiyeon Chuña et al., 2006).

El α -tocoferol es un antioxidante obtenido por síntesis de fuentes ricas en tocoferol tales como el aceite de germen de trigo, girasol y de cártamo. Es la misma vitamina E (no natural) pero cuando se utiliza como aditivo no puede ser referido como suplemento alimenticio porque ya es descrito usando su código E-307 y es añadido no como vitamina sino por su poder antioxidante, al ser insoluble en agua solo se utiliza en alimentos grasos para prevenir la degradación oxidativa de los lípidos (Eitenmiller & Lee, 2004).

Se ha afirmado que el α -tocoferol es el más importante antioxidante soluble en lípidos, y que protege las membranas celulares de la oxidación por reacción con radicales lipídicos producidos en la reacción en cadena de peroxidación de lípidos. Esto eliminaría los intermediarios de los radicales libres y prevenir la reacción de oxidación (Jiyeon Chun et al., 2006).

CAPÍTULO 2 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo General

Establecer la influencia de las condiciones de operación en el proceso de pasteurización mediante pruebas físicas, fisicoquímicas, químicas y enzimáticas en jugo de sandía adicionado con nanocápsulas de α - tocoferol.

2.1.2 Objetivos Particulares

2.1.2.1 Objetivo Particular 1

Analizar los parámetros fisicoquímicos (pH, °Brix y acidez) en el jugo de sandía mediante potenciometría, refractometría y titulación volumétrica como parámetros de control por efecto de la pasteurización.

2.1.2.2 Objetivo Particular 2

Evaluar los cambios de color y turbidez en el proceso de pasteurización de jugo de sandía mediante colorimetría y turbidimetría para su asociación con la degradación de compuestos termolábiles.

Factor de Variación: Flujo Volumétrico.

Factor Respuesta: Índice de Color, ΔE , Turbidez.

2.1.2.3 Objetivo Particular 3

Evaluar el contenido de licopeno, ácido ascórbico y polifenoles totales en el jugo de sandía mediante pruebas espectrofotométricas para el establecimiento de la cinética de degradación térmica por efecto de la pasteurización.

Factor de Variación: Velocidad del Rotor

Factor Respuesta: Contenido de Compuestos Termolábiles

2.1.2.4 Objetivo Particular 4

Evaluar la actividad residual relativa de las enzimas pectinmetilesterasas (PME) y peroxidasas (POD) en jugo de sandía pasteurizado mediante pruebas espectrofotométricas para su correlación con la efectividad del proceso.

Factor de Variación: Presión del Vapor

Factor Respuesta: Actividad Residual Relativa de PME y POD

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Materiales

Poly- ϵ -caprolactona (PCL) fue obtenido de Sigma Aldrich® (EUA). El agente estabilizante utilizado fue Pluronic®, F-127 (BASF, México). El α -tocoferol (99%) de Sigma Aldrich® (EUA) fue utilizado como centro oleoso de las nanocápsulas. El disolvente parcialmente miscible en agua fue acetato de etilo (AE), grado HPLC de Fermont (México). Reactivo de Folin-Ciocalteu, Pectina cítrica (70 – 75 % de esterificación), Tritón X – 100, Polivinilpirrolidona, Guayacol, 2,6 diclorofenol – indofenol y ácido gálico fueron adquiridos de Sigma Aldrich®, EE.UU. Agua destilada fue de calidad Milli-Q (Millipore®, EUA, Bedfore, MD). Todos los demás reactivos fueron de grado analítico y se utilizaron sin purificación adicional.

2.2.2 Preparación de las Nanocápsulas de α - tocoferol

Las nanocápsulas de α - tocoferol fueron preparadas por el método de emulsificación - difusión (Quintanar - Guerrero et al., 1998). Brevemente, se saturó manualmente acetato de etilo y agua en un embudo de separación y se dejó reposar hasta alcanzar el equilibrio termodinámico entre ambas fases. En la fase acuosa saturada con acetato de etilo se solubilizó el poloxamero 407 (PCL) y en la fase orgánica saturada con agua se disolvió el biopolímero PCL se adicione el α - tocoferol procediéndose a preparar los sistemas submicrónicos de acuerdo a las condiciones optimizadas por Zambrano-Zaragoza et al. (2011) en un ultra agitador (Ultra-Turrax T50, IKA®, Staufen, Alemania con un elemento dispersor S25N-25 G, IKA®). Finalmente el exceso de disolvente fue eliminado mediante evaporación a 30 °C y vacío de 50 mm Hg (RV10, IKA® Labotechnik, Staufen, Alemania).

2.2.3 Tamaño de Partícula (TP) e Índice de Polidispersión (IPD)

La distribución del TP y del IPD del sistema coloidal fueron determinados mediante la técnica de dispersión de luz láser con un ángulo fijo de 273° y 25 °C usando un equipo Zetasizer 4® (Zetasizer Nano Series Malvern Ltd., UK). Con la finalidad de contar el número de partículas necesarias para la medición, las dispersiones fueron diluidas con agua Milli-Q®. Todas las mediciones se realizaron por triplicado obteniendo las distribuciones de tamaños de partículas con su correspondiente IPD.

2.2.4 Potencial Zeta (ζ)

El ζ de las dispersiones se determinó con un usando un equipo Zetasizer 4® (Zetasizer Nano Series Malvern Ltd., UK). Para este fin se utilizaron soluciones diluidas de las dispersiones en agua Milli Q® midiendo el ζ en la relación a su movilidad electroforética tomando como referencia dispersiones de poliestireno ($\zeta=-55$ mV). Las mediciones se realizaron por triplicado a 25 °C.

2.2.5 Elaboración del Jugo de Sandía

Se adquirieron 30 kg de sandía (*Citrullus Lanatus*) en la central de abastos de Cuautitlán, México; la sandía fue seleccionada de acuerdo a color, firmeza y madurez fisiológica. Posteriormente se llevó a cabo la extracción del jugo de sandía en un NutriBullet®. Para realizar el proceso de filtrado se hizo pasar por una malla de acero inoxidable de 100 micras y finalmente se adicionaron las nanocápsulas de α -tocoferol a una concentración de 200 $\mu\text{g/mL}$.

2.2.6 Pasteurización del Jugo

Para pasteurizar el jugo de sandía se hizo pasar a través de un Intercambiador de Superficie Raspada (ISR) (ARMFIELD LTD, Inglaterra) utilizando distintas condiciones de operación, variando la presión del vapor (kPa), flujo volumétrico ($\times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$) y la velocidad del rotor (s^{-1}). Las muestras fueron tomadas en frascos de vidrio desinfectados a la salida del intercambiador para ser monitoreadas inmediatamente.

2.2.7 pH

Para realizar la determinación de pH se utilizó un potenciómetro (Hanna 213 Microprocessor pH meter, Portugal). Previo a la determinación se calibró con soluciones reguladoras de pH de 7 y 4. Se realizó directamente la medición en todas las muestras de jugo de sandía. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado a 25 °C.

2.2.8 Sólidos Solubles (°Brix)

Los sólidos solubles fueron determinados de acuerdo con la NMX-F-103-1982, para la determinación en alimentos, frutas y derivados. La determinación de °Brix se realizó con el Refractómetro (AO 10431 Scientific Instruments, USA) calibrando previamente el equipo con agua destilada a 0 °Brix, finalmente se colocó la muestra de jugo de sandía con ayuda de un gotero sobre el prisma. La determinación se realizó por triplicado a 25 °C.

2.2.9 Determinación de Acidez Titulable (Análisis Volumétrico)

La determinación de acidez titulable en el jugo de sandía fue determinada de acuerdo con la NMX-F-102-S-1978, el cual es un método de análisis químico cuantitativo usado en el laboratorio (Análisis Volumétrico). Se colocaron 25 mL de jugo de sandía y se le agregaron 5 gotas de indicador fenolftaleína, posteriormente se llevó a titulación dejando caer gotas de NaOH 0.1 N de la bureta hasta que el jugo tuviera un cambio de color, se tomó la lectura de los mL gastados de NaOH. La determinación de acidez titulable se realizó por triplicado para todas las corridas, así como para la muestra control (sin pasteurizar). Para realizar el cálculo de acidez se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Acidez} = \frac{V \cdot N \cdot \text{Meq}}{m} * 100 \quad \text{Ec. (5)}$$

Dónde:

V= Volumen en mL de la solución de NaOH gastada en la determinación.

N = Normalidad (concentración) de la solución de NaOH.

m = mL de la muestra.

Meq = miliequivalentes del ácido málico.

Los resultados fueron reportados en Meq de ácido málico, ácido predominante en el jugo de sandía.

2.2.10 Colorimetría

La determinación de color se realizó utilizando un colorímetro (Minolta Spectrophotometer CM-5, Japón). Se registraron las coordenadas de L*, a*, y b* de la escala de Hunter Lab de acuerdo a lo que establece la CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*) que fueron tomadas usando iluminante C y un observador estándar a 10° con

ayuda de una celda de cuarzo para líquidos. Cada medición fue realizada por triplicado a 25 °C. La evaluación de color se estableció de acuerdo a los siguientes parámetros:

$$\Delta E \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Ec. (6)}$$

$$IC = \left(\frac{L^*}{a^* \cdot b^*} \right) * (1000) \quad \text{Ec. (7)}$$

$$\text{Croma} \sqrt{(a)^2 + (b)^2} \quad \text{Ec. (8)}$$

2.2.11 Turbidimetría

La turbidez se determinó mediante un turbidímetro (Hanna LP 2000, Rumania) a una longitud de onda 890 nm, el cual se calibro con agua destilada. Posteriormente la muestra fue colocada en la cubeta de medición (4u) obteniéndose así las unidades nefelométricas. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente por triplicado a 25 °C. Las lecturas se obtuvieron en Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU).

2.2.12 Contenido de Licopeno

El contenido de licopeno fue medido por espectrofotometría siguiendo el método propuesto por Oms – Oliu et al. (2009). Se tomaron 5 mL de jugo de sandía y se añadieron junto con 5 mL de Butilhidroxitolueno (BHT) en acetona al 0.05% (w/v), 5 mL de etanol y 10 mL de hexano. La mezcla se agitó durante 5 min y posteriormente fue centrifugada por 15 min a 3600 rpm. Posteriormente se tomó la fase superior de la mezcla y se mido la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Visible (UV-Vis Cintra 10, GBC Scientific Equipment Ltd. Dandenong Victoria, Australia) a una longitud de onda de 503 nm. Se realizó la determinación para cada muestra por triplicado a temperatura ambiente. El contenido de licopeno fue calculado mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Contenido de licopneo} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{Abs}_{503} * \text{PM} * \text{FD} * 1000}{\epsilon * L} \quad \text{Ec. (9)}$$

Dónde:

PM = Peso molecular del licopeno (536.9 g/mol)

FD = Factor de dilución

L = Longitud de la celda

ϵ = coeficiente de extinción molar (172 000 L/mol/cm)

Para calcular el Porcentaje de retención de licopeno se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Retencion de Licopeno (\%)} = \frac{\text{Contenido Final } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)}{\text{Contenido inicial } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right)} \times 100 \quad \text{Ec. (10)}$$

2.2.13 Fenoles Totales

Para determinar Fenoles totales se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965) el cual estima los polifenoles totales en diferentes alimentos. Se tomaron 5 mL de muestra y fueron añadidos a 10 mL de etanol. La mezcla se centrifugó por 20 min a 6 000 rpm y se dejó reposar por 2 horas en oscuridad. Posteriormente se tomaron 20 μL de extracto al que se le adicionaron 3 mL de agua destilada y 250 μL de reactivo Folin. Después de 8 min se incorporaron 750 μL de Na_2CO_3 (Carbonato de Sodio) junto con 950 μL de agua destilada. La solución se incubó por 30 min y finalmente se tomó la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro (UV-Vis Cintra 10, GBC Scientific Equipment Ltd. Dandenong Victoria, Australia). Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por mL de la muestra, obteniéndose a partir de una curva patrón de ácido gálico a concentraciones de 50, 100, 150, 250 y 500 mg/L bajo las condiciones antes descritas. Para calcular el porcentaje de retención de Fenoles Totales se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Retencion de Fenoles Totales (\%)} = \frac{\text{Contenido Final } \left(\frac{\text{mg EAG}}{\text{mL}}\right)}{\text{Contenido inicial } \left(\frac{\text{mg EAG}}{\text{mL}}\right)} \times 100 \quad \text{Ec. (11)}$$

2.2.14 Ácido Ascórbico

Para la determinación de ácido ascórbico se utilizó el método de Robinson Stock citado por Ranganna (1977). Se incorporaron 20 mL de jugo de sandía en 20 mL de ácido metafosfórico (HPO_3) al 2% y fueron centrifugados por 20 min a 6000 rpm. Después se tomó una alícuota de 5 mL del extracto resultante y se adicionaron 10 mL de solución indicadora 2, 6 - diclorofenol - indofenol, se midió la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro UV - Visible (UV-Vis Cintra 10, GBC Scientific Equipment Ltd. Dandenong Victoria, Australia). Se realizó la determinación para cada muestra por triplicado a temperatura ambiente. La concentración fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{mg de ácido ascórbico}}{100 \text{ mL de muestra}} = \frac{A_c \cdot B \cdot 100}{C \cdot 1000 \cdot m} \quad \text{Ec. (12)}$$

Dónde: A_c = Contenido de ácido ascórbico estimado en la curva patrón, B = Volumen Aforado, C = Volumen de la solución, m = volumen de la muestra (mL).

Para calcular el Porcentaje de retención Ácido Ascórbico se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Retencion de Acido Ascorbico (\%)} = \frac{\text{Contenido Final } \left(\frac{\text{mg}}{100 \text{ mL muestra}} \right)}{\text{Contenido inicial } \left(\frac{\text{mg}}{100 \text{ mL muestra}} \right)} \times 100 \quad \text{Ec. (13)}$$

2.2.15 Actividad Peroxidasa (POD)

La actividad POD (EC 1.11.1.7) se determinó utilizando la metodología propuesta por Gonçalves et al. (2010) con algunas modificaciones. Brevemente, las muestras con y sin tratamiento (10 mL) se homogenizaron en un Ultra-Turrax (Tube Drive IKA®, EE.UU.) en 100 mL de solución de cloruro de sodio (1 M) durante 2 minutos y el homogenizado se centrifugó en tubos de polipropileno a 16 155 \times g utilizando una ultracentrífuga refrigerada (Hermle LaborTechnik GmbH Z323K, Alemania) a 4 °C. La suspensión se filtró usando una membrana de 1.2 μm (Whatman). El filtrado se mezcló con guayacol y H_2O_2

como sustratos. El aumento de la absorbancia a 470 nm se registró usando un espectrofotómetro UV/Vis (Genesys 10s, EE.UU.). La definición utilizada para 1 unidad de actividad enzimática fue la cantidad de enzima que produce un cambio en la absorbancia de 1 por cada minuto y por mL de muestra de extracto bajo las condiciones de ensayo. El análisis se llevó a cabo en tres extractos independientes.

2.2.16 Actividad Pectinmetilesterasa (PME)

Para la extracción de la enzima PME se tomaron 10 mL de jugo y se homogenizaron con 20 mL de una disolución que contiene 0.2 M de NaCl y 10 g/L de polivinilpirrolidona usando un Ultra-Turrax (Tube Drive IKA®, EE.UU.) por 3 minutos, la mezcla se agitó magnéticamente durante 10 minutos con un baño de hielo externo. El homogeneizado se centrifugó en una ultracentrífuga refrigerada (Hermle LaborTechnik GmbH Z323K, Alemania) a 18 000 \times g a 4 °C durante 40 minutos y se filtró a través de papel Whatman de 1.2 μ m. La disolución obtenida consistió en el extracto enzimático crudo para la determinación de la actividad PME, el cual se ajustó a pH = 7.5 con NaOH 2M y NaOH 0.2M. La actividad PME (EC 3.1.1.11) se determinó de acuerdo a la metodología propuesta por Hagerman y Austin (1986) basado en el cambio de color de un indicador de pH durante la reacción catalizada por la PME con algunas modificaciones.

Brevemente, en una celda espectrofotométrica se le adicionó 1 mL de pectina cítrica (10 g/L) a 60 °C, 200 μ L de azul de bromotimol (0.1 g/L), 200 μ L de NaCl (0.2 M) y 580 μ L de agua Mili-Q®. Cada solución fue ajustada a pH = 7.5 con NaOH 2M y NaOH 0.2 M. La reacción se inició con la adición de 20 μ L del extracto enzimático a la mezcla, se agitó ligeramente y se midió el decremento de la absorbancia a 640 nm durante 5 minutos utilizando un espectrofotómetro UV/Vis (Genesys 10s, EE.UU.). La cantidad de μ moles de ácido liberados por acción de la PME fueron obtenidos a partir de una curva patrón realizada con ácido galacturónico desde 0.1 a 0.8 μ moles de ácido. Los ensayos se realizarán por triplicado en extractos independientes.

2.2.17 Actividad Residual Relativa (ARR)

Con el fin de conocer la efectividad del proceso de pasteurización se calculó la actividad residual relativa de las enzimas Pectinmetilesterasa (PME) y Peroxidasa (POD). La actividad residual relativa se calculó con la siguiente ecuación:

$$AR (\%) = \frac{A_t}{A_0} * 100 \quad \text{Ec. (14)}$$

Donde A_t es la actividad enzimática de la muestra después del tratamiento de pasteurización y A_0 es la actividad enzimática de la muestra sin tratamiento o muestra control.

2.3 Diseño Experimental

Se realizó un diseño factorial completo 2^3 con punto central de acuerdo con los niveles de variación presentados en la tabla 2.1. Todas las pruebas y determinaciones se realizaron por triplicado. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias significativas entre las variables independientes ($\alpha= 0.05$) utilizando el programa estadístico Minitab® 17 (Minitab® Inc., PA, EUA).

Cuadro 3. Factores utilizados en el diseño experimental sus niveles de variación.

Factores	Nivel Bajo	Nivel Alto
Flujo volumétrico $\times 10^{-6}$ (m ³ /s)	3	5.4
Presión del Vapor (kPa)	50	150
Velocidad del Rotor (s ⁻¹)	10.47	31.42

CAPÍTULO 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de las Nanocápsulas

El Cuadro 4 muestra que el tamaño de partícula y el índice de polidispersión de las nanocápsulas de α - tocoferol se asimila a lo reportado por Zambrano-Zaragoza et al. (2011) para un sistema de talla submicrónica con el mismo centro activo. Las características de tamaño y polidispersión del método de preparación, la composición de la fase orgánica y por la velocidad de corte del proceso de emulsificación. Moinard-Chécot et al. (2008) reporta que este método permite tamaños controlados de nanocápsulas de 100 - 500 nm, la distribución de los tamaños de partícula obtenidos en este sistema nos indica la homogeneidad del sistema.

Cuadro 4. Características de las nanocápsulas de α -tocoferol.

TP (nm)	IPD (-)	ζ (mV)
243.61 \pm 4.09	0.179 \pm 0.011	- 42.93 \pm 1.76

El ζ obtenido para las nanocápsulas de α -tocoferol representa que el sistema tiende a la estabilidad con poca probabilidad de agregación debido a que las nanopartículas se repelen entre si y por lo tanto superan la tendencia natural a agregarse (Noriega-Peláez et al., 2011). De acuerdo con Heurtault et al. (2003) la medición del ζ nos permite realizar predicciones acerca de la estabilidad de almacenamiento de una dispersión coloidal.

Estudios proponen que potenciales zeta de ± 30 mV a ± 6 mV como un intervalo óptimo, ya que estos valores netos son necesarios para la estabilización electrostática, por tanto el sistema que se adicionara al jugo de sandía es estable y adecuado para aplicar la tecnología.

3.2 Parámetros de Control

Con el fin de evaluar el efecto de las condiciones de operación en el proceso de pasteurización sobre el jugo de sandía adicionado con nanocápsulas de α -tocoferol se determinaron propiedades fisicoquímicas (pH, ° Brix y Acidez Titulable), mismas que fueron tomadas como parámetros de control antes y después de la pasteurización a las diferentes condiciones de operación. Los resultados obtenidos por cada tratamiento se muestran en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Promedios de pH, ° Brix y Acidez a las diferentes condiciones de operación respecto a la muestra control

Presión del Vapor (kPa)	Velocidad de Alimentación ($\times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$)	Velocidad del Rotor (s^{-1})	pH	°Brix	Acidez Titulable (m_{eq} ácido málico)
50	3	2.4	5.57 \pm 0.30	8.03 \pm 0.97	0.250 \pm 0.027
150	3	2.4	5.73 \pm 0.47	8.20 \pm 0.80	0.237 \pm 0.040
50	5.4	2.4	5.63 \pm 0.37	8.03 \pm 0.97	0.228 \pm 0.049
150	5.4	2.4	5.57 \pm 0.30	8.10 \pm 0.90	0.264 \pm 0.013
50	3	4.8	5.57 \pm 0.30	8.07 \pm 0.93	0.228 \pm 0.049
150	3	4.8	5.73 \pm 0.47	8.13 \pm 0.87	0.237 \pm 0.040
50	5.4	4.8	5.67 \pm 0.40	8.13 \pm 0.87	0.232 \pm 0.045
150	5.4	4.8	5.53 \pm 0.27	8.07 \pm 0.93	0.259 \pm 0.018
50	3	2.4	5.70 \pm 0.43	8.17 \pm 0.83	0.219 \pm 0.058
Control			5.27 \pm 0.21	9.01 \pm 0.87	0.277 \pm 0.049

3.2.1 pH

El pH obtenido se encuentra en un intervalo de 5.53 – 5.73 para las diferentes condiciones de operación. El promedio de pH en la muestra control fue de 5.27. El aumento en el pH se debió a la pérdida de componentes termolábiles en las muestras que se reflejó en la cantidad de ácidos orgánicos (málico y ascórbico) cuantificados en los diferentes tratamientos, por lo tanto, la acidez titulable del jugo disminuyó teniendo como consecuencia un aumento en el pH del jugo de sandía. La Figura 10 muestra que el factor

que tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre el pH fue la interacción presión del vapor*flujo volumétrico ($p < 0.05$) dado a que la presión del vapor modifica de manera directa la temperatura alcanzada en el mantenimiento y el flujo volumétrico los tiempos de residencia dentro del intercambiador de calor.

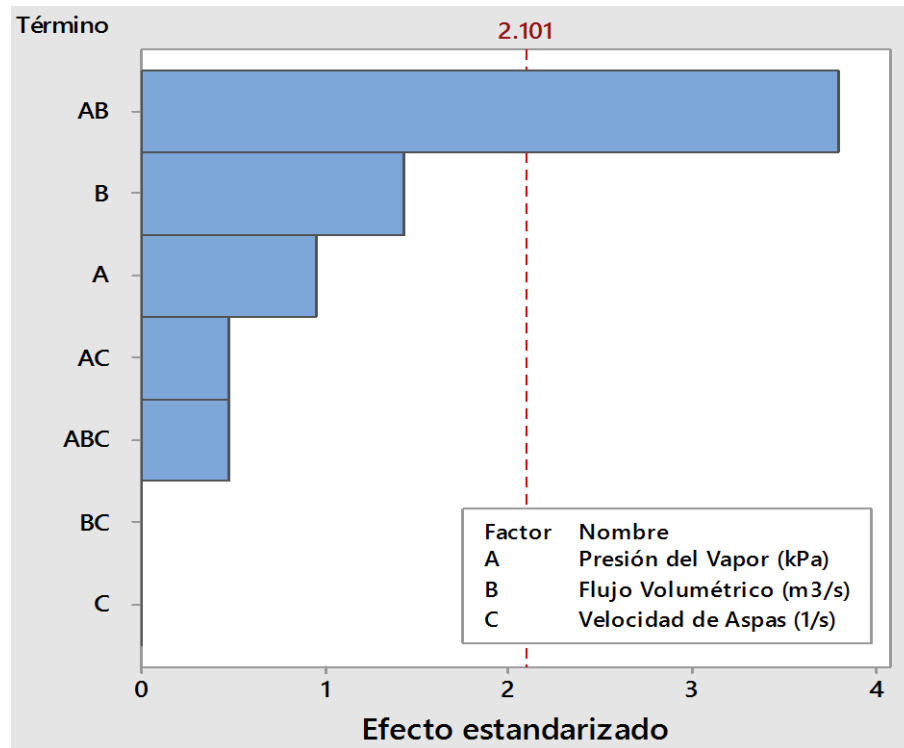


Figura 10. Diagrama de Pareto para el pH.

Sin embargo, el cambio en el pH de los tratamientos con respecto a la muestra control no fue significativo ($p > 0.05$). De acuerdo a la NOM-130-SSA1-1995 Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico menciona que los jugos ácidos y semi ácidos sometidos a tratamiento térmico deben cumplir con un $pH > 4.6$, por lo tanto, el tratamiento de pasteurización para cualquier condición de operación fue mayor de 4.6 lo cual indica que el tratamiento térmico realizado no impacta de manera significativa en el pH del jugo de sandía.

3.2.2 °Brix

Los sólidos solubles para las diferentes condiciones de operación está en un rango de 8.03 – 8.20. Los ° brix del jugo de sandía sin pasteurizar fue de 9.01 por lo que hubo diferencia significativa respecto al control ($p < 0.05$). El CODEX STAN 247-2005 para jugo y néctares de frutas indica un mínimo de 8 °brix para jugos o concentrados de sandía, por lo cual el jugo de sandía sin pasteurizar y cada uno de los tratamientos realizados cumple con la normativa. En cuanto al análisis de varianza no existió diferencia estadísticamente significativa dada por las diferentes condiciones de pasteurización sobre la concentración de sólidos solubles en las muestras ($p > 0.05$).

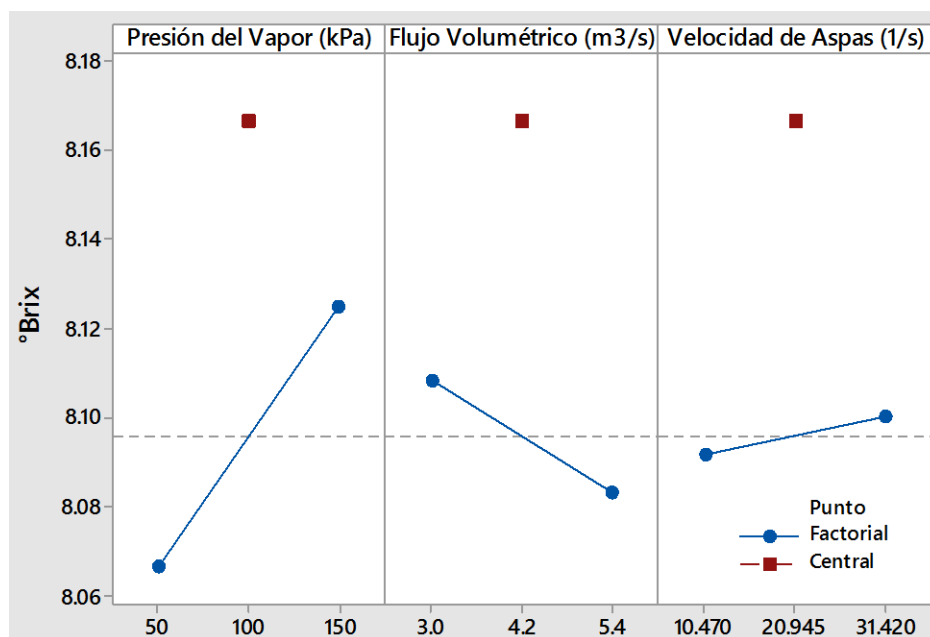


Figura 11. Efectos principales para los °Brix en el jugo de sandía.

La Figura 11 muestra que el factor con mayor efecto fue la presión del vapor aunque no fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Los puntos centrales del modelo fueron los que presentaron los valores más altos para la concentración de sólidos solubles. Los valores de Brix se mantuvieron similares en todos los tratamientos lo cual es congruente con lo reportado por Feng et al. (2013) para jugo de sandía tratado UV-C.

3.2.3 Acidez Titulable

El porcentaje de acidez titulable en el jugo de sandía se encontró en un rango de 0.219 – 0.264 meq de ácido málico y para la muestra control fue de 0.277 meq de ácido málico. Estos valores representan una disminución significativa con respecto al control ($p < 0.05$). Esta disminución se debe a la degradación de compuestos termolábiles como el ácido ascórbico y málico lo cual tiene un efecto directo sobre la acidez total del jugo de sandía. La Figura 3.3 muestra que la presión del vapor y la interacción presión del vapor*flujo volumétrico presentaron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre la acidez titulable (manteniéndose siempre dentro de normativas y valores reportados anteriormente).

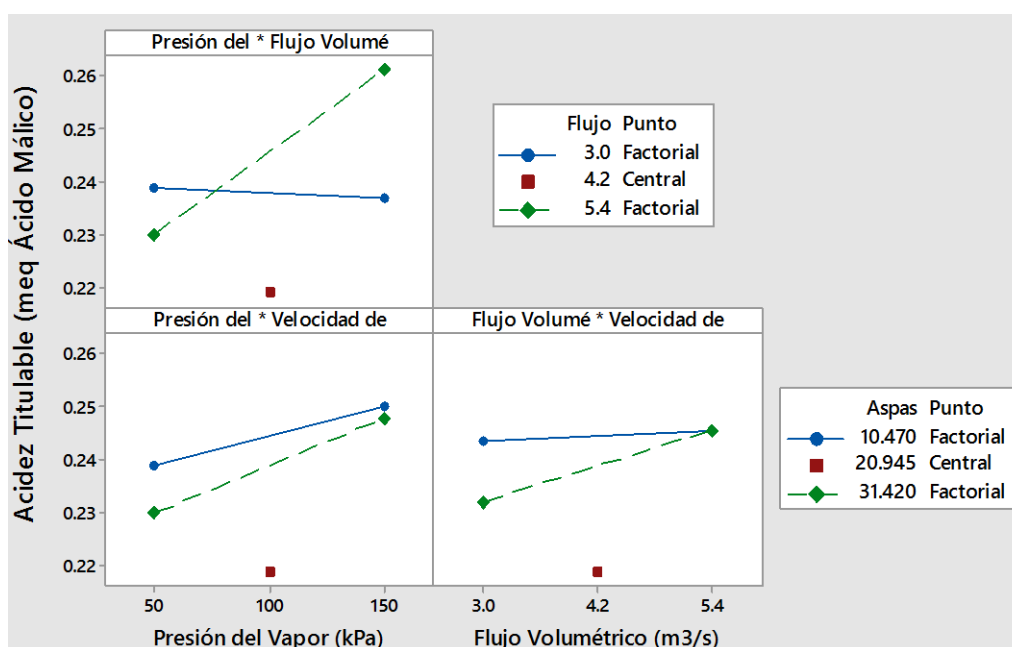


Figura 12. Interacciones evaluadas para la acidez titulable.

Sin embargo, la disminución de la acidez titulable del jugo reflejada en los valores obtenidos se encuentran dentro de rangos aceptables según estudios realizados para jugo de sandía reportando que este parámetro se encuentra entre los 0.05 – 0.8 meq de ácido málico (Chahal & Saini, 1999; Hayoglu, 1990; Gowda, 1995).

Finalmente, los parámetros de control presentaron un comportamiento similar antes y después de la pasteurización a sus diferentes condiciones de operación y cumplen con las normativas y los valores obtenidos fueron similares a estudios realizados anteriormente, por lo tanto, la pasteurización no tuvo un fuerte impacto con respecto a la muestra control y respecto a las propiedades fisicoquímicas del jugo de sandía en los diferentes tratamientos realizados. Sin embargo los resultados a su vez revelan una clara influencia que ejerce la presión del vapor en interacción con el flujo volumétrico presentando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en la modificación del pH y de la acidez titulable.

3.3 Colorimetría

El color es una importante característica de los alimentos debido a que es un parámetro de calidad y por tanto de aceptabilidad por parte del consumidor. El valor L^* es una medida de la luminosidad y varía de 0 (negro) a 100 (blanco), el valor a^* varía de -100 (verde) a +100 (rojo); y el valor b^* varía de -100 (azul) a +100 (amarillo). Cuando los valores L^* , a^* y b^* aumentan, el color se vuelve más saturado o cromático, mientras que, para los colores neutros (blanco, gris o negro), estos valores se acercan a 0 (Baccouche et al., 2013).

La Figura 13 muestra la posición en el círculo cromático de los diferentes tratamientos analizados con respecto a las coordenadas de perfil de color. El valor promedio de la luminosidad se encontró en un rango de 40.19 – 42.87 para las diferentes tratamientos realizados, el valor de L^* de la muestra control fue de 31.23. La diferencia es significativa cuando se comparan los resultados de los diferentes tratamientos con respecto al control ($p < 0.05$). El valor de luminosidad aumentó, por lo tanto, con la pasteurización el jugo se volvió más blanco/claro debido a la degradación de compuestos termolábiles como el licopeno. Para la coordenada de perfil de color a^* los valores se encontraron en un intervalo de 27.66 – 31.25 para los diferentes tratamientos realizados y para la muestra control fue de 38.14. Se observan diferencias significativas entre las muestras estudiadas y la muestra control ($p < 0.05$). La disminución de a^* por efecto de la pasteurización es

indicativo de que el color rojo característico del jugo de sandía que de igual manera fue proporcional a la degradación de licopeno.

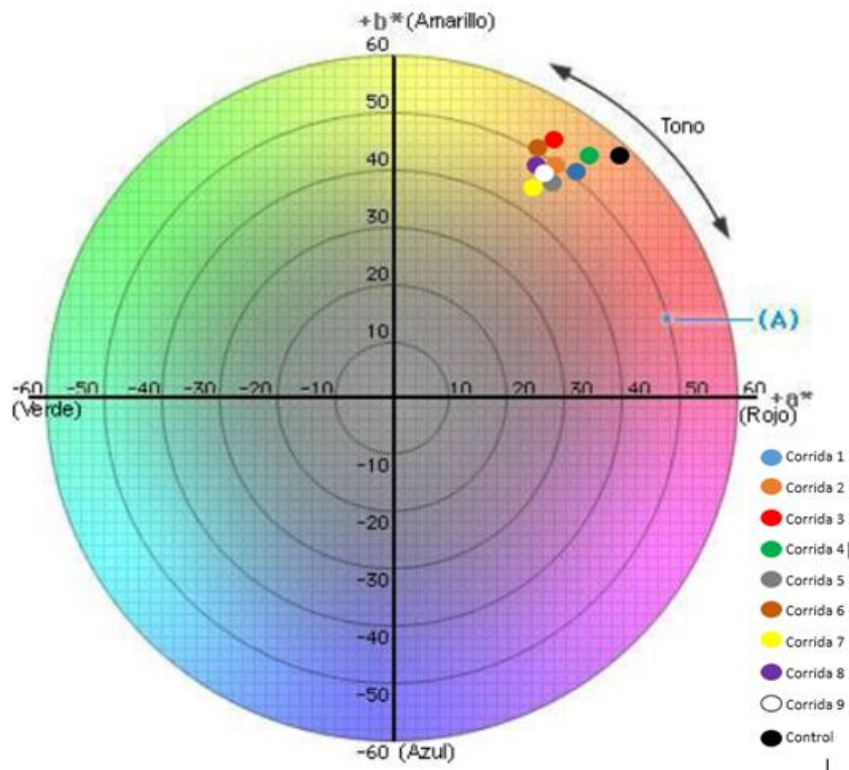


Figura 13. Ubicación en el círculo cromático las coordenadas de perfil de color (L^* , a^* y b^*) de las muestras analizadas.

El parámetro de perfil de color b^* obtenido se encontró en el intervalo de 37.53 – 45.07, mientras que para la muestra control fue de 42.1. La prueba de diferenciación de medias revela que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las muestras analizadas y la muestra control (ya que el valor b^* se relaciona a los cambios de azul al amarillo) por lo que b^* se mantuvo sin cambios. A continuación se discuten los cambios en índice de color (IC) y cambio total de color (ΔE) por efecto de las variables de operación en el proceso de pasteurización del jugo de sandía adicionado con nanocápsulas de α -tocoferol para su asociación con la degradación de compuestos termolábiles como el licopeno.

3.3.1 Índice de Color (IC)

El IC es un parámetro que se utiliza como variable de control de calidad organoléptica de alimentos. Según Thompson (1998) cuando se tiene un IC de 2 a 20 se relaciona con los colores que van del amarillo pálido al naranja intenso y de 20 a 40 se relaciona con colores que van desde el naranja intenso al rojo profundo. A continuación se muestran el gráfico obtenido a partir del análisis del diseño factorial (Figura 14) en donde se aprecian los valores obtenidos para cada experimento realizado.

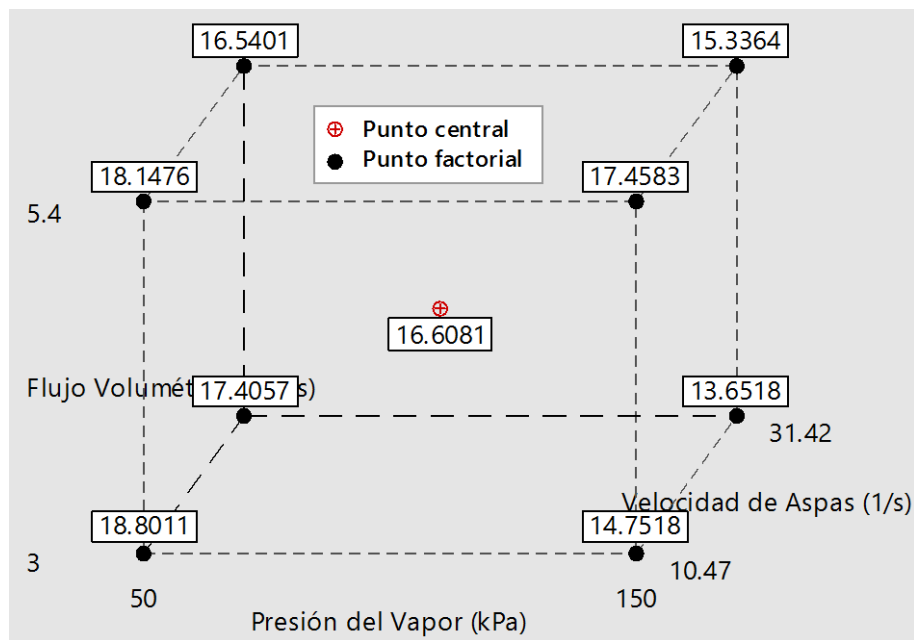


Figura 14. Diagrama de cubo para el índice de color

El ANOVA realizado revela que los coeficientes de los factores lineales y de interacción tienen efecto significativo sobre el índice de color ($p < 0.05$). El factor que mayor significancia tiene sobre el IC fue la presión del vapor seguido del flujo volumétrico y finalmente la velocidad de las aspas. Esto se puede explicar a que la presión del vapor modifica directamente la temperatura de calentamiento y por lo tanto la temperatura en

la etapa de sostenimiento en el proceso de pasteurización. Esto se asocia directamente al licopeno que al ser un compuesto sensible a altas temperaturas modifico su concentración en función de la presión del vapor y por lo tanto el IC disminuyo. Por otra parte el flujo volumétrico modifica los tiempos de residencia, los IC más bajos se encontraron al emplear el flujo volumétrico en su nivel bajo ($3 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$) ya que al tener velocidades de alimentación más bajas tendremos un tiempo de residencia mayor y por lo tanto se tiende a sobreprocesar el producto dando lugar a una degradación indeseable de licopeno.

Por la parte, al utilizar la velocidad del rotor en su nivel alto (31.42 s^{-1}) se encontraron los valores de retención más bajos, este comportamiento puede explicarse a que la velocidad de las aspas modifica el perfil de velocidad del producto y esto a su vez provoca la modificación de la homogeneidad de la temperatura a través del intercambiador por lo que de igual manera se sobre procesa el producto. Es importante conocer cómo se comporta la concentración de licopeno ya que el IC está directamente relacionado al contenido de este compuesto. El IC se encuentra en un rango de 13.65 – 18.80 mientras que para la muestra control fue de 29.01. La prueba de diferenciación de medias fue estadísticamente significativa para esta comparación ($p < 0.05$).

Según estudios realizados por Thompson (1998) y tomando en cuenta los valores obtenidos, el color rojo de los tratamientos experimentales se redujo respecto a la muestra control por efecto de la concentración de carotenoides presentes, en específico de licopeno. La disminución en IC se traduce en una disminución del color rojo característico del jugo de sandía por efecto del tratamiento térmico, dichos tratamientos tienen influencia en la modificación de los pigmentos de la sandía lo cual resulta en un cambio significativo del color en frutas y vegetales (Goncalves et al., 2010). La modificación de cualquiera de los tres factores tendrá diferencias significativas en el IC, por lo tanto la pasteurización de jugo de sandía en cualquier condición de operación modificará el IC.

3.3.2 Cromaticidad

El croma en alimentos se utiliza para determinar el grado de diferencia de un color en comparación con un color gris con la misma ligereza y se considera el atributo cuantitativo de cromatismo, en otras palabras indican la saturación del color (Fernández-Vázquez et al., 2013; Meléndez-Martínez et al., 2010). La Figura 15 muestra las interacciones obtenidas para la cromaticidad en las muestras analizadas. El ANOVA realizado revela que los términos lineales y de interacción fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

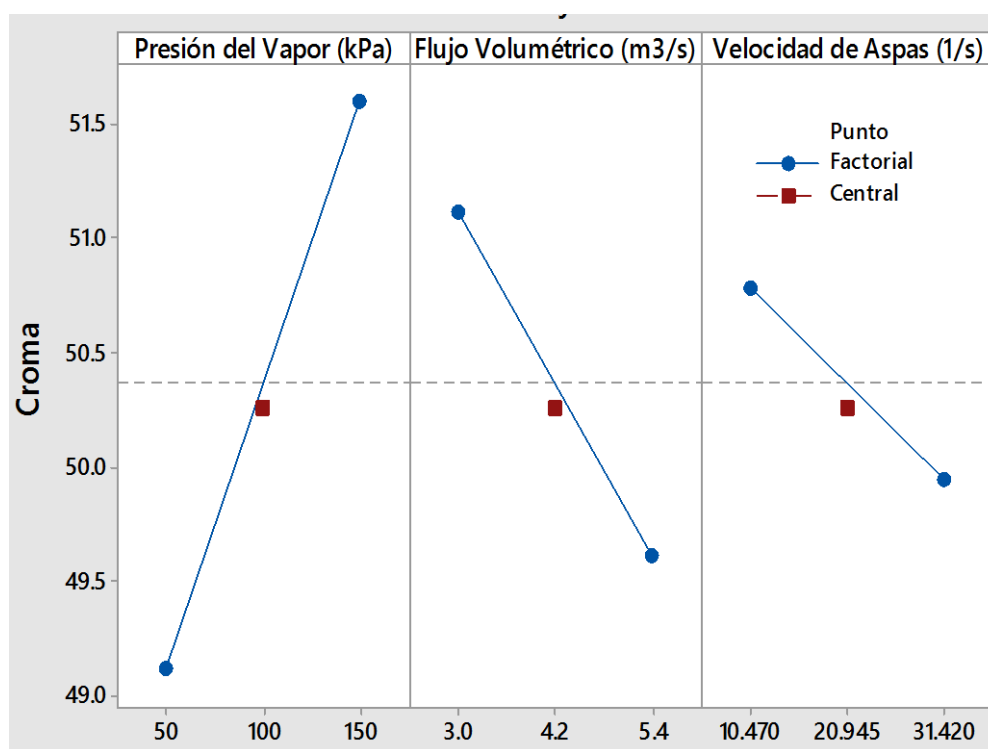


Figura 15. Interacciones obtenidas en la cromaticidad de los jugos

La saturación de color está estrechamente relacionada con el contenido de carotenoides presentes en el jugo de sandía, por lo cual es importante realizar una comparación de medias con respecto al control (jugo de sandía sin tratamiento térmico). La muestra control presentó un valor promedio de 56.80 en contraste con el intervalo obtenido para

las muestras pasteurizadas (38 – 57). El efecto del tratamiento térmico fue significativo ($p < 0.05$).

En estudios realizados por D'Souza, Singh & Ingle (1992) proponen que los valores de croma se correlacionaron con contenido de licopeno en jugo de tomate y los valores de la coordenada de perfil de color a^* se correlacionaron con contenido de licopeno de jugo de pomelo. Esto es consistente con el presente estudio experimental. Perkins-Veazie et al. (2001) encontraron que la cromaticidad se correlaciona de manera directamente proporcional con el contenido de licopeno de melones. El presente estudio ha mostrado resultados similares que darán pauta a la discusión del contenido de licopeno.

3.3.3 Cambio Total de Color (ΔE)

El ΔE nos permite conocer los cambios de color de manera general durante el almacenamiento o después de algún procesamiento térmico (Qian et al., 2012). La Figura 16 muestra que la pasteurización tiene efecto significativo sobre la variación total de color donde la variable de operación que mayor influencia presentó fue la velocidad de las aspas en términos lineales y la presión del vapor*velocidad de alimentación en términos de interacción ($p < 0.05$).

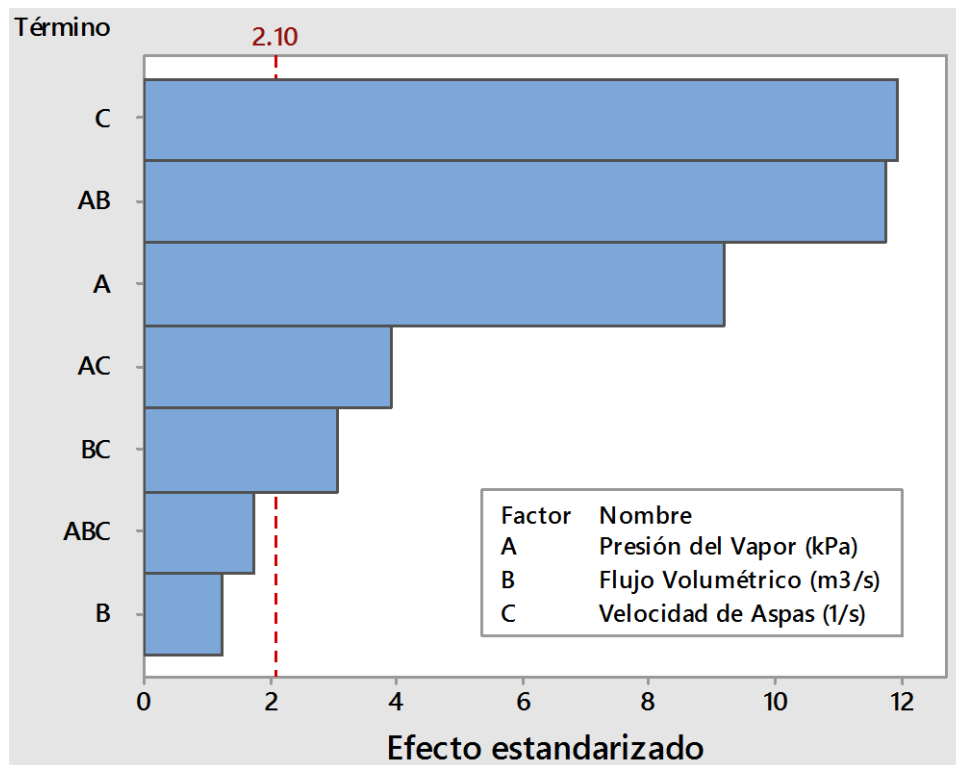


Figura 16. Diagrama de Pareto para el cambio total de color

Los medias para el ΔE van de 11.33 - 18.38 siendo la variación más elevada la que presenta las condiciones de operación de 150 kPa, 3×10^{-6} m³/s, 31.42 s⁻¹. Por otra parte el flujo volumétrico no es un factor que afecte significativamente al ΔE en términos lineales ($p > 0.05$).

La presión del vapor modifica directamente la temperatura de calentamiento del proceso por lo tanto se evaluó que a 150 kPa se obtuvieron los valores más altos en ΔE . Al incrementar la presión del vapor aumenta de manera directa la temperatura de calentamiento y por lo tanto también la temperatura de mantenimiento del proceso, y a mayor temperatura los compuestos termolábiles sufren una mayor degradación y por ende un mayor cambio en ΔE . Como se había mencionado antes, la variable que linealmente tuvo mayor efecto significativo sobre ΔE fue la velocidad de las aspas, ésta variable influye en la homogenización de la temperatura y facilita que el fluido se desplace de manera constante dentro del ISR por lo tanto al modificar la temperatura de manera indirecta de igual manera afecta la degradación de los compuestos termolábiles.

De acuerdo con la escala propuesta por Wang et al. (2014) para el cambio total de color las muestras analizadas presentan fuertes diferencias ($6 < \Delta E < 12$) y colores completamente diferentes ($\Delta E > 12$). Estos cambios se asocian principalmente a la disminución de la concentración de licopeno debido a la pasteurización y también se pueden correlacionar a la disminución en la concentración del ácido ascórbico.

Este comportamiento puede explicarse ya que dichos compuestos son termolábiles y por lo tanto al estar sometidos a temperaturas elevadas se degradan. El licopeno es un pigmento natural en el jugo de sandía sensible a la luz y a las altas temperaturas y al disminuir su contenido, el color rojo característico del jugo se modifica (Sharma et al., 2008) además que la isomerización y la oxidación son las principales causas de la degradación de licopeno por lo cual un cofactor a este comportamiento fue la disminución en la concentración de ácido ascórbico.

Con respecto a la concentración presente de nanocápsulas de α -tocoferol y dada su resistencia térmica (González-Reza et al., 2015) el activo no pudo ayudar a prevenir la oxidación del licopeno, por lo cual se recomienda la utilizaciones de mezclas de sistemas nanoestructurados como son emulsiones y nanoemulsiones de α -tocoferol.

Durante la pasteurización el licopeno se Isomeriza dando origen a cambios en el contenido del mismo y los isómeros *trans-cis* cambian la distribución y su biodisponibilidad (Tarazona-Díaz et al., 2011; Tarazona Diaz & Encarna Aguayo, 2013). Otro aspecto de igual relevancia resulta en la fragmentación del licopeno en productos como acetona, metilheptanona, aldehído levulinicos y glyoxal (Sharma et al., 2008) que se asocian de manera directa a los valores obtenidos de acidez titulable y pH.

Por otra parte el ácido ascórbico es un agente antioxidante y además tiene propiedades reductoras sobre las *o*-benzoquinonas a *o*-difenoles y también tiene un efecto directo en la actividad enzimática (Wong, 2003). Al disminuir el contenido de ácido ascórbico por

acción de la pasteurización se reduce el efecto protector antioxidante lo cual modifica el color del jugo de sandía.

3.4 Turbidez

La turbidez cuantifica el grado en que la luz viaja a través de una muestra que es dispersada por partículas en suspensión. La turbidez depende esencialmente de las entidades de tamaño coloidal presente en la fase líquida y en la distribución de tamaño de partícula (Collado – Fernández et al., 2000; Narong & James; 2006).

En la Figura 17 se observa las interacciones obtenidas sobre la turbidez, denotando que esta variable no tuvo cambios estadísticamente significativos ($p > 0.05$) con respecto a los 3 factores de variación. Respecto a la muestra control la prueba de diferenciación de medias tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) con respecto a los tratamientos realizados presentando un cambio de 2060 NTU a un valor en promedio de los tratamientos experimentales de 1860 NTU.

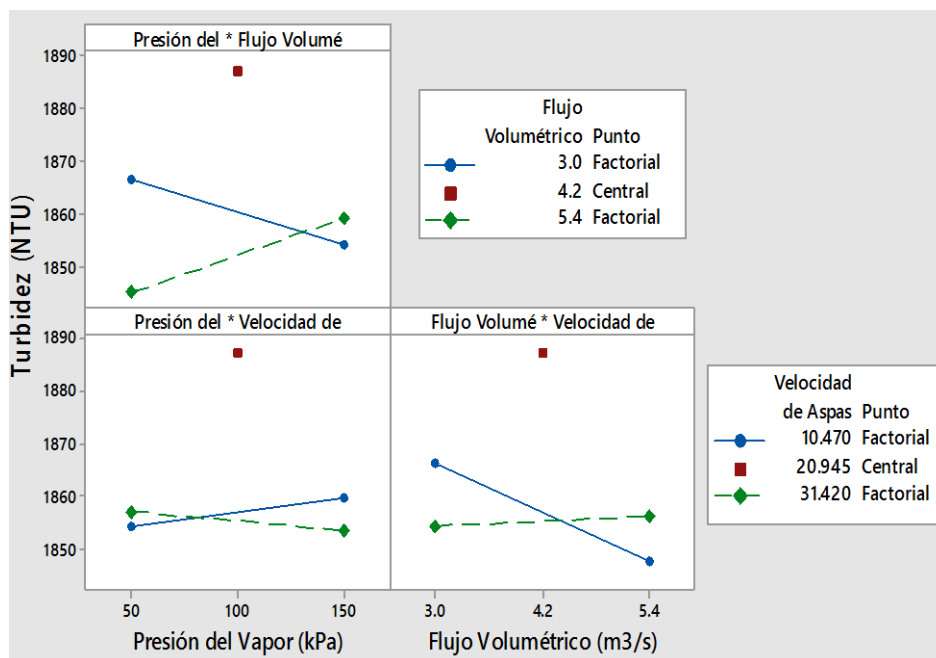


Figura 17. Interacciones obtenidas para la turbidez de las muestras

Uno de las principales problemáticas sobre la calidad de los jugos comerciales es la pérdida de turbidez a lo largo de su almacenamiento. Este fenómeno es causado por una enzima de origen vegetal llamada PME (pectinmetilesterasa) la cual tiene como función degradar pectinas, como consecuencia de esto el jugo cambia su turbidez característica dando lugar a un líquido claro y precipitado en el fondo (Marshall et al., 1985).

Los puntos centrales del modelo fueron en los que se presentó un cambio mayor en valores de turbidez, sin embargo no fue significativo ($p < 0.05$). En la Figura 17 además se observan los valores promedios de los tratamientos experimentales en donde se encuentra el valor más bajo de 1829.67 y el valor más alto de 1887.33 como punto central. Con la acción del calor en el proceso de pasteurización se reduce la actividad de ciertas enzimas causantes del deterioro de los alimentos. Una de las principales enzimas que causa el deterioro es la PME, esta enzima disminuye su actividad con el incremento de la temperatura, pues la enzima es termosensible lo que a su vez mejora la retención de la turbidez del jugo de sandía (Hirsch et al., 2008).

3.5 Contenido de Licopeno

El licopeno es uno de los compuestos bioactivos más importantes en la ciencia de los alimentos debido a que tiene un papel importante en la reducción de problemas de cáncer y aterosclerosis. Sin embargo es un caroteno altamente susceptible a la degradación por agentes externos como la temperatura (Tarazona – Díaz & Encarna Aguayo, 2013).

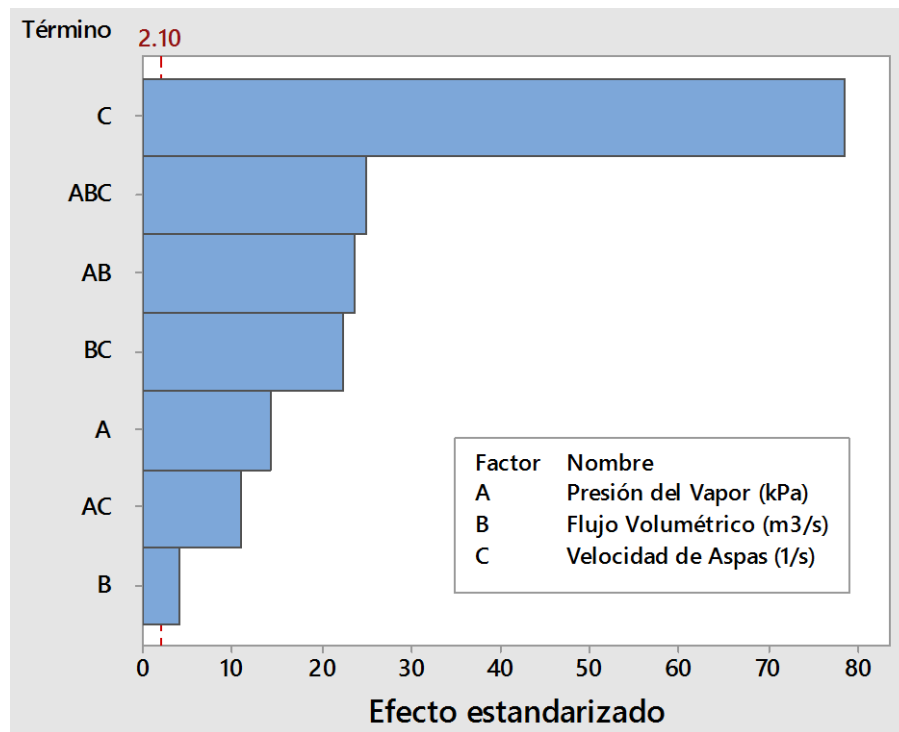


Figura 18. Diagrama de Pareto para el contenido de licopeno en los jugos.

En la Figura 18 se observa que los factores tienen un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en términos lineales y de interacción sobre el contenido residual de licopeno. El factor que presentó mayor efecto fue la velocidad de las aspas, seguido de la presión del vapor y finalmente el flujo volumétrico en términos lineales. Por otra parte el valor más bajo (9.33 mg/L) de contenido de licopeno se presentó al aplicar 31.42 s^{-1} de velocidad de las aspas y presión del vapor de 150 kPa, los cuales fueron los niveles de variación más alto para estos factores. El contenido de licopeno del jugo de sandía sin pasteurizar fue de 44.15 mg/L. Estudios realizados para jugo de sandía fresco reportan valores de contenido de licopeno de 6.2 mg/100 mL (Oms-Oliu et al., 2009) y de 35–37 mg/L (Feng et al., 2013). Estos resultados son comparables para el jugo fresco (control) y es consistente con el presente estudio experimental.

Al realizar el tratamiento térmico a las muestras, el contenido de licopeno disminuyó en un intervalo de $\sim 14 - 37 \text{ mg/L}$. La prueba de diferenciación de medias revela que para las

condiciones de 50 kPa, $5.4 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ y 10.47 s^{-1} el efecto no fue significativo con respecto al valor de la muestra sin pasteurizar ($p < 0.05$). Esto puede explicarse a que como es conocido, la relación de tiempo – temperatura que se aplicó fue muy baja, es decir la temperatura que se alcanzó en el mantenimiento fue modificada por la alta velocidad de flujo que se aplicó así como el tiempo de residencia dentro de cada componente del equipo.

En el gráfico de Pareto (Figura 18) se observa la interacción de los tres factores fue de igual manera significativa ($p < 0.05$). Los valores de contenido de licopeno más altos se reportaron al aplicar la presión de vapor más baja (50 kPa), flujo volumétrico más alto ($5.4 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$) y velocidad del rotor baja (10.47 s^{-1}). Es decir, que se pueden obtener altas concentraciones de licopeno si se emplean temperaturas relativamente bajas, tiempos de residencia cortos y una velocidad del rotor baja. La velocidad del rotor homogeniza la temperatura a través de los cilindros de forma que la pasteurización se lleva a cabo suavemente. De forma contraria la concentración de licopeno más baja fue de 9.33 mg/L a condiciones de presión 150 kPa, velocidad de espas de 31.42 s^{-1} y flujo volumétrico de $3 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$. En este caso la pasteurización es más fuerte por el comportamiento de la relación tiempo – temperatura.

Teóricamente al aumentar tiempos de residencia se disminuyen temperaturas de proceso, en este caso dicha relación fue directamente proporcional, es decir, se aumentó tiempo de residencia y temperatura de la misma forma y se trabajó con la condición más alta de velocidad de rotor por tanto se obtuvo mayor distribución de la temperatura. Evidentemente se sobreprocesa el producto en estas condiciones de operación sin embargo modificando cualquiera de las tres variables se pueden tener cambios significativos en la degradación de licopeno ($p < 0.05$).

Con base en los datos obtenidos, se calculó el porcentaje de retención de licopeno el cual se muestra en la Figura 19 y se encuentra en un intervalo de $\sim 33 - 84 \%$ para las mismas condiciones de operación mencionadas anteriormente. En la Figura 19 además se aprecia que la condición que modifica de manera directa la retención de licopeno es la velocidad del rotor. Si se observan los valores de contenido de licopeno se puede explicar que aunque

se mantenga constantes la presión del vapor y el flujo volumétrico y la variable sea la velocidad del rotor podemos obtener valores favorables o desfavorables según la condición. Si se modifica únicamente la velocidad del rotor a la condición más baja 10.47 s^{-1} el contenido aumenta, como ejemplo a 150 kPa y $3 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ como factores constantes la retención de licopeno cambia de 74.43% para 10.47 s^{-1} en comparación de 32.79% a 31.42 s^{-1} de velocidad del rotor.

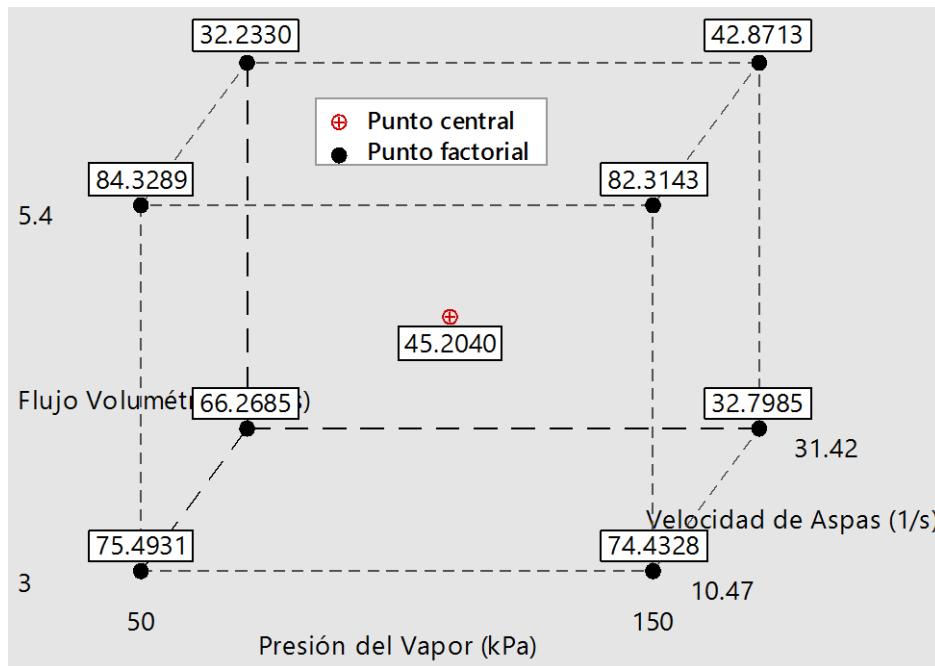


Figura 19. Diagrama de cubo para la retención de licopeno en las muestras

En la Figura 19 se aprecia que la condición que modifica de manera directa la retención de licopeno es la velocidad del rotor. Si se observan los valores de contenido de licopeno se puede explicar que aunque se mantenga constantes la presión del vapor y el flujo volumétrico y la variable sea la velocidad del rotor podemos obtener valores favorables o desfavorables según la condición. Si se modifica únicamente la velocidad del rotor a la condición más baja 10.47 s^{-1} el contenido aumenta, como ejemplo a 150 kPa y $3 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ como factores constantes la retención de licopeno cambia de 74.43% para 10.47 s^{-1} en comparación de 32.79% a 31.42 s^{-1} de velocidad del rotor.

La temperatura es uno de los factores más importantes sobre la degradación de licopeno, ya que la presión del vapor se relaciona directamente con la temperatura, a mayor presión del vapor se presenta una mayor temperatura de calentamiento y sostenimiento lo que conduce a una mayor degradación de licopeno. El factor que tiene más influencia sobre el contenido de licopeno no es la presión del vapor, sin embargo, la velocidad de las aspas modifica el perfil de velocidad tanto de calor como de momento dentro del ISR favoreciendo la homogeneidad de la temperatura a través de los cilindros y también facilita que el fluido se desplace de manera constante y tenga una distribución uniforme del calor suministrado por el vapor. La pérdida de color se debe en gran medida a la disminución de la concentración de licopeno, cuando el licopeno entra en contacto con altas temperaturas se destruye por acción de calor y oxígeno y resultando en productos como acetona, metil heptona, aldehídos levulónicos y glyoxal (Aguiló – Aguayo et al., 2010).

Los carotenos, incluido el licopeno, se degradan en compuestos volátiles como son 2-teil-2-heptano-6-uno, citral y otros compuestos cuando se trabaja a temperaturas de 97 °C (Kanasawud & Crouzet, 1990) en este caso la temperatura de calentamiento fue de 92 °C aproximadamente en los puntos centrales del modelo. Una de las principales variables que se relaciona con la disminución en el contenido de licopeno es el tiempo de residencia (Rawson et al., 2011) el cual se asocia directamente al factor de variación denominado velocidad de alimentación o flujo volumétrico. Este factor presentó diferencia significativas ($p < 0.05$), sin embargo, es la que menor influencia tiene sobre el contenido de licopeno. Esta pequeña variación es explicativa debido a que los tiempos de residencia en el equipo son cortos, por lo que la degradación es responsable en mayor medida de otras variables.

Los atributos de color de los jugos pueden ser afectados por reacciones no enzimáticas y por variación de concentración natural u ocasionada por pigmentos naturales como el licopeno como lo reporta Mackinney & Chichester (1952), por eso es importante conocer el contenido de dichos pigmentos después de un tratamiento térmico. La correlación de

contenido de carotenoides y los parámetros de perfil de color se correlacionan directamente, lo cual es congruente con estudios realizados por Sharma et al. (2008).

3.6 Fenoles Totales

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios en las plantas y se sabe que son importantes para impartir beneficios para la salud y para desarrollar el color y el sabor de jugos de frutas y vinos. Los compuestos fenólicos se degradan, oxidan o polimerizan rápidamente durante el procesamiento y almacenamiento. Por lo tanto, el contenido fenólico total es un indicador importante de la calidad del jugo de fruta (Ghafoor & Choi, 2012; Tarazona-Díaz & Encarana Aguayo, 2013). Sin embargo estos compuestos son susceptibles a degradarse por efecto del calor (Rawson et al., 2011), por lo que la temperatura tiene un efecto significativo sobre la degradación en el contenido total de fenoles.

Los compuestos fenólicos totales en el jugo de sandía fresco no tratado fueron de 88.50 mg EAG/L. Estudios realizados para jugo de sandía fresco reportan valores de contenido de fenoles totales de 13.89 mg/100 mL (Rawson et al., 2011). Estos resultados son comparables para el jugo fresco y son consistentes con el presente estudio experimental.

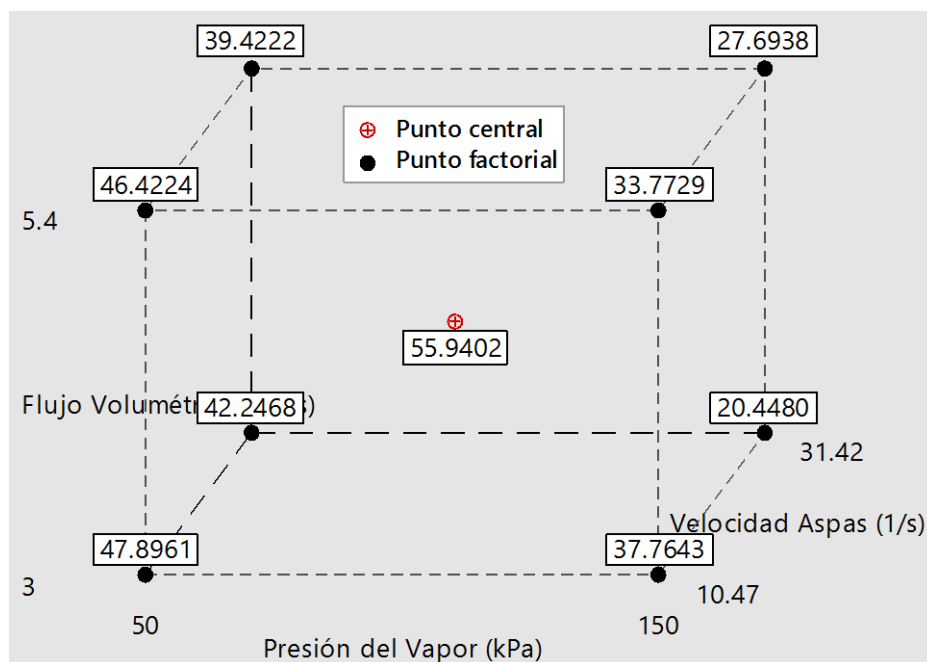


Figura 20. Diagrama de cubos para el contenido de polifenoles totales (mg EAG/L)

El contenido de polifenoles totales para los jugos pasteurizados se encontró en un rango de ~27.88 – 54.53 mg EAG/L (Figura 20) para las diferentes condiciones experimentales. La prueba de diferenciación de medias revela que los jugos pasteurizados y el control presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). El ANOVA realizado mostró que los factores lineales como de interacción presentaron un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$). El factor tuvo mayor influencia estadística sobre la degradación de estos compuestos fue la presión del vapor, esta condición de operación afecta de manera directa a la temperatura de calentamiento y a mayor temperatura mayor será la degradación. Para un mejor entendimiento se calculó el porcentaje de retención del contenido de polifenoles totales el cual fue de 25.33 % como mínimo y 71.25% como máximo la cual se obtuvo las condiciones de los puntos centrales.

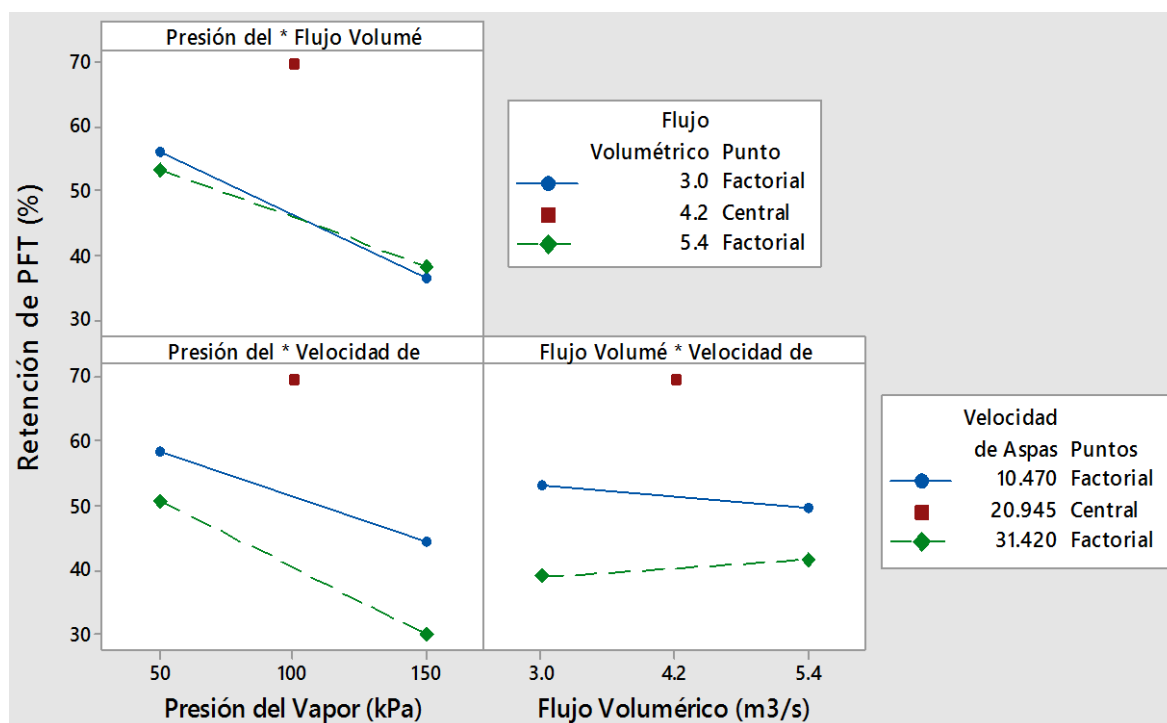


Figura 21. Interacciones obtenidas para la retención de fenoles totales

La Figura 21 muestra las interacciones obtenidas para la retención de los polifenoles totales. Los polifenoles al ser compuestos termosensibles se degradan en mayor proporción cuando existe mayor temperatura. Se conoce que estos compuestos presentan relación con la actividad antioxidante y por lo tanto constituyen en un importante contribuyente a la capacidad antioxidante de la sandía (Kim et al., 2014) por lo que minimizar su pérdida en las muestras es de vital importancia.

El factor que no presentó diferencia significativa fue el flujo volumétrico o velocidad de alimentación ($p > 0.05$), esta variable modifica los tiempos de residencia. Según Sew et al. (2014) la mayor degradación de fenoles se obtiene cuando tiempos de residencia largos y temperaturas altas se aplican conjuntamente. El tiempo mínimo que se reporta en este estudio es de 10 minutos, en donde se observa que dicha variable tiene efecto significativo sobre la degradación de fenoles. El tiempo de residencia máximo que se obtuvo al trabajar con los tres niveles de variación en la etapa de sostenimiento fue de 4 minutos con lo que se explica que en el presente trabajo esta variable no presentara efecto significativo comparado a los tiempos reportados por Sew et al. (2014).

3.7 Ácido Ascórbico

La concentración de ácido ascórbico obtenida para el jugo fresco de sandía fue 3.81 mg/100 mL. Estudios realizados por Oms-Oliu et al. (2009) muestran valores de ácido ascórbico de 2.06 mg/100 mL, lo cual es ligeramente inferior y puede deberse a una diferencia en los cultivares de sandía investigados. Rawson et al. (2011) reporta valores de ácido ascórbico de 4.02 mg/100 mL.

Estos resultados son comparables para el jugo fresco y son consistentes con el presente estudio experimental. El jugo pasteurizado en sus diferentes condiciones experimentales presentó una concentración en un intervalo de 0.92 – 2.41 mg/100 mL, es decir, un porcentaje de retención de 24.23 – 63.28 %. Los puntos centrales del modelo fueron los que presentaron la mayor concentración residual de ácido ascórbico ~ 2.4 mg/100 mL.

En la Figura 23 se los efectos principales de los factores estudiados sobre la concentración residual de ácido ascórbico. El análisis de varianza realizado mostro que las variables que presentaron un efecto significativo sobre la degradación de ácido ascórbico fueron la presión del vapor y la velocidad de alimentación en términos lineales y la interacción de estos factores ($p < 0.05$).

Oms - Oliu et al. (2009) menciona que el ácido ascórbico es un compuesto extremadamente termosensible por lo que al aumentar temperaturas de calentamiento y disminuir la velocidad de flujo se obtendrá un incremento en la degradación de dicho compuesto. El flujo volumétrico fue una condición determinante en la operación ya modifica los tiempos de residencia.

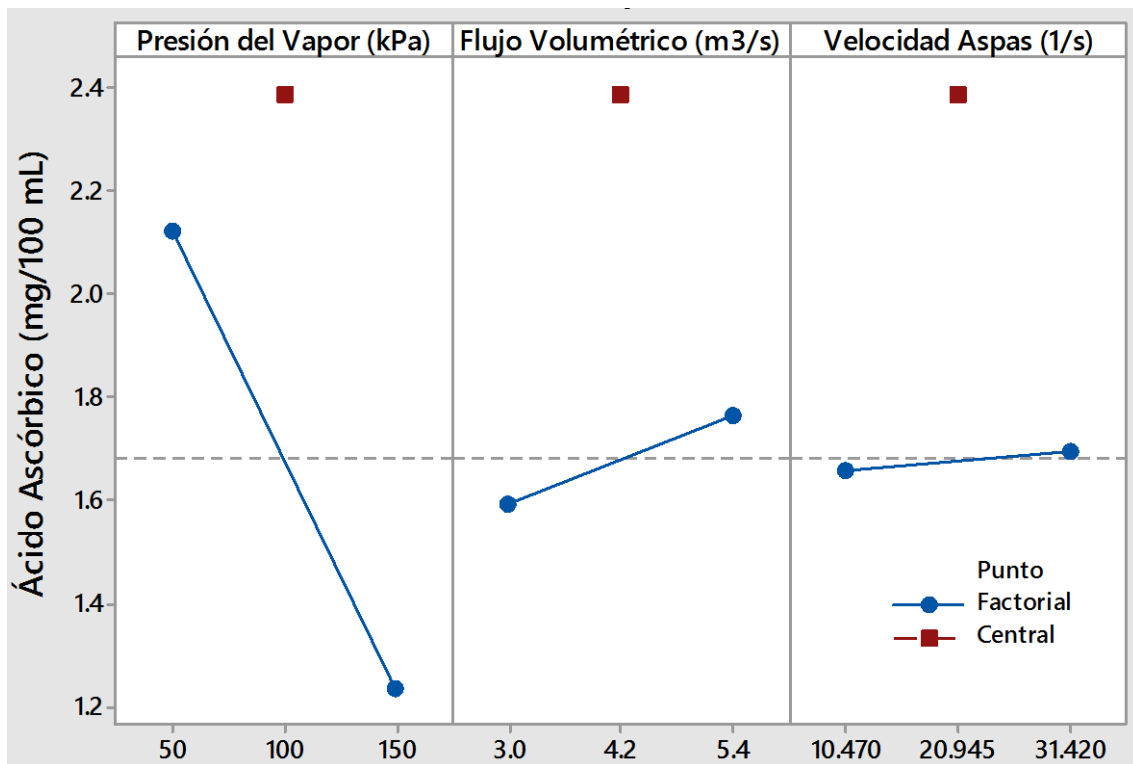


Figura 22. Interacciones obtenidas para la concentración de ácido ascórbico en los jugos.

Rawson et al. (2011) menciona que los factores que más influyen en la degradación del ácido ascórbico son tiempos prolongados de procesamiento y exposición del material a niveles elevados de energía. La degradación del ácido ascórbico incrementó conforme el

tiempo de procesamiento aumentó lo cual es congruente con el presente estudio experimental.

La Figura 23 muestra el porcentaje de retención de ácido ascórbico para los diferentes tratamientos térmicos en los jugos de sandía. Las condiciones a las cuales presentó una mayor retención (~63.28 %) fueron de 100 kPa de presión del vapor, 4.2×10^{-6} m³/s de flujo volumétrico y 20.94 s⁻¹ de velocidad de las aspas, las cuales son los puntos centrales del diseño. El ácido ascórbico es un compuesto inestable que en condiciones indeseables se descompone fácilmente, por lo que con un tratamiento más suave, mayor es la retención de dicho compuesto en los jugos (Odrizola-Serrano et al., 2008).

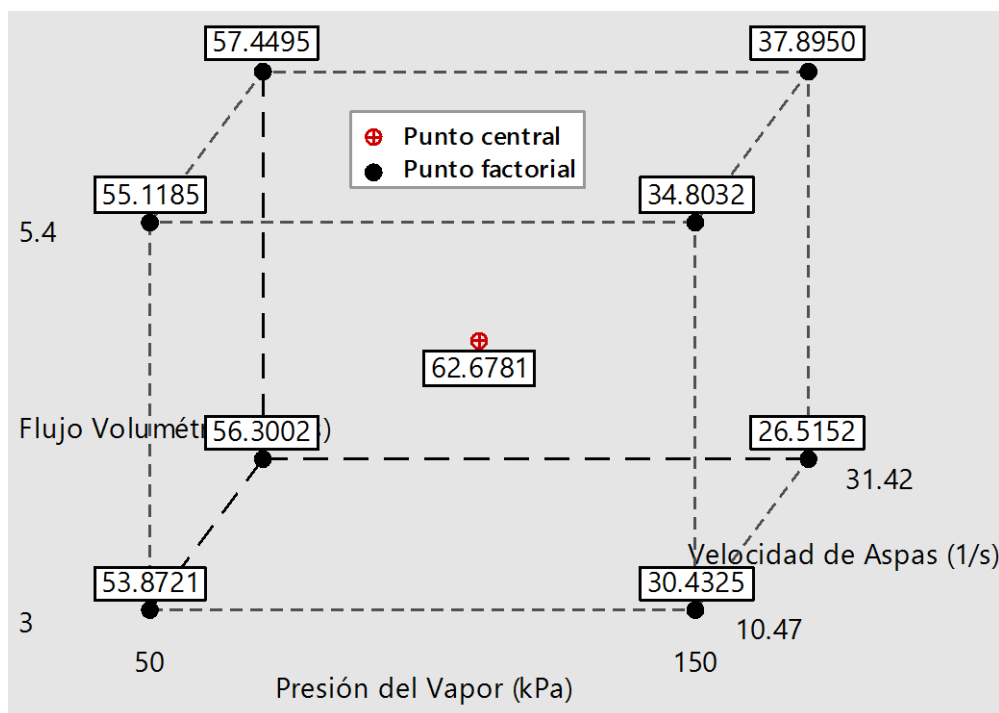


Figura 23. Diagrama de cubo para la retención de ácido ascórbico.

La degradación de esta importante molécula probablemente se debe a las reacciones químicas que involucran la oxidación a la forma dehidroascórbico (DHAA), hidrólisis del DHAA al ácido 2,3-dicetogulónico y la generación por polimerización de productos inactivos nutricionalmente (Dewanto et al., 2002). Cabe resaltar que aunque estos

cambios ocurran el ácido dehidroascórbico es una molécula biológicamente activa por lo cual la cuantificación de sus subproductos es de suma importancia.

3.8 Pectinmetilesterasa (PME)

La PME es una enzima péptica la cual está implicada en procesos en los cuales se degradan cadenas de homogalacturonanos que conforman las pectinas, al degradarse estas sustancias se provocan y catalizan cambios indeseables en el atractivo color rojo, viscosidad y sabor característico (Aguiló – Aguayo et al., 2010). Por lo anterior, la actividad de la PME se considera un parámetro importante en la calidad de muchos jugos incluyendo el de sandía. Si se reduce la actividad de la PME se limita la degradación de las sustancias pépticas, por lo tanto, las pérdidas ponderadas en la viscosidad y la estabilidad física y coloidal pueden ser disminuidas (Kimball, 1991; Rodrigo et al., 2006, Zhang et al., 2011).

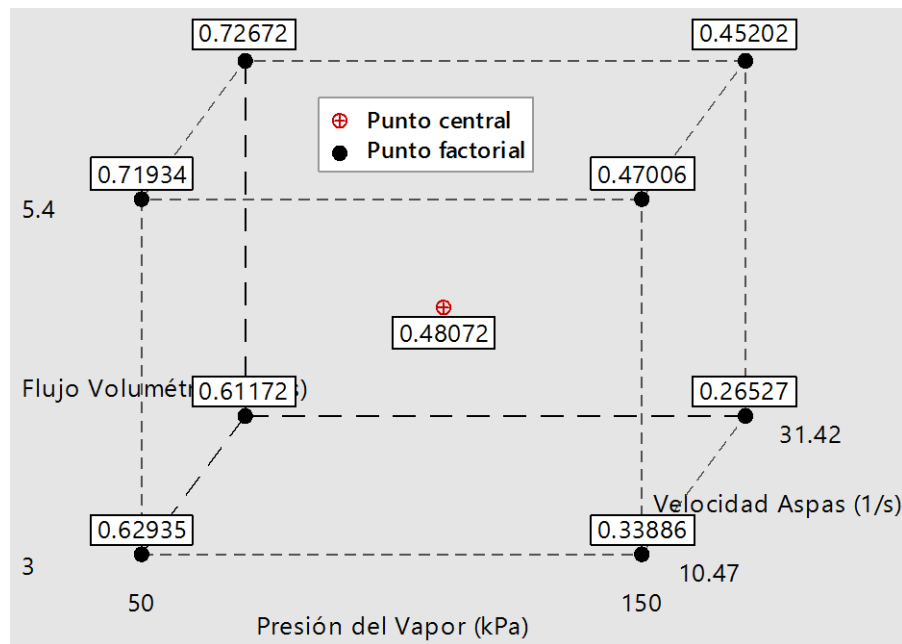


Figura 24. Diagrama de cubo para la actividad PME en los jugos de sandía.

La actividad PME para el jugo fresco fue de $\sim 1.23 \mu\text{mol}/\text{mL min}$. Las concentraciones de ácido galacturónico liberado encontradas para los diferentes tratamientos experimentales

oscilo entre 0.271 – 0.711 $\mu\text{mol}/\text{mL min}$ y se muestran en la Figura 24. La prueba de diferenciación de medias revela que los jugos pasteurizados y el control presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$). El ANOVA realizado mostró que todos los factores lineales como de interacción presentaron un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.05$).

Los cambios de turbidez en jugos por lo general están influenciados por la actividad de enzimas pectinolíticas tales como la PME y PG. El resto del éster metílico de la pectina se hidroliza parcialmente mediante la PME y el ácido poligalacturónico resultante se separa mediante la acción de la PG, disminuyendo la viscosidad y turbidez de los productos (Wong, 1995). Por lo tanto, la fuerte reducción de la actividad de PME obtenida después de la pasteurización puede alterar la reacción en cadena de la PME y la PG, evitando pérdidas en la viscosidad y turbidez de los jugos procesados (Aguiló-Aguayo et al., 2010).

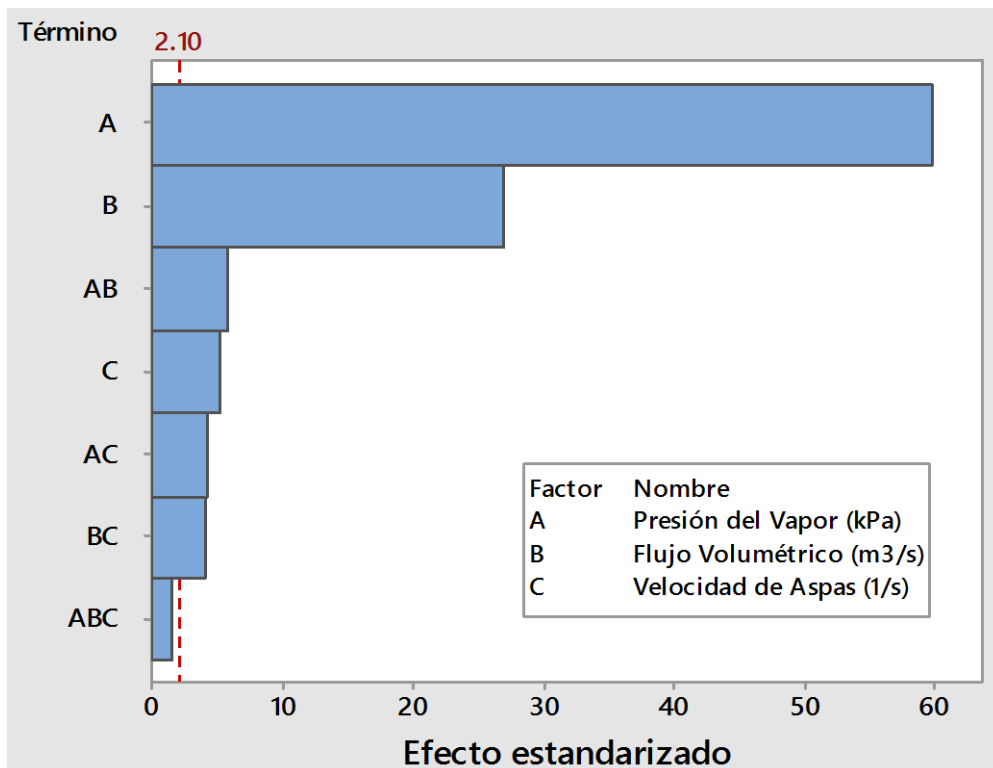


Figura 25. Diagrama de Pareto para la actividad residual relativa PME

La Figura 25 muestra el Pareto que pondera el efecto de las variables de operación, siendo la presión de vapor la variable con mayor efecto sobre la actividad de las PME's ($p < 0.05$). Este factor está correlacionado con la temperatura de calentamiento del equipo. Las PME's son generalmente inactivadas usando un proceso convencional de pasteurización (Sew et al., 2014). Como se ha mencionado antes, la pasteurización es un procedimiento relativamente suave entre los 50 – 90 °C. En un estudio de termoestabilidad realizado por Stückrath et al. (1998) se encontró que en un intervalo de temperatura de 40 – 70 °C la enzima es estable mientras que de 70 – 90 °C es medianamente sensible.

La temperatura que se alcanzó al trabajar con la máxima condición de operación (150 kPa) fue aproximadamente de 91 °C con la cual se obtuvo una AR de 20.70 %. Según diversos autores (Carbonell et al., 2005; Ingallinera et al., 2005; Osorio et al., 2008; Sentandreu et al., 2005; Torres et al., 2008) coinciden en que el valor promedio de actividad residual de la enzima PME en jugos tratados térmicamente debe ser de un 10 % para poder disminuir el riesgo de alterar las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y nutritivas del jugo. En artículos publicados existe una gran variación entre las temperaturas óptimas de inactivación de la enzima, esto debido al gran número de isoenzimas reportadas lo cual cambia según el tipo de producto que se esté utilizando.

Con esto se puede inferir que el motivo por el cual no se logró disminuir la actividad residual PME hasta niveles recomendados es debido a la presencia de isoenzimas de alto peso molecular las cuales estuvieron presentes en el jugo de sandía. Además, si se disminuye el flujo volumétrico se podría lograr un mayor tiempo de residencia con lo que se podrían obtener valores de actividad residual PME más bajos a los obtenidos (Osorio et al., 2008).

La actividad residual relativa de la PME más baja (20.70 %) fue al utilizar las condiciones de operación de 150 kPa, $3 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ y 31.42 s^{-1} en contraste con las condiciones experimentales a las cuales se obtuvo mayor actividad residual de la enzima (59.75 %) fueron de 50 kPa, $5.4 \times 10^{-6} \text{ m}^3/\text{s}$ y 31.42 s^{-1} . Estos resultados son comparables con los

obtenidos para jugo de sandía tratado térmicamente (90 °C – 60 s) por Aguiló-Aguayo et al. (2010) donde se reporta una pérdida substancial de la actividad PME del 50%.

3.9 Peroxidasa (POD)

La POD cataliza las reacciones de oxidación utilizando ya sea peróxidos u oxígeno como aceptor de hidrógeno, promoviendo la degradación de color, sabor y valor nutricional de los jugos. El mecanismo de acción de la POD implica la formación de complejos de donantes enzimas-hidrógeno, los cuales pueden ser fenoles, aminas u otros compuestos orgánicos. Por lo tanto, la POD podría reducir substancialmente los beneficios para la salud perdiendo nutrientes importantes como el ácido ascórbico y carotenoides (Hemeda & Klein, 1991; Davey et al., 2000; Wrostand, 2000). La actividad POD para el jugo fresco fue de ~ 0.1296 U/mL min. Las velocidades de reacción de la POD encontradas para los diferentes tratamientos experimentales oscilo entre 0.0131 – 0.0497 U/mL min y se representan en la Figura 24.

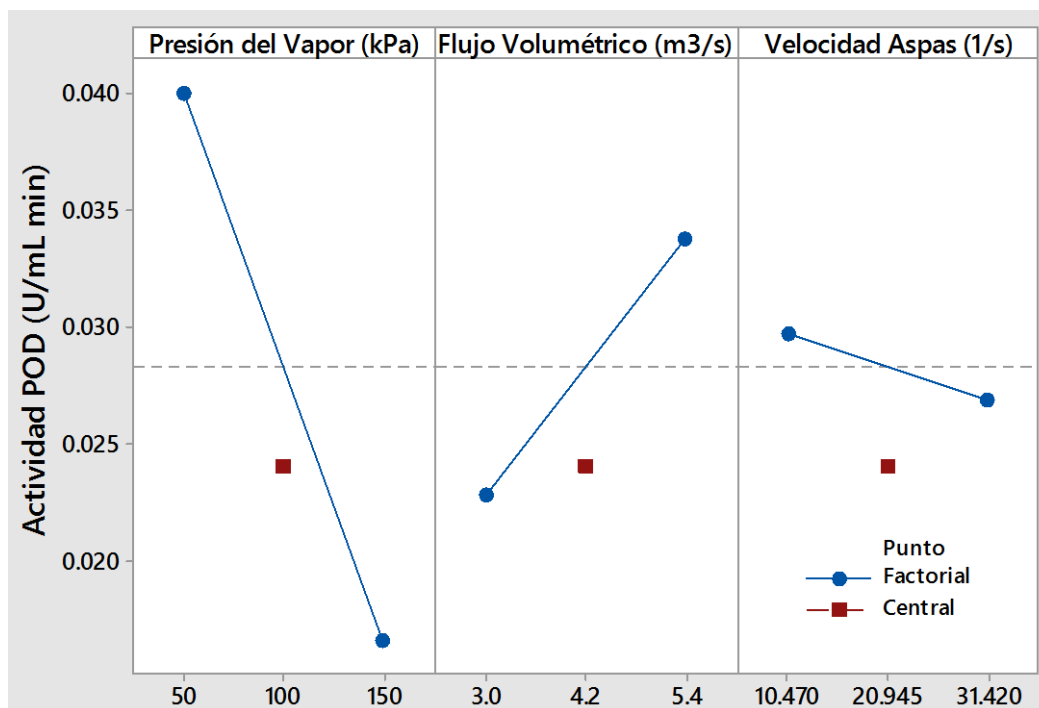


Figura 26. Interacciones obtenidas para la actividad de la enzima POD.

La ARR de la POD fue en mayor medida afectada por la presión del vapor reduciéndola hasta 10.12% operando el equipo a 150 kPa, 3×10^{-6} m³/s y 31.42 s⁻¹. Las condiciones a las cuales se obtuvo mayor ARR POD (38.99 %) fueron a las condiciones de 50 kPa, 5.4×10^{-6} m³/s y 10.47 s⁻¹. La prueba de diferenciación de medias revela que los jugos pasteurizados y el control presentan diferencias estadísticamente significativas (p<0.05). El ANOVA realizado mostró que todos los factores lineales como de interacción presentaron un efecto estadísticamente significativo (p<0.05) excepto la interacción velocidad de flujo*velocidad de las aspas (p<0.05).

La Figura 27 muestra que la variable con mayor efecto fue la presión de vapor seguida por el flujo volumétrico, teniendo un efecto significativo (p< 0.05). La presión del vapor modifica la temperatura en el proceso de pasteurización, por tanto se obtiene una menor ARR de POD, es decir, se inhibe con mayor eficiencia dicha enzima. Por el contrario si se trabaja la presión de vapor más baja (50 kPa) la ARR de POD aumenta y por tanto se inhibe en menor proporción la enzima (38.99 %).

Estudios realizados por Goncalves et al. (2010) sobre la enzima POD en zanahoria sometida a escaldado, menciona que cuando se realizó el tratamiento térmico a 70 °C y 40 min la AR es de 5 % y al aumentar la temperatura a 90 °C no se detectó actividad de la enzima después de 2 min de tratamiento. Lo anterior puede corroborar que la temperatura es el factor que afecta más a la actividad de la POD. Por otro lado, Aguiló-Aguayo et al. (2010) menciona que para obtener una inactivación representativa de la enzima se necesitan tratamientos alrededor o superior de los 68 °C, esto indica que estudios anteriores han encontrado temperaturas óptimas de inactivación de la enzima y por lo tanto es una variable crucial en la inactivación de POD.

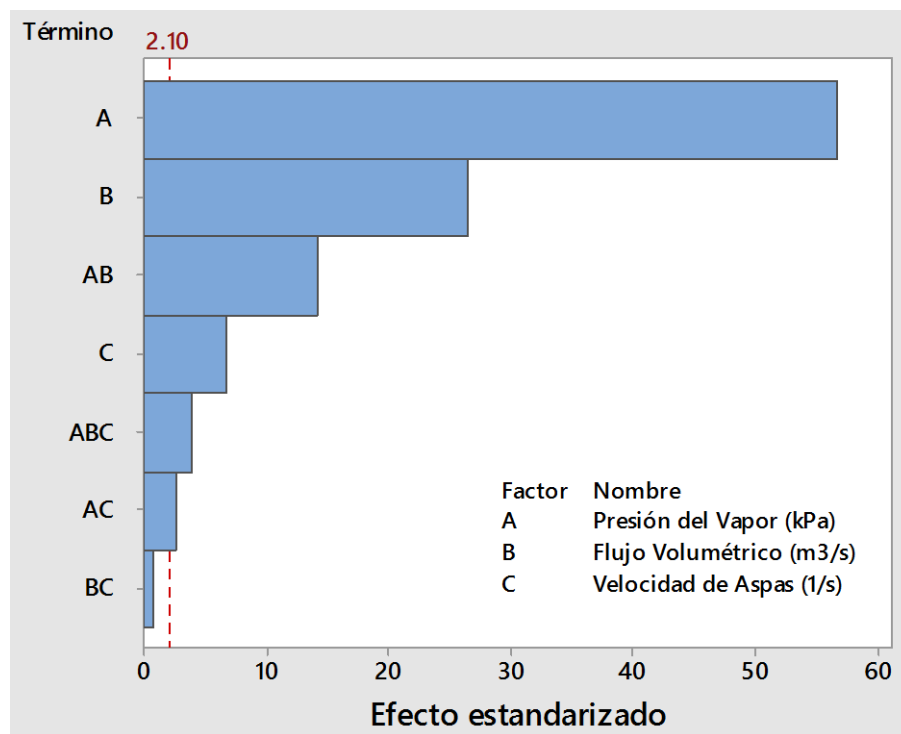


Figura 27. Diagrama de Pareto para la ARR POD (%)

La POD se puede presentar en dos formas con diferentes susceptibilidades a la desnaturalización por calor (lábil y formas resistentes) (Soysal & Soylemez, 2005). Cuando se usan temperaturas menores a 70 °C la degradación es menor debido a que se inhibe la forma lábil presente en el producto. Por otra parte cuando se trabajan temperaturas superiores a los 75 °C el proceso de degradación es más simple y se inhiben también las formas resistentes de la enzima (Goncalves et al., 2010). La temperatura aproximada del producto en la etapa de mantenimiento fue alrededor de 90 °C, lo que sugiere la termorresistencia de la POD con respecto a la actividad residual registrada.

Con respecto a los valores registrados de temperatura en la etapa de mantenimiento (80 – 95 °C) se puede inferir que la inhibición de la enzima es efectiva incluso con la forma resistente. Una disminución en la actividad de la enzima aceptable representa una pérdida del 90 % de la actividad original lo cual se logró (ARR=10.12 %) al operar el equipo a la presión del vapor más alta (150 KPa).

El flujo volumétrico se relaciona con los tiempos de residencia y presenta diferencias significativas sobre la ARR POD. Cuando se trabaja con el nivel bajo del diseño de) flujo volumétrico ($3 \times 10^{-6} \text{m}^3/\text{s}$) en combinación con el nivel más alto de presión del vapor (150 kPa) se obtienen los valores más bajos de ARR de la enzima mientras que si se combina con 50 kPa se obtienen valor altos de ARR POD. De lo anterior se puede rescatar que a temperaturas mayores (90 °C) combinado con tiempos de residencia mayores existe una mayor inactivación de la enzima.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron nanocápsulas de α -tocoferol como sistema de talla submicrónica con gran estabilidad coloidal y con poca probabilidad de agregación. Las propiedades fisicoquímicas (pH, ° brix y acidez titulable) de los jugos fueron tomadas como parámetros de control antes y después de la pasteurización las cuales presentaron cambios significativos a las diferentes condiciones de operación lo que se puede correlacionar al impacto del tratamiento térmico.

Se estableció la influencia de las condiciones de operación en el proceso de pasteurización en jugo de sandía adicionado con nanocápsulas de α -tocoferol. Las variables con mayor influencia estadística fueron la presión del vapor y la velocidad de alimentación en términos lineales y de interacción obtenidos en el modelo.

Existe una correlación directa de los parámetros de perfil de color con el contenido total de licopeno a las diferentes condiciones experimentales, lo cual se ve reflejado en la relación directamente proporcional que presentan la cromaticidad y los mg/L de licopeno en los jugos pasteurizados.

El proceso de pasteurización tuvo un gran impacto sobre los compuestos termolábiles del jugo de sandía, presentando pérdidas mayores al 50% en el contenido de ácido ascórbico y la concentración de polifenoles totales. Por otra parte se logró inhibir de manera efectiva las actividades de las enzimas PME y POD que son las causantes en los cambios de turbidez y estabilidad de las muestras.

El jugo de sandía es altamente perecedero ya que las enzimas actúan de manera acelerada, también posee un alto contenido de azúcares, por lo que la actividad microbiana actúa rápidamente. En el mercado mexicano no es usual encontrar jugos de sandía por los aspectos arriba mencionados, sin embargo la pasteurización en ISR es una opción factible

y económica que logra inhibir estos compuestos alterantes como las enzimas y los microorganismos.

Se tiene que trabajar en la modelación cinética de dichos parámetros y encontrar las condiciones experimentales que maximicen la retención de los compuestos bioactivos de los jugos y minimicen las actividades enzimáticas causantes de deterioro en los productos.

Se propone incluir aspectos microbiológicos, que acompañados de la modelación cinética de los compuestos involucrados, se tenga más evidencia que garanticen la pasteurización del producto, así como incluir diferentes condiciones de almacenamiento para poder determinar su fecha de consumo preferente y conocer las medidas a tomar para comercializar el producto.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, F. 2006. Química Orgánica. Editorial Universidad Estatal a Distancia. Costa Rica.
- Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2010). Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Innovative food science & emerging technologies*, 11(2), 299-305.
- Alimentarius, C. (2005). Norma general del codex para zumos (jugos) y néctares de frutas. *Codex Stan*, 247, 21.
- APV Crepaco, Inc. (1999). SSHE Handbook; Design & application of scraped surface heat exchangers, U.S.A.
- ARMFIELD LTD (1993). Instruction manual. Scraped surface heat exchanger, viscous food products. Issue 3.
- AROMICS (2008). Plant cell Wall aromatics: influence on degradation of biomass. BioFru SCI.
- Awad, M., & Young, R. E. (1980). Avocado pectinmethylesterase activity in relation to temperature, ethylene and ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 105(5), 638-641.
- Baccouche, A., Ennouri, M., Felfoul, I. & Attia H. (2013). A physical stability study of whey-based prickly pear beverages. *Food Hydrocolloids*, 33, 234-244.
- Badui D. S. (2006). Química de los alimentos. *México: Alhambra Mexicana*.
- Barba, L., Rodríguez, R., & Córdova, J. L. (1991). *Manual de técnicas microquímicas de campo para la arqueología*. UNAM.
- Barreiro, J. A., & Sandoval, A. J. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Equinoccio.
- Barrett, D. M., Beaulieu, J. C., & Shewfelt, R. (2010). Color, flavor, texture, and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: desirable levels, instrumental and sensory measurement, and the effects of processing. *Critical reviews in food science and nutrition*, 50(5), 369-389.
- Bartley, G. E., & Scolnik, P. A. (1995). Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *The Plant Cell*, 7(7), 1027.

- Beaulieu, J. C., & Grimm, C. C. (2001). Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1345-1352.
- Beaulieu, J. C., & Lea, J. M. (2006). Characterization and semiquantitative analysis of volatiles in seedless watermelon varieties using solid-phase microextraction. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20), 7789-7793.
- Berg JM, Stryer L & Tymoczko JL (2008) Bioquímica. 6ª edición. Editorial Reverté. Barcelona, España.
- Bilati, U., Allémann, E., Doelker, E. (2005). Strategic approaches for overcoming peptide and protein instability within biodegradable nano- and microparticles. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 59, 375–388.
- Bramley, P. M. (2002). Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *Journal of experimental botany*, 53(377), 2107-2113.
- Calvo, P., Vila-Jato, J.L., Alonso, M.J. (1997). Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. *Int. J. Pharm.* 153, 41–50. Cattani, V.B., Pohlmann, A.R., Costa, T.D., 2008. Pharmacokinetic evaluation of indomethacin ethyl ester-loaded nanoencapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, 363, 214–216.
- Cano, M. P., Hernandez, A., & Ancos, B. D. (1997). High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *Journal of Food Science*, 62(1), 85-88.
- Carbonell, J. V., Contreras, P., Carbonell, L., & Navarro, J. L. (2006). Pectin methylesterase activity in juices from mandarins, oranges and hybrids. *European Food Research and Technology*, 222(1-2), 83-87.
- Cedillo Jiménez, C. A., & Hernández López, J. L. (2010). Determinación de la actividad enzimática de peroxidasa (catalasa). Verano Ciencia Region Centro/UAQ.
- Chahal, G. S., & Saini, S. P. (1999). Storability of juice from new hybrid watermelon variety. *Indian Food Packer*, 53(5), 12-17.
- Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S., & Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *International journal of food microbiology*, 79(1), 131-141.

- Chichester, C. O., Stadtman, F. H., & Mackinney, G. (1952). On the Products of the Maillard Reaction1. *Journal of the American Chemical Society*, 74(13), 3418-3420.
- Chun, J., Lee, J., Ye, L., Exler, J., & Eitenmiller, R. R. (2006). Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2), 196-204.
- Collado-Fernández M, M.L. González-Sanjosé & R. Pino-Navarro. (2000). Evaluation of turbidity: correlation between Kerstesz turbidimeter and nephelometric turbidimeter. *Food Chemistry*, 71: 563-66.
- Davey, M. W., Montagu, M. V., Inzé, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., & Fletcher, J. (2000). Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 825-860.
- Davies, M. B., Austin, J., & Partridge, D. A. (1991). *Vitamin C: its chemistry and biochemistry*. royal society of chemistry.
- de La Torre, L. G., & de Pinho, S. C. (2015). Lipid matrices for nanoencapsulation in food: liposomes and lipid nanoparticles. In *Food nanoscience and nanotechnology* (pp. 99-143). Springer International Publishing.
- Dehkordi, K. S., Fazilati, M. A., & Hajatzadeh, A. (2015). Surface Scraped Heat Exchanger for cooling Newtonian fluids and enhancing its heat transfer characteristics, a review and a numerical approach. *Applied Thermal Engineering*, 87, 56-65.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- Doreyappa Gowda, I. N., & Jalali, S. (1995). Studies on juice making from watermelon fruits. *Indian Food Packer*, 49, 33-33.
- D'Souza, M. C., Singha, S., & Ingle, M. (1992). Lycopene concentration of tomato fruit can be estimated from chromaticity values. *HortScience*, 27(5), 465-466.
- Dziezak, J. D. (1988). Emulsifiers: The interfacial key to emulsion stability. *Food technology (USA)*.
- Eitenmiller, R. R., & Lee, J. (2004). *Vitamin E: food chemistry, composition, and analysis*. CRC Press.

- Fellows, P. T., & Javier, F. (2000). *Tecnología del procesado de los alimentos: principios y prácticas*. Acribia.
- Feng, M., Ghafoor, K., Seo, B., Yang, K., & Park, J. (2013). Effects of ultraviolet-C treatment in Teflon®-coil on microbial populations and physico-chemical characteristics of watermelon juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 133-139.
- Fernández-Vázquez, R., Stinco, C.M., Hernanz, D., Heredia, F.J. & Vicario, I.M. (2013). Colour training and colour differences thresholds in orange juice. *Food Quality and Preference*, 30, 320–327.
- Fessi, H., Puisieux, F., Devissaguet, J.P., Ammoury, N., Benita, S. (1989). Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International Journal of Pharmaceutics*. 55, R1–R4.
- Fleischmann, A., Darsow, M., Degtyarenko, K., Fleischmann, W., Boyce, S., Axelsen, K. B., & Apweiler, R. (2004). IntEnz, the integrated relational enzyme database. *Nucleic acids research*, 32(suppl_1), D434-D437.
- Fuchs, M., C. Turchiuli, M. Bohin, M. Cuvelier, C. Ordonnaud, M. Peyrat and E. Dumoulin. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1): 27-35.
- García, P. F., & Mirafuentes, H. (1993). Manual de producción de sandía de humedad residual en el Estado de Tabasco. *INIFAP-SARH. Tabasco*, 16.
- Garti, N. (1997). Double emulsions—scope, limitations and new achievements. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 123, 233-246.
- Ghafoor, K., & Choi, Y. H. (2012). Polyphenoloxidase deactivation in juice from “Campbell Early” grapes by heating under vacuum pressure. *Journal of Food Process Engineering*, 35(3), 391-402.
- Gonçalves, E. M., Pinheiro, J., Abreu, M., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. (2010). Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. *Journal of Food Engineering*, 97(4), 574-581.
- González Sánchez, H. M., González Palomares, S., & Rosales Reyes, T. (2011). Caracterización de compuestos volátiles durante el secado por aspersión de jugo de sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.). *Investigación y Ciencia*, 19(51).

- González-Palomares, S., Hernández-Estrada, A., González-Sánchez, M., Bustos-Santana, H. R., & Rosales-Reyes, T. (2009). Comparación de dos métodos de extracción de compuestos volátiles en sandía (*Citrullus lanatus* T.). *Revista Quehacer Científico en Chiapas*, 1(7), 23-27.
- González-Reza R. M. (2012). Optimización energética y cinética del proceso de pasteurización de un fluido modelo en un intercambiador de superficie raspada. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Reza, R. M., Quintanar-Guerrero, D., Flores-Minutti, J. J., Gutiérrez-Cortez, E., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2015). Nanocapsules of β -carotene: Thermal degradation kinetics in a scraped surface heat exchanger (SSHE). *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 124-130.
- Grigoriev, D., Miller, R. (2009). Mono- and multilayer covered drops as carriers. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 14, 48-59.
- Guevara Bretón, N., & Jiménez Munguía, T. (2008). Encapsulación: técnicas y aplicaciones en la industria alimentaria. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* 2, 36-49.
- Gut, J. A., & Pinto, J. M. (2003). Selecting optimal configurations for multisection plate heat exchangers in pasteurization processes. *Industrial & engineering chemistry research*, 42(24), 6112-6124.
- Hagerman, A. E., & Austin, P. J. (1986). Continuous spectrophotometric assay for plant pectin methyl esterase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(3), 440-444.
- Haminiuk, C. W., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S., & Peralta, R. M. (2012). Phenolic compounds in fruits—an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10), 2023-2044.
- Hayoglu, I. A., & Fenercioglu, H. (1990). A research on the possibility of using watermelon juice in fruit juice industry. *Gida*, 15, 329-332.
- Hemeda, H. M., & Klein, B. P. (1991). Inactivation and regeneration of peroxidase activity in vegetable extracts treated with antioxidants. *Journal of food science*, 56(1), 68-71.
- Hernández-Sánchez, H., & Gutiérrez-López, G. F. (Eds.). (2015). *Food Nanoscience and Nanotechnology*. Springer.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. (2003). *Biomaterials* 24. 4283-4300.

- Hinojosa, S. R. (1983). *Experiencias obtenidas en el ensayo de rendimiento de seis variedades de sandía (Citrullus vulgaris) en la zona de la Chontalpa, Tabasco* (Doctoral dissertation, Tesis profesional. Colegio Superior de Agricultura Tropical, H. Cárdenas. Tabasco, 60).
- Hirsch, A. R., Förch, K., Neidhart, S., Wolf, G., & Carle, R. (2008). Effects of thermal treatments and storage on pectin methylesterase and peroxidase activity in freshly squeezed orange juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(14), 5691-5699.
- Ingallinera, B., Barbagallo, R. N., Spagna, G., Palmeri, R., & Todaro, A. (2005). Effects of thermal treatments on pectinesterase activity determined in blood oranges juices. *Enzyme and microbial technology*, 36(2), 258-263.
- Johansson, K., El-Ahmad, M., Friemann, R., Jörnvall, H., Markovič, O., & Eklund, H. (2002). Crystal structure of plant pectin methylesterase. *FEBS letters*, 514(2-3), 243-249.
- Kanasawud, P., & Crouzet, J. C. (1990). Mechanism of formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids in aqueous medium. 1. β -Carotene degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(1), 237-243.
- Khoe, S., & Yaghoobian, M. (2009). An investigation into the role of surfactants in controlling particle size of polymeric nanocapsules containing penicillin-G in double emulsion. *European journal of medicinal chemistry*, 44(6), 2392-2399.
- Kim, S. J., Matsushita, Y., Fukushima, K., Aoki, D., Yagami, S., Yuk, H. G., & Lee, S. C. (2014). Antioxidant activity of a hydrothermal extract from watermelons. *LWT-Food Science and Technology*, 59(1), 361-368.
- Kimball, D. A. (1991). Citrus processing. In D. A. Kimbal (Ed.), *Quality control and technology* (pp. 117–125). New York: Van Nostrand Reinhold.
- Kreith, F., Manglik, R. M., & Bohn, M. S. (2012). *Principios de transferencia de calor*. Cengage Learning Editores.
- Kunishima, N., Fukuyama, K., Matsubara, H., Hatanaka, H., Shibano, Y., & Amachi, T. (1994). Crystal structure of the fungal peroxidase from *Arthromyces ramosus* at 1.9 Å resolution: structural comparisons with the lignin and cytochrome c peroxidases. *Journal of molecular biology*, 235(1), 331-344.

- Lakkis, J. M. (2016). *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. John Wiley & Sons.
- Lan, X. Y., Wang, J. Q., Bu, D. P., Shen, J. S., Zheng, N., & Sun, P. (2010). Effects of heating temperatures and addition of reconstituted milk on the heat indicators in milk. *Journal of food science*, 75(8).
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest biology and technology*, 20(3), 207-220.
- Lertsutthiwong, P., Noomun, K., Jongaroonngamsang, N., Rojsitthisak, P., Nimmannit, U. (2008). Preparation of alginate nanocapsules containing turmeric oil. *Carbohydrate polymers*. 74, 209–214.
- Lewis, M. J., Heppell, N., & Hastings, A. (2000). Continuous thermal processing of foods—Pasteurization and UHT Sterilization.
- Liao, M. L., & Seib, P. A. (1987). Selected reactions of L-ascorbic-acid related to foods. *Food Technology*, 41(11), 104.
- Ly-Nguyen, B., Loey, A. V., Smout, C., ErenÖzcan, S., Fachin, D., Verlent, I., & Hendrickx, M. E. (2003). Mild-Heat and High-Pressure Inactivation of Carrot Pectin Methylesterase: A Kinetic Study. *Journal of Food Science*, 68(4), 1377-1383.
- Maca, M. P., Osorio, O., & Mejía-España, D. F. (2013). Inactivación térmica de pectinmetilesterasa en tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Información tecnológica*, 24(3), 41-50.
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International journal of food science & technology*, 41(1), 1-21.
- Mani López, E. 2003. Conservación de jugo de sandía aplicando irradiación ultravioleta de onda corta. Tesis Licenciatura. Ingeniería de Alimentos. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Escuela de Ingeniería, Universidad de las Américas Puebla.
- Marshall, M. R., Marcy, J. E., & BRADDOCK, R. (1985). Effect of total solids level on heat inactivation of pectinesterase in orange juice. *Journal of Food Science*, 50(1), 220-222.

- Marx, M., Stuparic, M., Schieber, A., & Carle, R. (2003). Effects of thermal processing on trans-cis-isomerization of β -carotene in carrot juices and carotene-containing preparations. *Food Chemistry*, 83(4), 609-617.
- Meléndez-Martínez, A.J., Gómez-Robledo, L., Melgosa, M., Vicario, I.M. & Heredia, F.J. (2011). Color of orange juices in relation to their carotenoid contents as assessed from different spectroscopic data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 837-844.
- Moinard-Chécot, D., Chevalier Y., Briançon S., Beney L., & Fessi, H. (2008). Mechanism of nanocapsules formation by the emulsion-diffusion process. *Journal of Colloid and Interface Science*, 317 (2), 458-468.
- Moraga, N., Torres, A., Guarda, A., & Galotto, M. J. (2011). Non-newtonian canned liquid food, unsteady fluid mechanics and heat transfer prediction for pasteurization and sterilization. *Journal of Food Process Engineering*, 34(6), 2000-2025.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 385(1-2), 113-142.
- Morales-Blancas, E. F., Chandia, V. E., & Cisneros-Zevallos, L. (2002). Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from broccoli, green asparagus and carrots. *Journal of Food Science*, 67(1), 146-154.
- Narong, P. & James, A.E. (2006). Effect of pH on the ζ -potential and turbidity of yeast suspensions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 274,130-137.
- National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods (NACMCF). 2006. Requisite Scientific Parameters for Establishing the Equivalence of Alternative Methods of Pasteurization. *Journal of Food Protection*, 69(5): 1190-1216.
- Nayar, N. M., & More, T. A. (1998). Cucurbits. 340.
- Neethirajan, S., & Jayas, D. S. (2011). Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and bioprocess technology*, 4(1), 39-47.
- NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas.
- NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados Brix.

- Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2008). Effect of minimal processing on bioactive compounds and color attributes of fresh-cut tomatoes. *LWT-Food Science and Technology*, *41*(2), 217-226.
- Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2009). Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. *Food Chemistry*, *115*(4), 1312-1319.
- Osorio, O., Martínez-Navarrete, N., Moraga, G., & Carbonell, J. V. (2008). Effect of thermal treatment on enzymatic activity and rheological and sensory properties of strawberry purees. *Food Science and Technology International*, *14*(5_suppl), 103-108.
- Pedroza Islas, R., Macías Bravo, S., & Vernon Carter, E. J. (2002). Oil thermo-oxidative stability and surface oil determination of biopolymer microcapsules. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, *1*(1-2).
- Perkins-Veazie, P., Collins, J. K., Pair, S. D., & Roberts, W. (2001). Lycopene content differs among red-fleshed watermelon cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *81*(10), 983-987.
- Pinto-Reis, C. Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J., Veiga F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, Volume 2, Issue 1, 8–21.
- Polydera, A. C., Galanou, E., Stoforos, N. G., & Taoukis, P. S. (2004). Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Journal of Food Engineering*, *62*(3), 291-298.
- Primo, E. (1997). *Química de los alimentos. Síntesis SA*.
- Puppo, C., Chapleau, N., Speroni, F., de Lamballerie-Anton, M., Michel, F., Añón, C., & Anton, M. (2004). Physicochemical modifications of high-pressure-treated soybean protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(6), 1564-1571.
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., & McClements, D. J. (2012). Inhibition of β -carotene degradation in oil-in-water nanoemulsions: influence of oil-soluble and water-soluble antioxidants. *Food chemistry*, *135*(3), 1036-1043.

- Quek, S. Y., Chok, N. K., & Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5), 386-392.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Doelker, E., & Fessi, H. (1998). Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharmaceutical research*, 15(7), 1056-1062.
- Quintanar-Guerrero, D., Fessi, H., Allémann, E., & Doelker, E. (1996). Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly (D, L-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 143(2), 133-141.
- Quintanar-Guerrero, D., Tamayo-Esquivel, D., Ganem-Quintanar, A., Alléman, E., & Doelker, E. (2005). Adaptation and optimization of the emulsification-diffusion technique to prepare lipidic nanospheres. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26, 211-218.
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*. Tata McGraw-Hill Education.
- Rao, C. S., & Hartel, R. W. (2006). Scraped surface heat exchangers. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(3), 207-219.
- Rawson, A., Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P. J., & O'Donnell, C. (2011). Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International*, 44(5), 1168-1173.
- Riverol, C., & Napolitano, V. (2005). Estimation of fouling in a plate heat exchanger through the application of neural networks. *Journal of chemical technology and biotechnology*, 80(5), 594-600.
- Robinson, 1991. D.S. Robinson, Peroxidases and catalases in foods. In: D.S. Robinson and N.A.M. Eskin, Editors, *Oxidative Enzymes in Foods*. Elsevier Applied Science, London. 1-47.
- Rodrigo, D., Cortes, C., Clynen, E., Schoofs, L., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2006). Thermal and high-pressure stability of purified polygalacturonase and pectin

- methylesterase from four different tomato processing varieties. *Food Research International*, 39, 440–448.
- Sakharov, I. Y., Ardila, G. B., & Sakharova, I. V. (1999). Peroxidasas de plantas tropicales. *Revista Colombiana de Química*, 28(1), 97-106.
- Salaya Domínguez, J. M., Carrillo Avila, E., Palacios Velez, O. L., Aceves Navarro, L. A., & Juárez López, J. F. (2002). Respuesta del cultivo de sandía (*Citrullus vulgaris* schrad) al potencial del agua en el suelo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 25(2).
- Selvaraj, Y., & Kumar, R. (1989). Studies on fruit softening enzymes and polyphenol oxidase activity in ripening mango (*Mangifera indica* L.) fruit. *Journal of food science and technology*, 26(4), 218-222.
- Sentandreu, E., Carbonell, L., Carbonell, J. V., & Izquierdo, L. (2005). Effects of heat treatment conditions on fresh taste and on pectinmethylesterase activity of chilled mandarin and orange juices. *Revista de Agarquímica y Tecnología de Alimentos*, 11(3), 217-222.
- Sew, C. C., Ghazali, H. M., Martín-Belloso, O., & Noranizan, M. A. (2014). Effects of combining ultraviolet and mild heat treatments on enzymatic activities and total phenolic contents in pineapple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 511-516.
- Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology advances*, 19(8), 627-662.
- Sharma, R., Kaur, D., Oberoi, D. P. S., & Sogi, D. S. (2008). Thermal degradation kinetics of pigments and visual color in watermelon juice. *International journal of food properties*, 11(2), 439-449.
- Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., & Liu, X. (2006). Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76(4), 664-669.
- Shyla, B., & Nagendrappa, G. (2013). Redox spectrophotometric method involving electrolytically generated manganese (III) sulphate with diphenylamine for the determination of ascorbic acid present in the samples of various fruits, commercial juices and sprouted food grains. *Food chemistry*, 138(2), 2036-2042.
- Simpson, R. (Ed.). (2009). *Engineering aspects of thermal food processing*. CRC Press.

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Smirnoff, N., & Wheeler, G. L. (2000). Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 35(4), 291-314.
- Soysal, Ç. & Söylemez, Z. (2005). Kinetics and inactivation of carrot peroxidase by heat treatment. *Journal of Food Engineering*, 68(3), 349-356.
- Stückrath, R., Pedrero, A., Tarabla, P., & Trujillo, L. (1998). Cuantificación y caracterización de las pectinas de cranberry (*Vaccinium macrocarpon*). *Alimentaria*, (293), 23-26.
- Sukhorukov, G. B., Donath, E., Lichtenfeld, H., Knippel, E., Knippel, M., Budde, A., & Möhwald, H. (1998). Layer-by-layer self assembly of polyelectrolytes on colloidal particles. *Colloids and Surfaces A: physicochemical and engineering aspects*, 137(1-3), 253-266.
- Tarazona-Díaz, M. P., & Aguayo, E. (2013). Assessment of by-products from fresh-cut products for reuse as bioactive compounds. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 19(5), 439-446.
- Tarazona-Díaz, M. P., Viegas, J., Moldao-Martins, M., & Aguayo, E. (2011). Bioactive compounds from flesh and by-product of fresh-cut watermelon cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5), 805-812.
- Thompson, A. K. (1998). *Tecnología post-cosecha de frutas y hortalizas*. Armenia, Colombia: Servicio Nacional de Aprendizaje. Editorial Kinesis, Convenio SENA-Reino Unido, producido con el apoyo del Servicio Nacional de Aprendizaje de Colombia (SENA), el Departamento para el Desarrollo Internacional (Department for International Development-DFID) y el Instituto de Recursos Naturales (Natural Resources Institute-NRI) del Reino Unido, Armenia, Colombia, 268.
- Thomson, C. D., Robinson, M. F., Butler, J. A., & Whanger, P. D. (1993). Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11. 1.9) in blood components of New Zealand women. *British Journal of Nutrition*, 69(2), 577-588.
- Torres, E. F., Bayarri, S., Sampedro, F., Martinez, A., & Carbonell, J. V. (2008). Improvement of the fresh taste intensity of processed clementine juice by separate pasteurization

- of its serum and pulp. *Revista de Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 14(6), 525-529.
- Valdiviezo Macías, J. A. (2010). *Extracción de carotenoide licopeno a partir de los rechazos post cosecha del mercado interno de citrullus lanatus (sandia) para su futura aplicación en alimentos* (Bachelor's thesis).
- Vasconcellos, J. A. (2002). Alimentos funcionales. Conceptos y Beneficios para la Salud. The world of Food Science. IFT.
- Wang, S., Lin, T., Man, G., Li, H., Zhao, L., Wu, J., & Liao, X. (2014). Effects of anti-browning combinations of ascorbic acid, citric acid, nitrogen and carbon dioxide on the quality of banana smoothies. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 161-173.
- Wong, D. W. S. (1995). Pectic enzymes. In D. W. S. Wong (Ed.), *Food enzymes* (pp. 212–230). New York: Chapman & Hall.
- Wong, D. W., Voragen, A. G., & Whitaker, J. R. (2003). *Handbook of food enzymology*. Marcel Dekker.
- Wrolstad, R. E. (2000). Colorants. *Food Chemistry: Principles and Applications*. GL Christen und JS Smith (Eds.). Science and Technology System, West Sacramento, CA.
- Xianquan, S., Shi, J., Kakuda, Y., & Yueming, J. (2005). Stability of lycopene during food processing and storage. *Journal of medicinal food*, 8(4), 413-422.
- Yajima, I., Sakakibara, H., Ide, J., Yanai, T., & Kazuo, H. (1985). Volatile flavor components of watermelon (*Citrullus vulgaris*). *Agricultural and Biological Chemistry*, 49(11), 3145-3150.
- Yang, C. S., Suh, N., & Kong, A. N. T. (2012). Does vitamin E prevent or promote cancer?. *Cancer prevention research*, 5(5), 701-705.
- Zambrano-Zaragoza, M.L., Mercado-Silva, E., Gutiérrez-Cortez, E., Castaño-Tostado, E., & Quintanar-Guerrero, D. (2011). Optimization of nanocapsules preparation by the emulsion-diffusion method for food applications. *LWT - Food Science and Technology*, 44(6), 1362-1368.
- Zapata, A. (2003). Problemática actual de la alimentación rural y posibilidades de recuperación. *Historia de la alimentación rural y tradicional. Recetario de Almería*, 17-28.

Zhang, C., Trierweiler, B., Li, W., Butz, P., Xu, Y., Rüfer, C. E., & Zhao, X. (2011). Comparison of thermal, ultraviolet-c, and high pressure treatments on quality parameters of watermelon juice. *Food Chemistry*, 126(1), 254-260.