



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**Incorporación de  $\alpha$ -tocoferol de talla  
submicrónica en jugo de sandía  
pasteurizado almacenado en refrigeración**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERA EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**KARLA ANEL MARTÍNEZ GARCÍA**

ASESORES:

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

CUAUTITLÁN IZCALLI EDO. DE MÉXICO 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



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 CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTÁZAR 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

Incorporación de  $\alpha$  - tocoferol de talla submicrónica en jugo de sandía pasteurizado almacenado en refrigeración.

Que presenta la pasante: Karla Anel Martínez García

Con número de cuenta: 307265186 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 10 de Octubre de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	I.B.Q. José Jaime Flores Minutti	
<b>VOCAL</b>	Dra. Carolina Moreno Ramos	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Ricardo Moisés González Reza	
<b>1er. SUPLENTE</b>	I.A. Edgar Francisco Arechavaleta Vázquez	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dr. Enrique Fuentes Prado	

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

LMCF/cga\*

## **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

**A mi madre:** Por el apoyo que siempre nos has brindado y por enseñarnos que no existen limitaciones para lograr tus metas aunque el mundo te quiera hacer creer lo contrario, que se puede salir adelante a pesar de las dificultades que se te presenten. ¡Te amo!

**A mis abuelos:** Abuelita, hace 8 años que te fuiste pero aún sigues presente en todo momento, te extraño pero sé que me acompañas siempre. Abuelito, gracias a ti por siempre estar, todavía tenemos mucho tiempo para compartir.

**A mis hermanos:** Aarón y Carlos, porque a nuestra manera nos mostramos cariño y apoyo. También compartieron algunas noches de desvelo conmigo. ¡Gracias morros!

**A mis amigos:** Gaby, Dany, Karina, Marlene, Majo, Ángel, Chucho, Erikita, Puntos, Quitzia, Miguel e Ivette, entre muchos otros. Por el apoyo y los momentos que compartimos y seguiremos compartiendo. No hubiera sido lo mismo sin ustedes.

**A mis maestros:** Gracias a todos ellos porque cada uno contribuyó en mayor o menor medida en mi formación como ingeniero compartiendo un poco de sus conocimientos y experiencias.

**A mis asesores:** Ricardo Moisés González Reza y Ma. De La Luz Zambrano Zaragoza por el tiempo, la paciencia y la confianza, por guiarme adecuadamente en este proceso, por siempre tener la disponibilidad de compartir sus conocimientos y por darme la oportunidad de trabajar con ellos durante todo este tiempo.

**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.

**A la UNAM:** A mi amada universidad, por abrirme sus puertas y permitirme formar parte de esta gran comunidad. ¡Por mi raza hablará el espíritu!

# ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS .....	IV
RESUMEN.....	I
INTRODUCCIÓN.....	II
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO.....	1
1.1    Jugo de Sandía.....	1
1.1.1    Producción y consumo de sandía en México.....	2
1.1.2    Variedades.....	3
1.1.3    Composición .....	4
1.1.4    Química de los Jugos de Fruta.....	5
1.2    Pasteurización .....	6
1.2.1    Intercambiador de Superficie Raspada.....	7
1.3    Parámetros Físicoquímicos .....	9
1.3.1    Color.....	9
1.3.2    Turbidez .....	11
1.3.3    pH.....	11
1.3.4    Sólidos Solubles.....	12
1.4    Compuestos Termolábiles en la Sandía .....	12
1.4.1    Licopeno.....	12
1.4.2    Ácido Ascórbico.....	14
1.4.3    Polifenoles .....	16
1.5    Actividad Enzimática .....	19
1.5.1    Definición.....	20
1.5.2    Pectinmetilesterasas (PME) .....	20
1.5.3    Peroxidasas (POD) .....	22
1.5.4    Métodos de Inhibición .....	23

1.5.5	Inhibición por Tratamiento Térmico .....	24
1.5.6	Actividad Residual Relativa .....	25
1.6	Nanotecnología .....	26
1.6.1	Definición.....	26
1.6.2	Aplicaciones en Alimentos .....	26
1.6.3	Sistema Submicrónico .....	27
1.6.4	Emulsión .....	28
1.6.5	Nanoemulsión .....	30
1.6.6	Nanocápsulas .....	32
1.6.7	Nanoesferas .....	33
1.6.8	Encapsulación de Nutracéuticos.....	33
1.7	Antioxidantes.....	37
1.7.1	$\alpha$ - Tocoferol.....	37
CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL .....		39
2.1	Objetivos.....	39
2.1.1	Objetivo General.....	39
2.1.2	Objetivos Particulares.....	39
2.2	Materiales y Métodos.....	40
2.2.1	Materiales .....	40
2.2.2	Preparación de los sistemas de talla submicrónica.....	40
2.2.3	Tamaño de Partícula (TP) e Índice de Polidispersión (IPD).....	41
2.2.4	Potencial Zeta ( $\zeta$ ) .....	42
2.2.5	Elaboración del Jugo de Sandía .....	42
2.2.6	Pasteurización y Almacenamiento Refrigerado .....	43
2.2.7	Refractometría.....	43
2.2.8	Potenciometría .....	43
2.2.9	Colorimetría.....	44
2.2.10	Turbidimetría .....	44
2.2.11	Contenido de Licopeno.....	44

2.2.12	Fenoles Totales .....	45
2.2.13	Ácido Ascórbico .....	46
2.2.14	Pectinmetilesterasa (PME) .....	46
2.2.15	Peroxidasa (POD) .....	47
2.2.16	Actividad Residual Relativa (ARR) .....	48
2.2.17	Análisis Estadístico .....	48
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....		49
3.1	Caracterización de los sistemas de talla submicrónica .....	49
3.2	Sólidos Solubles .....	50
3.3	pH .....	52
3.4	Colorimetría .....	54
3.4.1	Cambio Total de Color ( $\Delta E$ ) .....	54
3.5	Turbidimetría .....	56
3.6	Contenido de Licopeno.....	58
3.7	Fenoles Totales.....	60
3.8	Ácido Ascórbico.....	62
3.9	Actividades Enzimáticas .....	64
3.9.1	Pectinmetilesterasa (PME) .....	64
3.9.2	Peroxidasa (POD) .....	66
CONCLUSIONES .....		69
RECOMENDACIONES.....		70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		71

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Variedades de sandía comercializadas en México .....	3
<b>Cuadro 2.</b> Composición de Sandía por 100 g de porción comestible (Moreiras, O. y col, 2013). .....	4
<b>Cuadro 3.</b> Nanoestructuras y sus descripciones esquemáticas (Huang 2012). .....	28
<b>Cuadro 4.</b> Propiedades de diferentes tipos de emulsión.....	29
<b>Cuadro 5.</b> Diferentes tratamientos aplicados a los jugos de sandía.....	42
<b>Cuadro 6.</b> Propiedades de los sistemas dispersos con $\alpha$ -tocoferol. ....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Sandía ( <i>Citrullus lanatus</i> ) Charleston grey.....	1
<b>Figura 2.</b> Intercambiador de calor de superficie raspada (Geankoplis, 1998). .....	8
<b>Figura 3.</b> Espectro de luz visible (Giancoli, 2006). .....	9
<b>Figura 4.</b> Estructura química de licopeno (Periago y col, 2001).....	13
<b>Figura 5.</b> Estructura ácido ascórbico (Arágones-Moreno, 2015).....	15
<b>Figura 6.</b> Reacción entre ácido L-ascórbico y diclorofenol indofenol. ....	16
<b>Figura 7.</b> Estructuras químicas de sustancias flavonoides más usuales. ....	18
<b>Figura 8.</b> Estructura tridimensional de la enzima PME (Johansson et al., 2002). .....	21
<b>Figura 9.</b> Estructura tridimensional de la enzima POD (Kunishima et al., 1994).....	23
<b>Figura 10.</b> Estructuras de diferentes tipos de tensoactivos (Hernández-Sánchez y Gutiérrez-López, 2015). .....	30
<b>Figura 11.</b> Estructura general de emulsiones y nanoemulsiones.....	31
<b>Figura 12.</b> Esquema estructural de a) nanocápsulas y b)nanoesferas. ....	33
<b>Figura 13.</b> Estructura química de alfa-tocoferol (Cheung, 2015).....	37
<b>Figura 14.</b> Evolución de los sólidos solubles en los diferentes tratamientos del jugo de sandía. ....	51
<b>Figura 15.</b> Cambios en el pH de los diferentes tratamientos del jugo de sandía. ....	53

<b>Figura 16.</b> Cambios totales de color evaluados en las diferentes muestras durante su almacenamiento refrigerado.....	55
<b>Figura 17.</b> Cambios en la turbidez de los jugos asociados a la adición de $\alpha$ - tocoferol...57	57
<b>Figura 18.</b> Evolución de la concentración de licopeno en el jugo de sandía durante su almacenamiento refrigerado.....	59
<b>Figura 19.</b> Evolución de los fenoles totales de las muestras en los diferentes tratamientos realizados.....	61
<b>Figura 20.</b> Cambios en la concentración de ácido ascórbico de los jugos durante su almacenamiento.....	63
<b>Figura 21.</b> Actividad residual relativa de la PME en los jugos de sandía durante su almacenamiento refrigerado.....	65
<b>Figura 22.</b> Actividad residual relativa de la POD en los jugos de sandía durante su almacenamiento refrigerado.....	67

## RESUMEN

El consumo de jugo de sandía en la población mundial ha ido incrementando de manera significativa en los últimos años, esto debido a las propiedades antioxidantes que proveen sus componentes los cuales ayudan a evitar enfermedades degenerativas y en algunos casos, ciertos tipos de cáncer.

El objetivo del presente trabajo fue disminuir la oxidación de compuestos nutraceuticos en el jugo después del procesamiento térmico y durante el almacenamiento en refrigeración. Esto se logró por medio de la adición de  $\alpha$ -tocoferol de talla submicrónica, el cual es un compuesto con altas propiedades antioxidantes y es muy utilizado en la industria alimentaria.

La sandía fue comprada en el mercado del centro de Cuautitlán de Romero Rubio en el Estado de México, al momento de obtener el jugo, éste fue filtrado en una malla de 150  $\mu$ m y colocado en envases de vidrio de 250 mL. Posteriormente se añadieron los sistemas submicrónicos para finalmente almacenar las muestras en refrigeración a 4°C. Se realizaron pruebas espectrofotométricas para determinar la concentración de licopeno, ácido ascórbico, fenoles totales y actividad residual de PME y POD. También se determinaron el pH, °Brix, turbidez y parámetros de perfil de color (\*L, \*a, \*b) como medidas de la calidad del jugo.

En base a los resultados, el sistema que mostró mayor efecto benéfico fue el de las nanocápsulas ya que hubo menor pérdida de compuestos fitoquímicos como el licopeno (reflejado en los cambios de color), ácido ascórbico (cambios en pH) y fenoles totales. Se presentó una disminución de la actividad enzimática residual relativa de POD y PME, ésta última se refleja en los cambios de turbidez obtenidos en las muestras durante su almacenamiento en refrigeración.

## INTRODUCCIÓN

El jugo de sandía es cada vez más popular entre la población debido a su sabor refrescante, color atractivo y beneficios potenciales para la salud (propiedades antioxidantes, anti-carcinógeno). Sin embargo, los tratamientos térmicos tradicionales conducen a cambios de color y viscosidad dinámica del jugo de sandía, los cuales son principalmente catalizados por sus enzimas intrínsecas, Peroxidasas (POD) y Pectinmetilesterasas (PME) respectivamente (Zhang y col, 2011). Reducir la actividad de POD en jugo de sandía es una meta importante para evitar el deterioro del color y formación de sabores indeseables. Así también puede reducir sustancialmente beneficios del jugo lo que conduce a la pérdida de algunos nutrientes importantes como ácido ascórbico y carotenoides (Aguiló y col, 2010b).

Por otra parte, disminuyendo la actividad de las PME se podría limitar la degradación de sustancias pécticas. Así, las pérdidas concomitantes en viscosidad y estabilidad pueden ser disminuidas (Aguiló y col, 2010a). La pérdida de licopeno también ha sido reportada durante el procesamiento y almacenamiento de sandía (Zhang y col, 2011). El procesamiento térmico es el método más común para extender la vida de anaquel de jugos de fruta por inactivación de microorganismos y enzimas (Vegara y col, 2013). La pasteurización es un proceso necesario en la producción de jugo. Sin embargo, la sandía es un tipo de fruta termosensible cuyas propiedades organolépticas y nutricionales pueden ser destruidas inevitablemente por el calor (Liu y col, 2012).

El procesamiento térmico también puede resultar en el agotamiento de antioxidantes de origen natural en alimentos. La principal causa de degradación de licopeno durante el procesamiento térmico son oxidación e isomerización. Del mismo modo el ácido ascórbico es termolábil y altamente sensible a las condiciones del proceso (Rawson y col, 2011). La nanotecnología ha introducido innovaciones en productos alimenticios en escala nanométrica que afecta las características texturales, color, atributos sensoriales,

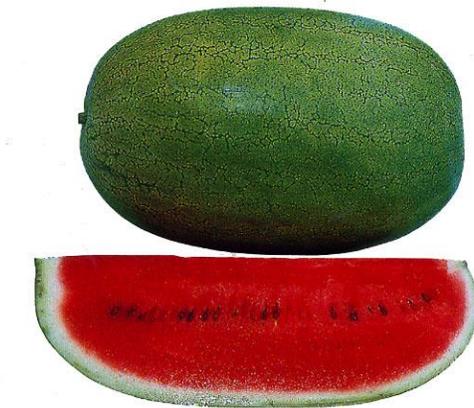
estabilidad fisicoquímica y liberación controlada de agentes bioactivos y puede tener un efecto potencial en la vida útil del alimento (Zambrano-Zaragoza y col, 2014b). Se prevé que la nanotecnología traerá beneficios significativos en la industria agroalimentaria y en consumidores incluyendo métodos de producción de alimentos más eficientes, desarrollo de alimentos funcionales que ofrezcan propiedades benéficas para la salud, incrementar la vida de anaquel de productos, alimentos procesados más higiénicos y mejora en la trazabilidad y seguridad de productos (Handford y col. 2015).

La protección de compuestos bioactivos como vitaminas, antioxidantes, proteínas y lípidos se ha logrado mediante el uso de diferentes técnicas de nanoencapsulación (González-Reza y col., 2015). Entre los vitámeros de vitamina E, el alfa tocoferol es un compuesto fenólico lipofílico de origen vegetal que actúa como un eliminador de radicales libres. El gran interés en la encapsulación de alfa tocoferol surge porque éste componente es sensible al calor, la luz y el oxígeno (Noronha y col. 2013).

## CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 Jugo de Sandía

La sandía (*Citrullus lanatus*), es un fruto que se consume con frecuencia en muchos países (Kim y col. 2014). Es una planta herbácea perteneciente a la familia de las cucurbitáceas que produce frutos de gran tamaño protegidos por una corteza dura y lisa de color verde brillante, su pulpa puede ser de color rojo, anaranjado o rosado y tiene numerosas semillas de color negro, blanco rojizo o castaño. La sandía (Figura 1) es un fruto no climatérico y por tanto, para conseguir una calidad óptima debe recolectarse cuando está completamente maduro. México ocupa el primer lugar a nivel mundial en exportación de este fruto, los principales estados productores son Sonora, Jalisco y Chihuahua (Agro, 2014).



**Figura 1.** Sandía (*Citrullus lanatus*) Charleston grey.

De acuerdo con la NOM-173-SCFI-2009, se entiende como jugo de fruta al “producto líquidos sin fermentar, pero fermentable obtenido al exprimir frutas en buen estado, debidamente maduras frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha, clarificado o no, y sometido al tratamiento adecuado que asegura su conservación en el envase. No debe contener corteza y semillas, ni materia extraña objetable.”

La aceptación en el mercado del jugo de sandía está incrementando a nivel mundial debido a sus propiedades sensoriales, físicas y nutricionales (Aguiló-Aguayo y col., 2010b). Los pigmentos, vitaminas y minerales que contiene pueden proporcionar beneficios a la salud, así como reducir la incidencia de enfermedades coronarias y algunos tipos de cáncer como el de cervix, pulmón y tracto digestivo debido a la composición del jugo. Sin embargo, debido a su pH casi neutro y alta actividad de agua, la cantidad de productos de jugo de sandía que se encuentran en el mercado, es limitada utilizando a menudo mezclas con jugos de frutas más ácidas (Liu y col. 2012; Aganovic y col. 2015).

### **1.1.1 Producción y consumo de sandía en México**

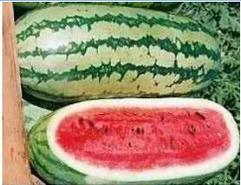
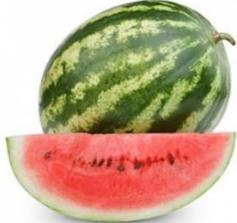
En México la producción de sandía está dividida en 27 estados de los cuales Sonora, Chihuahua y Jalisco son los principales productores. En conjunto, ellos aportan más de la mitad de la producción total a nivel nacional (Sonora con 36.7%, Jalisco con 10.3% y Chihuahua con 6.2%). En nuestro país el cultivo de sandía es considerado como uno de los más importantes, ya que es el principal exportador de ésta fruta a nivel mundial aportando el 22% del total en el comercio mundial, siendo Estados Unidos, Canadá y Holanda los principales consumidores (SAGARPA).

El servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP) dio a conocer la producción de sandía para el cierre 2016, siendo de 1,199 mil toneladas, volumen que representa 17.6% más que lo obtenido en 2015 y de acuerdo con datos del avance a agosto de 2017, la sandía reporta una producción de 984.3 mil toneladas, 82% de lo obtenido en 2016, mientras que su expectativa se sitúa en 1.4 millones de toneladas, 20.6% más que en 2016. En México aproximadamente entre el 60 y 65% de la producción es destinada para consumo nacional y se comercializan tanto la sandía Charleston como la sin semilla (SAGARPA).

### 1.1.2 Variedades

Las variedades de sandía son diferenciables generalmente por la forma y tamaño de los frutos, pues el resto de la planta no presenta variaciones notables. En México se siembran principalmente las variedades Jubilee, Peacock, Charleston gray, sangría y algunas variedades sin semilla, las cuales se describen brevemente a continuación:

**Cuadro 1.** Variedades de sandía comercializadas en México

VARIEDAD	DESCRIPCIÓN	Imagen
<b>Jubilee</b>	Destaca por su pulpa roja, brillante y cáscara con franjas marcadas, además de su alto contenido de azúcar. El fruto tiene forma alargada y peso aproximado de 12 a 14 kg.	
<b>Peacock</b>	Variedad de sandía de fruta ovalada, el peso va de 9 a 13 kg. La corteza es ligeramente surcada de color verde oscuro. Las semillas son pequeñas y de color café oscuro con un pequeño jaspeado café más oscuro. La pulpa es de color rojo-anaranjado.	
<b>Charleston grey</b>	La fruta es de forma oblonga y un tamaño de 60x25 cm. La corteza es medianamente gruesa, de color verde grisáceo con una venosidad verde oscura y las semillas grandes con venas café oscuro. La pulpa es rojo intenso, crujiente y dulce.	
<b>Sangría</b>	Por su sabor, color y textura marca el patrón de calidad dentro del mercado de sandías tipo Allsweet. Se caracteriza por poseer una pulpa de color rojo oscura, con un alto contenido de azúcares.	
<b>Sugar Baby</b>	Tiene forma redonda de 3 a 4 kg, la pulpa es rojo intenso, la corteza es dura y de color verde ligero, con surcados verde oscuro. La semilla es pequeña de color café oscuro.	

### 1.1.3 Composición

La sandía se divide en tres componentes que en peso total constituyen aproximadamente 68% mesocarpio, 30% epicarpio y 2% endocarpio. El jugo de sandía contiene algunos compuestos fenólicos, vitamina C y gran cantidad de licopeno que contribuye a su característico color rojo, además de que estos compuestos nutricionales presentan una gran actividad antioxidante (Liu y col. 2012). Es un fruto con gran contenido de agua (93%) y su valor calórico es muy bajo, contiene un promedio de 20 calorías por cada 100 gramos de pulpa. Aunque los niveles de vitaminas y sales minerales son poco relevantes en comparación con otras frutas, el potasio y el magnesio son los que se encuentran en mayor proporción, tal y como se muestra el Cuadro 2 (González-Palomares y col. 2009; Bellary y col. 2016)

**Cuadro 2.** Composición de Sandía por 100 g de porción comestible (Moreiras, O. y col, 2013).

Componente	mg /100 g	Componente	mg /100 g
<b>Energía (kcal)</b>	21	<b>Potasio</b>	120
<b>Proteínas</b>	4	<b>Fósforo</b>	5.5
<b>Lípidos</b>	0	<b>Tiamina</b>	0.02
<b>Carbohidratos</b>	45	<b>Riboflavina</b>	0.02
<b>Fibra</b>	5	<b>Eq. niacina</b>	0.3
<b>Agua</b>	94.6	<b>Vitamina B6</b>	0.7
<b>Calcio</b>	7	<b>Ácido fólico</b>	3
<b>Hierro</b>	0.3	<b>Ácido ascórbico</b>	5
<b>Magnesio</b>	11	<b>Vitamina A</b>	4
<b>Zinc</b>	0.1	<b>Carotenos</b>	24
<b>Sodio</b>	4	<b>Vitamina E</b>	0.1

Además del valor nutricional, también es importante conservar la calidad del producto durante su comercialización, ya sea como fruta fresca o como alimento procesado. El sabor, principalmente la dulzura y el aroma distintivos de la sandía tienen una función importante para determinar la calidad de este fruto y son generados por una combinación de compuestos no volátiles (azúcares, ácidos orgánicos, etc.) y volátiles (aldehídos, alcoholes, ésteres, entre otros) que se encuentran de forma natural en la sandía (González-Sánchez y col. 2011).

La calidad de un jugo se puede definir como el conjunto de atributos o características que identifica la naturaleza de éste y se puede ligar a parámetros de fácil medición como pH, color y °brix. La concentración de sólidos solubles que se refiere principalmente a la cantidad de azúcares que contiene un producto y afectan directamente su sabor, se determina mediante un refractómetro y no debe ser mayor a 18 °brix (FAO, 2008). El pH está relacionado con la vida útil del producto ya que éste puede disminuir por la presencia de microorganismos que producen ácidos orgánicos o también aumentar debido a la degradación del ácido ascórbico que generalmente es utilizado como antioxidante. De acuerdo con (Mata-Jimenez, 1992), el pH de la sandía generalmente se encuentra alrededor de 5.1. La pérdida de color se relaciona a la degradación de pigmentos naturales durante el tratamiento térmico y almacenamiento del jugo, que en el caso de la sandía se le atribuye principalmente al licopeno. Son parámetros importantes ya que está directamente relacionados con la calidad sensorial del producto.

#### **1.1.4 Química de los Jugos de Fruta**

En un jugo de fruta, el componente que más abunda es naturalmente el agua que representa en más del 90% del producto. Los solutos del mismo se pueden dividir en tres grupos según su importancia relativa. En el primero se encuentran los compuestos presentes en cantidades de gramos por litro. Constituyen lo esencial del extracto seco del jugo y participan en el equilibrio de su sabor (Romain y Thomas, 2010):

- ✓ Los azúcares solubles (100 a 200 g/L): glucosa, fructosa, sacarosa en proporciones variables según las frutas.
- ✓ Los ácidos orgánicos (2 a 15 g/L): ácido cítrico en los cítricos, ácido tartárico en la uva, ácido málico en manzana y uva, etc.

En el segundo grupo, se pueden agrupar los compuestos cuantitativamente menos abundantes pero que tienen una gran importancia tecnológica (Romain y Thomas, 2010):

- ✓ Las pectinas (0.1 a 2 g/L) que son macromoléculas de naturaleza glicídica de origen exclusivamente vegetal. Durante el prensado o maceración, son parcialmente incorporadas al jugo en cantidades variables según el estado de madurez de las frutas y desempeñan un papel importante en la estabilidad coloidal y la clarificación del jugo.
- ✓ Los compuestos nitrogenados (0.05 a 0.5 g/L) que intervienen en las reacciones de oscurecimiento no enzimático en respuesta a los tratamientos térmicos y ciertas enzimas que pueden tener efectos favorables o desfavorables sobre la elaboración del producto y su calidad organoléptica.
- ✓ Los compuestos fenólicos (0.1 a 5 g/L), sustratos del oscurecimiento enzimático y también implicados en el amargor y la astringencia de los jugos.

En un último grupo, se agrupan los solutos poco abundantes como los compuestos volátiles y las vitaminas que participan en las calidades aromática y nutricional de los jugos de frutas (Romain y Thomas, 2010).

## 1.2 Pasteurización

La palabra “pasteurización” tiene su origen en los trabajos del científico Francés Louis Pasteur. Es un tratamiento térmico cuya finalidad es la inactivación de enzimas y destrucción de microorganismos causantes de la alteración de los alimentos. Las temperaturas de procesamiento oscilan entre los 65 y 95°C dependiendo del tipo de tratamiento (HTST, LTLT, UHT). En la industria alimentaria, éste método se utiliza para destruir microorganismos patógenos presentes en alimentos como leche, cervezas y vino.

Sin embargo, la pasteurización no destruye esporas microbianas termoresistentes que se encuentran presentes, por lo que es necesario implementar otros métodos de conservación como refrigeración, atmósferas modificadas o adición de conservadores, que ayudan a mantener la estabilidad del producto y permitan su distribución. Sin embargo, existen algunos alimentos procesados que contienen constituyentes o ingredientes que bajo ciertas condiciones no permiten el crecimiento microbiano y no es necesario aplicar un método de conservación secundario (Simpson, 2009; Jay, 2005).

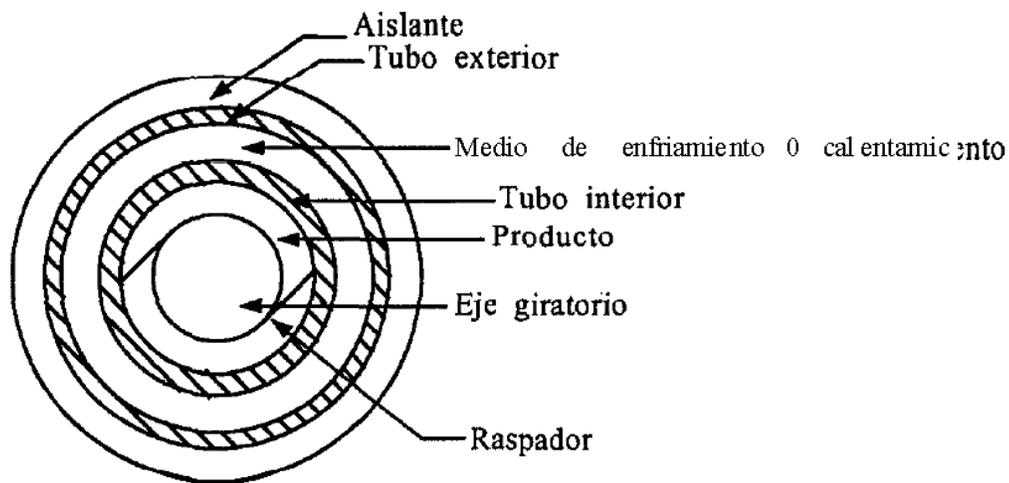
En la producción de jugos de frutas, la pasteurización tiene como principal finalidad el reducir la actividad enzimática a niveles aceptables. Algunas de las enzimas de mayor importancia para la industria son las peróxidasas y pectinmetilesterasa las cuales provocan cambios de color por oxidación de polifenoles y alteraciones en la turbidez del jugo respectivamente. Por otro lado, como consecuencia de la pasteurización al ser sometidos a temperaturas altas, se reducen también componentes deseables que son sensibles al calor como colorantes naturales, vitaminas, ácidos orgánicos, entre otros. (Pinchao y col. 2014), Por lo anterior, debido a la baja acidez, pH casi neutro (5.1 aproximadamente) y alta actividad de agua (0.99) del jugo de sandía, es necesario aplicar un tratamiento térmico que ayude a inactivar enzimas y microorganismos que pueden desarrollarse en éstas condiciones, pero también es necesario desarrollar nuevas tecnologías que ayuden a conservar la calidad y además eviten la pérdida significativa y deterioro del valor nutricional (Liu y col. 2012; Aganovic y col. 2015).

### **1.2.1 Intercambiador de Superficie Raspada**

Existen diferentes tipos de intercambiadores de calor que se utilizan en la pasteurización de alimentos líquidos. Los más utilizados en la industria son: intercambiadores de calor de doble tubo, son los más sencillos y se utilizan para líquidos con baja o alta viscosidad, con o sin partículas suspendidas; intercambiadores de calor de placas, que aumentan la turbulencia y el área de contacto de transferencia de calor, son utilizados principalmente en productos con viscosidades bajas y sin partículas suspendidas; intercambiadores de

calor de superficie raspada, los cuales evitan incrustaciones en la superficie del tubo y se utilizan generalmente para productos con altas viscosidades o con partículas suspendidas (Geankoplis, 1998).

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 al cual se acoplan láminas raspadoras, tal como se muestra en la Figura 2. El producto líquido fluye a velocidad baja por el tubo central entre el eje giratorio y el tubo interno. Los raspadores giratorios desprenden continuamente las acumulaciones superficiales, evitando así sobrecalentamientos localizados permitiendo una transferencia de calor más rápida y homogénea (Geankoplis, 1998).



**Figura 2.** Intercambiador de calor de superficie raspada (Geankoplis, 1998).

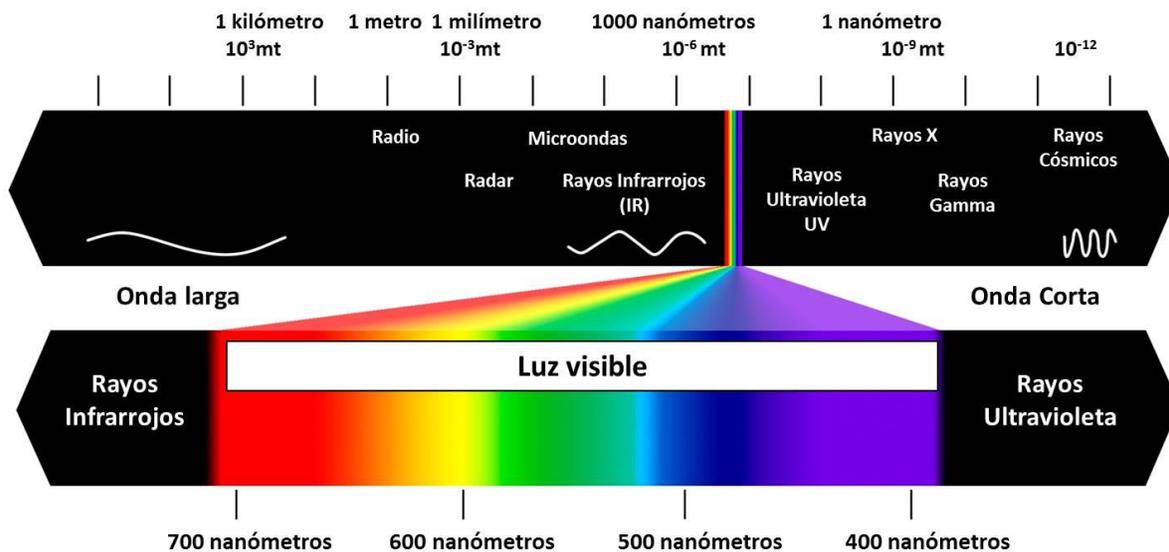
Como se mencionó anteriormente, éste tipo de intercambiadores de calor se utilizan principalmente para productos semi-sólidos, con altas viscosidades y para aquellos con partículas suspendidas o que pueden formar cristales. A pesar de esto, su uso no está limitado a líquidos que se comportan de manera más simple. Por ejemplo, cuando este equipo es utilizado en fluidos poco viscosos como el jugo de sandía, las cuchillas giratorias

no cumplen el trabajo de retirar incrustaciones de la superficie. Sin embargo, estos raspadores aumentan la turbulencia del líquido ayudando a que la transferencia de calor sea más uniforme durante el proceso.

### 1.3 Parámetros Fisicoquímicos

#### 1.3.1 Color

El color se percibe cuando la luz se refleja en la superficie del producto y llega a la retina del ojo. El color de la luz está relacionado con la frecuencia y longitud de onda de la luz. La luz visible (aquella a la que los ojos son sensibles) consta de frecuencias que van desde  $4 \times 10^{14}$  Hz hasta  $7.5 \times 10^{14}$  Hz, que corresponden a las longitudes de onda en el aire de aproximadamente 400 a 750 nm (Figura 3). (Giancoli, 2006).



**Figura 3.** Espectro de luz visible (Giancoli, 2006).

La absorción es una de las propiedades básicas de la luz que ocurre cuando ésta interacciona con un objeto. Cuando la luz blanca incide sobre un cuerpo éste absorbe total o parcialmente una parte del espectro y refleja o transmite una determinada gama de longitudes de onda que constituyen el color (Giancoli, 2006).

Otra característica importante de la luz es la reflexión. Este fenómeno sucede cuando la luz ilumina un cuerpo y rebota determinando la luminosidad que tiene dicho objeto. Los rayos que llegan a la superficie de un cuerpo rebotan siendo reflejados en una dirección determinada. Esta dirección depende del ángulo de incidencia de la luz sobre dicha superficie (Giancoli, 2006).

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, y es la característica organoléptica que es el primer estímulo hacia el consumidor. Es por esta razón 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. Está relacionada con la cantidad de luz que un cuerpo es capaz de reflejar.
- 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,  $\beta$ -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 y col., 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.

### 1.3.2 Turbidez

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

La turbidez es uno de los principales defectos de calidad en los jugos debido a que se va perdiendo durante el almacenamiento. Este fenómeno es causado por la enzima pectin metilesterasa, la cual tiene la función de degradar pectinas. Como consecuencia, el jugo pierde su turbidez característica, dando lugar a un líquido claro con precipitado en el fondo (López-Díaz y col. 2012).

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).

### 1.3.3 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  $5.37 \pm 0.15$  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.

#### **1.3.4 Sólidos Solubles**

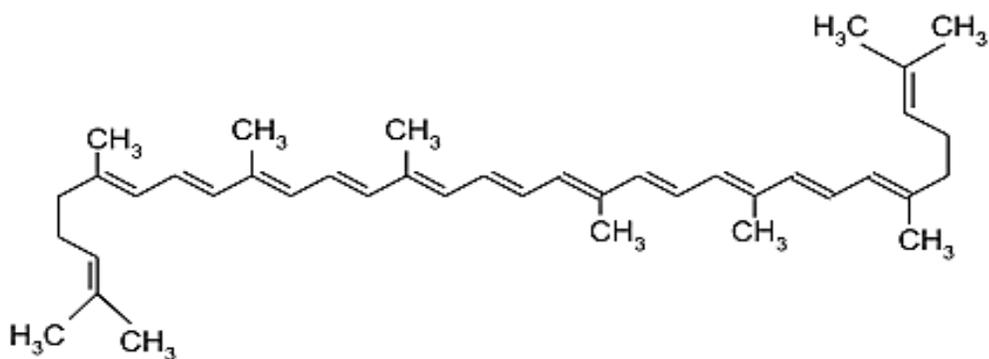
Los sólidos solubles totales son una medida de la densidad y se miden en grados Brix (°Brix). Un grado Brix se define como la densidad que tiene una solución de sacarosa al 1% lo que corresponde a un índice de refracción (Primo, 1997). Un jugo natural de sandía tiene valores promedio de  $8.10 \pm 0.63$  °Brix (Mani-López, 2003).

### **1.4 Compuestos Termolábiles en la Sandía**

#### **1.4.1 Licopeno**

En los últimos años, distintos organismos nacionales e internacionales han estudiado la importancia que tiene el consumo de alimentos de origen vegetal, esto con el objetivo de reducir el riesgo de determinadas enfermedades. Los efectos positivos que éstos aportan al cuerpo están relacionados con la presencia de sustancias fitoquímicas. En el caso de la sandía se le atribuye principalmente al gran contenido de licopeno, que gracias a su actividad biológica provee efectos benéficos para la salud y la nutrición humana (Periago y col. 2001).

El licopeno es un carotenoide con peso molecular de 537 g/mol. Se encuentra abundantemente en la naturaleza y se encarga de proporcionar el color rojo a la sandía (Choudary y col, 2009). Es un compuesto acíclico con una cadena alifática formada por cuarenta átomos de carbono y trece dobles enlaces de los cuales once son conjugados (Figura 4), característica que le confiere la particularidad de ser muy reactivo frente al oxígeno y los radicales libres (Vitale y col. 2010).



**Figura 4.** Estructura química de licopeno (Periago y col, 2001).

Muchas de las enfermedades como el cáncer y las enfermedades cardíacas, se asocian a los procesos de oxidación celular mediados por los radicales libres, siendo los carotenoides quienes juegan un papel importante en la prevención de éstas afecciones. Este efecto se basa en la principal propiedad biológica del licopeno, que es la de actuar como sustancia antioxidante secuestrando especies activas de oxígeno y deteniendo la reacción de formación de radicales libres (Periago y col. 2001).

Tomando en cuenta los efectos benéficos que el licopeno tiene en la salud humana, es importante evaluar su degradación durante el procesamiento y almacenamiento del jugo de sandía por medio de métodos y técnicas de cuantificación antes y después del procesamiento, de ésta manera se pueden desarrollar tecnologías que ayuden a reducir la oxidación y por lo tanto obtener un producto con mayores propiedades nutricionales.

Existen factores físicos y químicos que deben tomarse en cuenta a la hora de la extracción y manipulación de las muestras para minimizar la degradación oxidativa y evitar la aparición de isómeros no presentes de forma natural. Entre estos factores están las temperaturas elevadas, la exposición a la luz, al oxígeno, valores de pH extremos y superficies activas (Periago y col. 2001). Como todos los carotenoides, el licopeno es un compuesto lipofílico que es prácticamente insoluble en agua, por lo que es soluble en

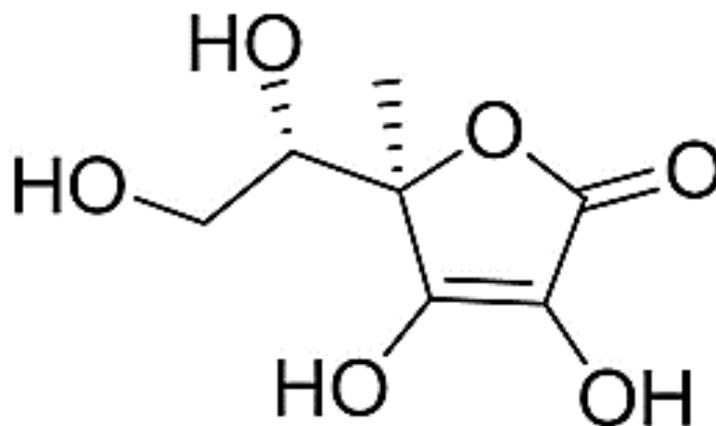
solventes orgánicos no polares como hexano, hidrocarburos halogenados o tetrahidrofurano.

Debido a su gran número de dobles enlaces conjugados, los carotenoides contienen un sistema reactivo rico en electrones que es susceptible a reaccionar con compuestos electrofílicos. Esta estructura es responsable de la alta sensibilidad de los carotenoides frente al oxígeno y la luz, factores que provocan oxidación lipídica dando como resultado la formación de radicales y peróxidos. Sin embargo, se pueden adicionar antioxidantes como el ácido ascórbico, tocoferoles, polifenoles y BHT (butil-hidroxi-tolueno) que ayudan a controlar éstas reacciones de isomerización y oxidación (Choudary y col. 2009; Sikorski, 2006).

#### **1.4.2 Ácido Ascórbico**

El ácido ascórbico es una de las vitaminas solubles en agua más importantes para la salud humana conocida por su alta actividad antioxidante. Participa en algunas funciones biológicas importantes como en la absorción de hierro, síntesis de colágeno y hormonas (cofactor enzimático) y neutralización de radicales libres resultantes del metabolismo celular.

Estas funciones previenen el envejecimiento, formación de cataratas, algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares. Además, el ácido ascórbico es muy utilizado en la industria alimentaria como aditivo que previene la oxidación de diversos productos (Spínola y col. 2014). De acuerdo con la FAO la sandía contiene aproximadamente 9.6 mg de ácido ascórbico por cada 100 g de parte comestible, lo que le atribuye la característica de ser una de las frutas con mayor contenido en ésta vitamina.

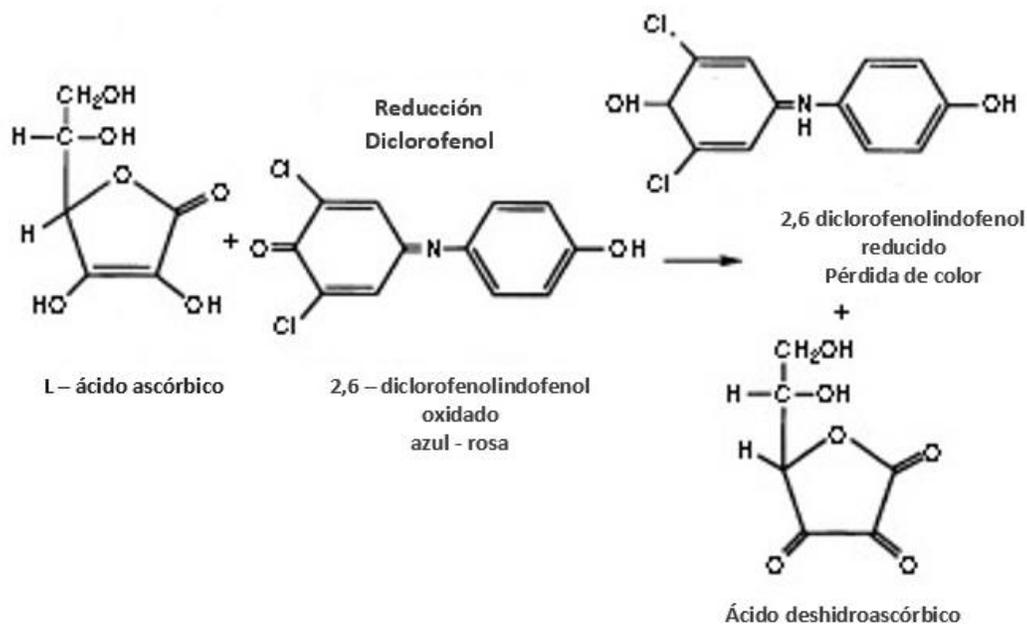


**Figura 5.** Estructura ácido ascórbico (Arágones-Moreno, 2015).

El ácido L-ascórbico es la forma activa de la vitamina C. Es una sustancia muy soluble en agua que posee propiedades ácidas y fuertemente reductoras debido a su estructura de enodiol conjugado con el grupo carbonilo de una lactona (Figura 5), lo que le confiere la propiedad de ser muy sensible a diversas formas de degradación siguiendo generalmente una cinética de primer orden (Eitenmiller, 2016). En los diferentes tipos de alimentos, la degradación se puede llevar a cabo por vía aerobia o anaerobia y depende de distintos factores como oxígeno, calor, luz, temperatura, pH (más estable a pH ácidos) tiempo de almacenamiento y presencia de iones metálicos como  $\text{Cu}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  los cuales se solubilizan y actúan como catalizadores a medida que aumenta la actividad de agua. (Bosch y col, 2013; Badui Dergal, 2006).

Para cuantificar el ácido ascórbico, se utilizan métodos tradicionales, entre los que se encuentran los métodos espectrofotométricos, fluorométricos, electroquímicos y quimioluminocentes. Los procedimientos cromatográficos, principalmente cromatografía de líquidos y electroforesis capilar, son excelentes opciones para medir distintos isómeros del ácido ascórbico. Sin embargo, la titulación por 2, 6-diclorofenol indofenol (técnica introducida por Tillmans en 1930) es el método más sencillo y más utilizado para cuantificar la presencia de éste ácido en alimentos. El diclorofenol indofenol es reducido

por el ácido L-ascórbico a una solución incolora mientras que éste último es oxidado a ácido deshidroascórbico (Eitenmiller, 2016).



**Figura 6.** Reacción entre ácido L-ascórbico y diclorofenol indofenol.

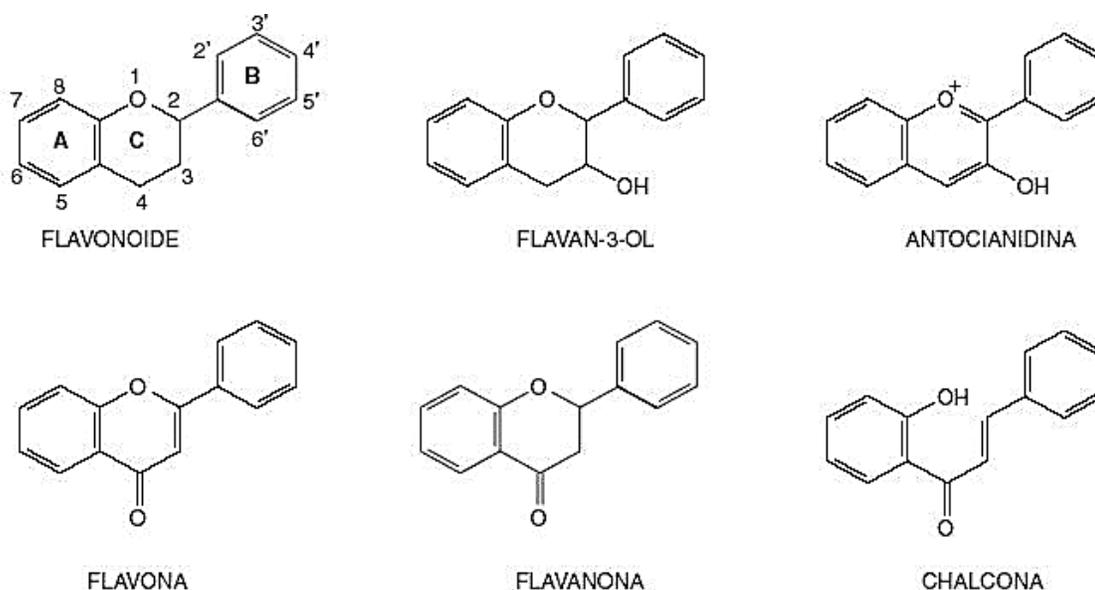
### 1.4.3 Polifenoles

Los compuestos fenólicos se dividen en tres principales grupos que son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles. Éstos constituyen un grupo numeroso que comprende al menos 8000 sustancias conocidas que pueden ser clasificadas de acuerdo a su estructura, van de moléculas simples como ácidos fenólicos a compuestos altamente polimerizados como es el caso de los taninos (Viñas y Campillo, 2014). Químicamente los fenoles pueden ser definidos como sustancias que poseen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo a sus derivados funcionales, tienen baja solubilidad en agua y poca estabilidad en el procesamiento de alimentos y fármacos debido a que son muy susceptibles a condiciones de temperatura, luz, pH o durante el almacenamiento siendo afectados principalmente por luz y oxígeno (Ghitescu, 2015).

Los compuestos fenólicos presentan potentes propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antivirales, inhibición enzimática, así como efectos anti-inflamatorios, antimutagénicos y anti-carcinógenos, jugando también un papel importante en la prevención de enfermedades crónicas (Ghitescu, 2015). Esta actividad benéfica ha sido atribuida a los grupos fenólicos en su estructura que son capaces de reducir especies reactivas de oxígeno y otros sustratos orgánicos y no orgánicos.

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales ya sea reduciéndolos o alterando su actividad catalítica. Estos compuestos son responsables de propiedades organolépticas como aroma y sabor de frutas y vegetales (Viñas & Campillo, 2014). Además, intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos, por lo que el desarrollo de productos con alto contenido de estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes pudiendo incluso englobarlos dentro de los llamados alimentos funcionales. (Porras-Loaiza y López-Malo, 2009).

Actualmente, los polifenoles son de gran interés en la industria alimentaria por su contribución a mejorar la salud humana. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer. Como antioxidantes naturales, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo, el cual, puede definirse como el desequilibrio entre las especies oxidantes y reductoras a nivel celular en un organismo y es causado por la presencia de radicales libres (Avella y col., 2008; Porras-Loaiza y López-Malo, 2009).



**Figura 7.** Estructuras químicas de sustancias flavonoides más usuales.

Para cuantificar polifenoles en alimentos después de ser procesados o durante su almacenamiento, se utilizan diferentes técnicas que involucran cromatografía de capa fina, cromatografía de líquidos y cromatografía de gases, combinadas con otros métodos de detección. Sin embargo, aunque son técnicas altamente específicas, generalmente se utilizan para identificar compuestos fenólicos individuales debido a su elevado costo (Viñas y Campillo, 2014). El método colorimétrico más empleado para la cuantificación de polifenoles totales es el que utiliza reactivo Folin-Ciocalteu (FCR) el cual implica la reducción de un ácido fosfomolibdico- fosfotúngstico a un complejo color azul en presencia de solución alcalina (Viñas y Campillo, 2014).

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a PH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos cromógenos de color azul intenso, de tungsteno

y molibdeno, siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Avella y col. 2008).

## 1.5 Actividad Enzimática

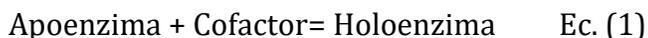
Las enzimas son catalizadores de sistemas biológicos (aumentan la velocidad de reacción para alcanzar el equilibrio) son moléculas de gran interés que determinan la pauta de las transformaciones químicas que también intervienen en la transformación de una forma de energía a otra. Las características 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 y col., 2008). Las enzimas de deterioro de frutas más resistentes al calor son las Pectin metilesterasas (PME), Peroxidasas (POD) y polifenol oxidasas (PPO). La actividad de éstas enzimas es máxima cuando se encuentran a temperaturas de 20 - 40°C siendo relevante para alimentos no perecederos y no muy importante para alimentos refrigerados (Simpson, 2009).

Como es conocido, la actividad enzimática y la velocidad de las reacciones enzimáticas son dependientes de la temperatura. A medida que disminuye la temperatura, la velocidad de la reacción también lo hace, siendo nula únicamente cuando se alcanza el cero absoluto. De acuerdo con Arrhenius, las bajas temperaturas reducen pero nunca detienen la actividad enzimática, por consiguiente, un producto puede deteriorarse por vía enzimática incluso durante la congelación por largos periodos, ya que la actividad es sumamente lenta pero existente. Debido a la presencia de actividad enzimática aún a muy bajas temperaturas, es conveniente inactivar las enzimas antes de procesar y almacenar los alimentos congelados. Al inactivarse las enzimas se evitan los trastornos mencionados de origen enzimático incluyendo aquellos que afectan la textura y el color, aún en las etapas previas a la refrigeración o congelación (Barreiro y Sandoval, 2006).

### 1.5.1 Definición

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  $\mu\text{mol}$  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 y col., 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 y col., 2008)



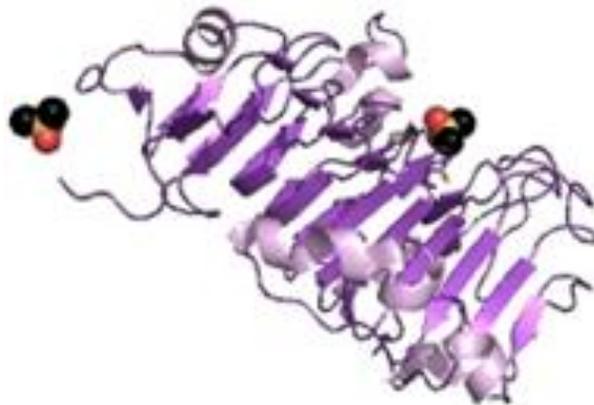
Los cofactores se dividen en dos grupos: metales y moléculas orgánicas pequeñas que con frecuencia son derivados de las vitaminas y pueden estar unidos a la enzima fuerte o débilmente (Berg y col., 2008).

### 1.5.2 Pectinmetilesterasas (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 y col., 2003). La PME se puede encontrar en varios tejidos y están principalmente asociadas por interacciones iónicas con las proteínas de la pared celular.

La PME es una enzima hidrolítica que se encuentra de manera natural en la mayoría de las frutas, está ligada a la pared celular y es liberada en el momento de la extracción del zumo (Polydera y col. 2004). Cataliza la eliminación de los grupos metilo de la cadena de ácido poligalacturónico, lo que provoca la liberación de metanol, pectinas de bajo metoxilo y formación de ácidos pécticos. Estos ácidos pueden reaccionar con iones calcio presentes en el medio para formar complejos insolubles de pectato de calcio, dejando un mayor número de grupos carboxilo libres que pueden luego enlazar cationes y formar pectinas reticuladas, las cuales pueden agregarse y asentarse (Maca y col. 2013).

Los jugos contienen finas partículas compuestas por pectina, celulosa, hemicelulosa, proteínas y lípidos en suspensión, lo cual se considera una característica deseable, ya que afecta favorablemente el sabor y el color característico en estos productos. La clarificación por acción enzimática se considera un defecto asociado con la pérdida de calidad de algunos jugos ricos en PME, causando separación de fases, pérdida de turbidez, modificación de la textura, reducción en la viscosidad, pérdida de color, y poca retención del sabor (Maca y col. 2013).



**Figura 8.** Estructura tridimensional de la enzima PME (Johansson et al., 2002).

Investigaciones realizadas en jugos de frutas han establecido que un proceso muy efectivo para la inactivación de PME es la pasteurización ya que es un procedimiento relativamente suave que contribuye con el aumento de la vida útil del alimento sobre el que se aplica,

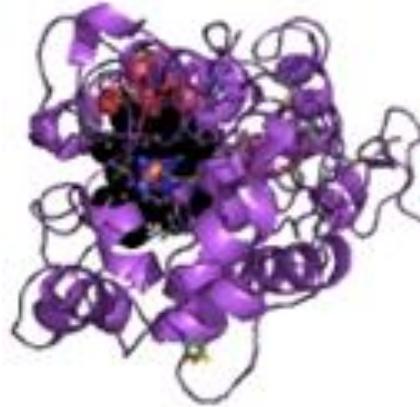
siempre que se mantenga en refrigeración posterior o se complemente con otros métodos de conservación (Polydera y col. 2004). Diversos autores coinciden en que el porcentaje de actividad residual (%AR) de la enzima para jugos tratados térmicamente debe ser aproximadamente de un 10% para disminuir el riesgo de alterar las propiedades sensoriales, fisicoquímica y nutritivas del producto (Maca y col. 2013).

### **1.5.3 Peroxidasas (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 y col., 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 ( $H_2O_2$ ), 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 y col., 2001).

Las peroxidasas pueden degradar nutrientes, color y sabor característicos de algunos alimentos. Requiere de la presencia de oxígeno para llevar a cabo su actividad, produciendo sabores desagradables en vegetales y oscurecimiento en frutas. Las peroxidasas están presentes en prácticamente todos los tejidos y constituyen el sistema enzimático más termorresistente, por consiguiente, al inactivar térmicamente este sistema se garantiza la inactivación de otros sistemas enzimáticos que pueden estar presentes (Barreiro y Sandoval, 2006; Simpson, 2009).



**Figura 9.** Estructura tridimensional de la enzima POD (Kunishima et al., 1994).

Las POD pertenecen al grupo de enzimas denominadas oxidorreductasas, las cuales catalizan reacciones de óxido - reducción y utilizan el  $H_2O_2$  como aceptor de electrones para catalizar diferentes reacciones oxidativas (Duarte y col. 2002). Las POD en las plantas son una respuesta de defensa al estrés que éstas puedan sufrir. Estas enzimas reducen el peróxido de hidrógeno en presencia de un electrón donador, el cual puede ser un compuesto fenólico o un ascorbato que actúe como donador de protones. Si el donador de protones es un compuesto fenólico se obtienen quinonas, que reaccionan para obtener polímeros pardos, si el donador de protones es ascorbato no se obtiene pardeamiento, por lo cual, dependiendo del donador de protones se obtiene o no coloración (Samaniego y col. 2014).

#### **1.5.4 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 y col., 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 y 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 (Wong y col., 2003).

Otra posibilidad es la adición de endopoligalacturonasa (Inhibición de PME) que descompone la pectina antes de que pueda coagular con calcio (Wong y col., 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 SO<sub>2</sub> y sulfitos los cuales previenen la pérdida de sabor pero solo reducen parcialmente la regeneración de la enzima (Cano y col., 1997).

#### **1.5.5 Inhibición por Tratamiento Térmico**

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 Dergal, 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 Dergal, 2006).

### 1.5.6 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 y col., 2013). Entonces la actividad residual relativa puede ser calculada con la siguiente ecuación:

$$ARR (\%) = \frac{A_t}{A_0} * 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

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 y col., 2003). 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 y col., 2005, Ingallinera y col., 2005; Osorio y col; 2008; Sentandreu y col., 2005; Torres y col., 2008).

## **1.6 Nanotecnología**

### **1.6.1 Definición**

La nanotecnología se puede definir como la manipulación de la materia a escala nanométrica, lo cual resulta en el estudio y creación de nuevos materiales y/o productos que cubren ciertas necesidades de la industria alimentaria. La nanoencapsulación en forma de micelas, liposomas o sistemas portadores a base de biopolímeros ha sido utilizada para desarrollar sistemas de entrega de aditivos y suplementos para su uso en alimentos y bebidas. Estos nanomateriales ofrecen diversas ventajas como el desarrollo de nuevos y mejorados materiales de envase, sensores que permiten conservar la calidad de los alimentos, así como la conservación de ingredientes y aditivos que sean capaces de ocultar sabores y aromas desagradables (Huang, 2012; Rai y col. 2015; Cheung, 2015).

Al momento de trabajar con algún principio activo que ayude a mejorar la calidad y/o valor nutricional de algún producto, es necesario conocer su estabilidad y disponibilidad para protegerlo del medio ambiente, prolongar su vida útil y controlar su liberación. De ésta manera se pierde una menor cantidad de nutrientes y compuestos de interés biológico propios de la sandía durante el procesamiento y almacenamiento del jugo (Kosegarten-Conde y Jiménez-Munguía, 2012).

### **1.6.2 Aplicaciones en Alimentos**

Para una industria donde la competencia es intensa y la innovación es vital, la nanotecnología ha emergido como una ayuda potencial en la producción de alimentos de calidad mejorada con propiedades funcionales, por lo que actualmente están en curso extensos proyectos de investigación y desarrollo con el objetivo final de obtener ventajas competitivas y participación en el mercado (Rai y col. 2015).

La nanotecnología alimentaria se encuentra aún en fase de ascenso debido a sus numerosas y diversas aplicaciones, entre las que se encuentran:

- **Nanocompuestos** en el área de envasado de alimentos, donde se tienen nuevos tipos de materiales para envasar platos preparados con propiedades térmicas y biodegradables mejoradas.
- **Nanosensores** que aseguran la calidad y seguridad alimentaria con el uso de biosensores, así como la detección y neutralización de microorganismos alterantes y patógenos, aditivos, fármacos, toxinas entre otros contaminantes.
- **Nanopartículas y nanoesferas** que permiten una mejor encapsulación que la tradicional.

Formación de nanopartículas, nanoemulsiones y nanocápsulas que permiten mejorar el valor nutricional de los productos, así como su absorción en el cuerpo aumentando la biodisponibilidad y dispersión de nutrientes de interés (Zambrano-Zaragoza y col., 2011).

### 1.6.3 Sistema Submicrónico

Los nanomateriales presentan varios tamaños, formas, estructuras y propiedades que se consiguen dependiendo del proceso de formación, condiciones de manufactura, condiciones ambientales, propiedades de componentes y algunos pretratamientos como extrusión, ultrasonicación, altas presiones, etc.

En el Cuadro 3, se muestran algunos sistemas coloidales de talla submicrónica que se utilizan actualmente:

**Cuadro 3.** Nanoestructuras y sus descripciones esquemáticas (Huang 2012).

<b>Nanoestructura</b>	<b>Descripción</b>
<b>Nanopartículas de matriz simple</b>	Partículas que consisten de una sola fase.
<b>Dispersión de nanopartículas</b>	Consiste de una fase dispersa como pequeñas gotas sobre otra fase.
<b>Nanotubos</b>	Generalmente tienen un diámetro uniforme de 12 nm y una cavidad interna de 8 nm.
<b>Nanopartículas solidas lipídicas</b>	Tienen un tamaño menor a 1 $\mu$ m. Consiste de una partícula lipídica cubierta de emulsionante dispersa en un medio acuoso. La fase lipídica es completa o parcialmente soiidificada.
<b>Nanoemulsión</b>	Están formadas por gotas dispersas de diámetro nanométrico (50-200nm) y son transparentes o traslucidas con una tonalidad azul.
<b>Nanofibra</b>	El biopolímero electrohilado generalmente tiene de 10-1000 nm de diámetro.
<b>Nanoesfera</b>	Son partículas coloidales sólidas, la estabilidad del núcleo depende de la composición del copolimero.
<b>Nanocápsula</b>	Son coloides nanométricos, el sistema vesicular contiene un núcleo líquido oleoso cubierto de un polímero, membrana mono capa o recubrimiento.

#### 1.6.4 Emulsión

Generalmente, una emulsión consiste de al menos 2 líquidos inmiscibles, con uno de ellos disperso en el otro en forma de pequeñas gotas esféricas. En la ciencia de alimentos, existen diferentes tipos de emulsiones que contienen aceite, agua y emulsificante, las cuales pueden ser utilizadas para diferentes aplicaciones (Huang, 2012) El Cuadro 4 muestra diferentes propiedades de emulsiones utilizadas en alimentos.

**Cuadro 4.** Propiedades de diferentes tipos de emulsión.

Tipo de emulsión	Intervalo de radio	Estabilidad termodinámica	Relación área/masa (m <sup>2</sup> /g)	Apariencia
<b>Emulsión</b>	0.1-100 µm	Inestable	0.07-70	Turbio/opaco
<b>Microemulsión</b>	200-900 nm	Inestable	70-330	Claro/turbio
<b>Nanoemulsión</b>	5-200 nm	Estable	130-1300	Claro

Para mantener la estabilidad de emulsiones y nanoemulsiones, es necesario el uso de tensioactivos los cuales cuentan con un lado polar y uno hidrófobo. Estos pueden ser clasificados conociendo los grupos de funcionalidad polar; aniónicos, que tienen una carga negativa en la molécula de masa, asociada con un contraión positivo pequeño; catiónicos, que tienen una molécula positiva con una carga negativa en la misma molécula; anfotéricos, contienen ambos, cargas positivas y negativas en la misma molécula; y las no iónicas, contienen cargas positivas o negativas no oficiales, pero un heteroátomo polar puede producir un dipolo con una región de electrones densa y otra menos densa tensioactivos (Hernández-Sánchez y Gutiérrez López, 2015).

Una forma de mejorar la estabilidad y disponibilidad de un principio activo, es con la formación de emulsiones dobles, en donde las gotas de la fase dispersa contienen, dentro de ellas, pequeñas gotas inmiscibles y también dispersas conteniendo el principio activo disuelto o encapsulado. Los sistemas así formados presentan dos interfaces termodinámicamente inestables, cuya integridad depende del tipo de compuestos que forman la fase dispersa, la fase continua y las interfases, así como las proporciones en que se encuentran éstas y los emulgentes utilizados.

Existen diferentes razones para la aplicación de emulsiones dobles en el área de alimentos, una de ellas es la de encapsular algún ingrediente sensible tal como un nutriente o

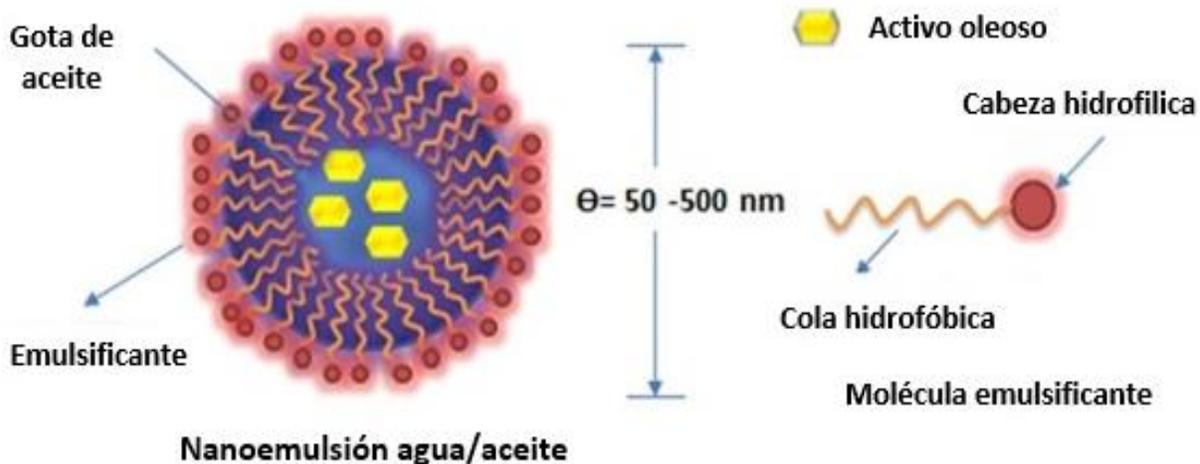
compuesto de sabor y después liberarlo de manera controlada durante la digestión, masticación o almacenamiento (Kosegarten-Conde y Jiménez-Munguía, 2012).

ANIONICO	 A <sup>-</sup>	Contraion (+)
CATIONICO	 C <sup>+</sup>	Contraion (-)
ANFOTERICO	 C <sup>+</sup> ... A <sup>-</sup>	
NO IÓNICOS	 OH	

**Figura 10.** Estructuras de diferentes tipos de tensoactivos (Hernández-Sánchez y Gutiérrez-López, 2015).

### 1.6.5 Nanoemulsión

Las nanoemulsiones son sistemas a nanoescala formados por la dispersión de un líquido en otro líquido inmiscible por acción de ruptura inducida. Son consideradas como emulsiones convencionales con gotas muy pequeñas que tienen un radio promedio de 50-500 nm (Zambrano-Zaragoza y col., 2011). Debido al pequeño tamaño de partícula comparado con la longitud de onda de la luz visible, estos sistemas tienden a ser transparentes o ligeramente turbios. Esta naturaleza especial les permite ser aplicadas como portadores de nutrientes en bebidas (Huang, 2012; Cheung, 2015)



**Figura 11.** Estructura general de emulsiones y nanoemulsiones.

Las nanoemulsiones son sistemas termodinámicamente inestables debido a la energía libre positiva asociada con la creación de la interface aceite-agua, por lo que tienden a romperse con el tiempo, por ejemplo, debido a la separación gravitacional, floculación, coalescencia o madurez de Ostwald. La velocidad en que ocurren estos procesos, se consideran diferentes en nanoemulsiones que en emulsiones convencionales debido a que las fuerzas atractivas entre partículas disminuye con la reducción del tamaño de partícula.

Por ejemplo, las nanoemulsiones a menudo son más estables a la separación gravitacional, floculación y coalescencia, pero es menos estable a la maduración de Ostwald. Las nanoemulsiones pueden ser fabricadas utilizando diferentes métodos que son clasificados como sigue (Huang, 2012; Hernández-Sánchez y Gutiérrez-López, 2015):

- Alta intensidad: Se utilizan dispositivos capaces de generar fuerzas destructivas intensas que son capaces romper las fases agua ya aceite y conducir a la formación de pequeñas gotas, por ejemplo, homogenizadores de altas presiones, microfluidizadores y métodos de sonicación.

- Baja intensidad: Se basan en la formación espontánea de pequeñas gotas dentro del sistema cuando la solución o las condiciones ambientales son alterada, por ejemplo, fases invertidas y métodos de mezclas con solventes.

### 1.6.6 Nanocápsulas

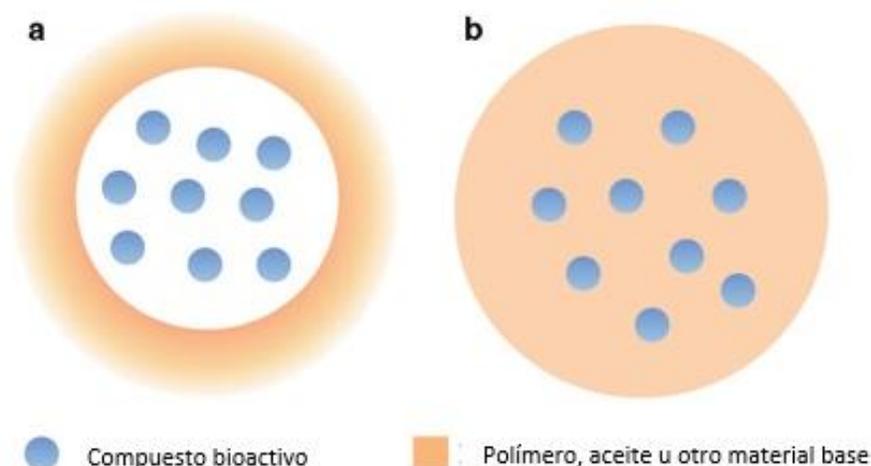
Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en los que el compuesto bioactivo está cubierto por una cavidad rodeada de una membrana polimérica de 20-100 nm de diámetro con un espacio vacío en el interior como se muestra en la ilustración 7 (Cheung, 2015; Rai y col. 2015). La encapsulación en nanopartículas puede ofrecer una solución potencial para incrementar la eficiencia y estabilidad del compuesto activo, al mismo tiempo es protegido de la degradación o interacción con agentes externos y ayuda a mejorar la solubilidad y penetración en los tejidos. Además es posible controlar la ruptura de la nanocápsula para liberar el compuesto activo, por ejemplo, cambiando las condiciones externas como pH o temperatura (Rai y col. 2015).

Los métodos para la creación de nanocápsulas se pueden clasificar como *top-down* y *bottom-up*, aunque se pueden utilizar combinados. Los primeros utilizan energía mecánica para reducir gotas o partículas a tamaño nanométrico. La homogenización y la molienda húmeda son algunos ejemplos. Los procesos *bottom-up* se basan en fenómenos físicos como precipitación y separación de fases (Huang, 2012).

Las capas ultradelgadas y la gran área superficial favorecen la penetración de agentes conocidos por iniciar la degradación de nutrientes. Ya que muchos compuestos de interés nutricional son sensibles al oxígeno, la capa exterior debe tener excelentes propiedades de barrera frente al oxígeno. Ésta cubierta ultradelgada además debe proporcionar protección contra la entrada de componentes que catalizan la oxidación o degradación hidrolítica, especialmente si las nanocápsulas son utilizadas en medio acuoso (Huang, 2012).

### 1.6.7 Nanoesferas

Las nanoesferas han sido probadas para tener una encapsulación y eficiencia de liberación superiores comparadas con otros sistemas encapsulados. Mientras que las nanocápsulas son compuestos portadores de un núcleo oleoso rodeado por una pared polimérica, las nanoesferas consisten de una matriz polimérica con varias fases en suspensión. Este tipo partículas poliméricas son usadas principalmente para transportar y entregar compuestos poco solubles en agua debido a la naturaleza hidrofóbica de su núcleo, donde el compuesto bioactivo está disperso uniformemente en la matriz (Figura 12) (Rai y col. 2015; Cheung, 2015).



**Figura 12.** Esquema estructural de a) nanocápsulas y b) nanoesferas.

### 1.6.8 Encapsulación de Nutracéuticos

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 y col., 2006). El término nutracéutico proviene de “nutrición” y “farmacéutico”. Se define la nutracéutica 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 y col., 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 (Dziezak, 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 y col., 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 y col., 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 nutraceuticos. De acuerdo a Lakkis (2016) los componentes o agentes encapsulantes se clasifican en diversas categorías:

- Ceras y lípidos
- Proteínas
  - Quitina
  - Quitosán
- Carbohidratos
  - Almidón
  - Dextrano
  - Celulosa
  - Pectinas
- Polímeros de grado alimenticio
- Hidrocoloides

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 y col., 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 y col., 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 y col. (2006) utilizaron gretina en combinación con sacarosa para encapsular licopeno y encontraron que los resultados fueron adecuados para una relación 3/7 gelatina/sacarosa.

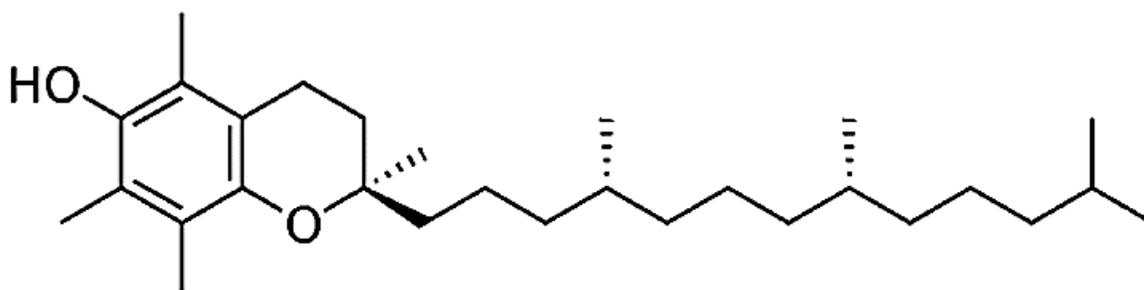
Existe una gran variedad de materiales utilizados en la industria alimentaria para las diferentes técnicas de encapsulación. Sin embargo, también existe la necesidad de encontrar la mejor opción para lograr los resultados óptimos para cada caso en particular y con ello mantener las funciones de la gente 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 y Jiménez Munguía, 2008)

## 1.7 Antioxidantes

### 1.7.1 $\alpha$ - Tocoferol

La vitamina E (Figura 13) como nutriente esencial es un ingrediente funcional ampliamente usado en alimentos y bebidas como suplemento. Protege a los lípidos contenidos en la membrana de las células de la oxidación causada por captura de radicales libres e interrumpe las reacciones en cadena que dan lugar a la peroxidación lipídica. Como resultado, la vitamina E inhibe efectos de estrés oxidativo y reduce el riesgo de enfermedades crónicas (Li y col. 2015). Sin embargo, su uso tiene algunas limitaciones como poca estabilidad, baja solubilidad en agua y biodisponibilidad variable. Las altas temperaturas influyen en la degradación de éste compuesto, así como su alta sensibilidad a la luz y al oxígeno que conducen a la pérdida de su bioactividad (Li y col. 2015).

El alfa-tocoferol tiene grupos metilo en las posiciones 3', 7' y 11' de la cadena alifática y en las posiciones 5', 7' y 8' de su estructura anillada. Esta configuración le confiere una alta actividad antioxidante en comparación con los otros tocoferoles (Cheung, 2015).



**Figura 13.** Estructura química de alfa-tocoferol (Cheung, 2015).

El alfa - tocoferol es altamente lipofílico, por lo que tiene baja solubilidad en agua y no puede ser usado directamente en medios acuosos. Sin embargo, en los últimos años, se han desarrollado portador que son capaces no solo de proteger el compuesto de

degradación física y química, sino que además lo protege durante el procesamiento y almacenamiento (Li y col. 2015).

## **CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL**

### **2.1 Objetivos**

#### **2.1.1 Objetivo General**

Establecer el efecto de la adición de nanopartículas de  $\alpha$ -tocoferol en jugo de sandía pasteurizado mediante cambios físicos, fisicoquímicos y enzimáticos durante su almacenamiento en refrigeración que contribuyan a mantener su calidad.

#### **2.1.2 Objetivos Particulares**

##### **2.1.2.1 Objetivo Particular 1**

Evaluar el efecto de la adición de nanopartículas de  $\alpha$ -tocoferol sobre los cambios en parámetros de perfil de color y turbidez en jugo de sandía pasteurizado almacenado en refrigeración por medio de pruebas colorimétricas y turbidimetría para su asociación con el porcentaje de retención de compuestos termolábiles.

##### **2.1.2.2 Objetivo Particular 2**

Evaluar el contenido residual de licopeno, ácido ascórbico y polifenoles en jugo de sandía mediante pruebas espectrofotométricas para su asociación con su deterioro en pérdida de calidad para su almacenamiento refrigerado.

##### **2.1.2.3 Objetivo Particular 3**

Analizar el porcentaje de actividad relativa residual de las enzimas pectin metilesterasas y peroxidasas mediante pruebas espectrofotométricas por la adición de alfa tocoferol de talla submicrónica como parámetro indicativo de calidad en el jugo de sandía refrigerado.

## 2.2 Materiales y Métodos

### 2.2.1 Materiales

Poly-  $\epsilon$ -caprolactona (PCL) fue obtenido de Sigma Aldrich® (EUA). El agente estabilizante utilizado fue Pluronic®, F-127 (BASF, México). El  $\alpha$ -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). Tween® 80 (monooleato de polioxietilen (20) sorbitano,  $P_M = 1310$  g/mol HLB = 15,  $\mu \approx 425$  mPas a 25 °C) fue obtenido de ICI Surfactantes de 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, Bedford, MD). El agua fue calidad Milli-Q®. Todos los demás reactivos fueron de grado analítico.

### 2.2.2 Preparación de los sistemas de talla submicrónica

#### 2.2.2.1 Emulsión

Se usó el método de emulsificación convencional (Kulmyrzaev, Sivestre, & McClements, 2000). Brevemente, se añadieron 0.8 g/L de Span® 80 y 2 g/L de  $\alpha$ -tocoferol a la fase dispersa. La fase continua estaba compuesta de 4.2 g/L de Tween® 80 considerando en la preparación un HLB = 6. La formación de la emulsión se realizó con un agitador de velocidad variable (Eurostar Power Control Visc, IKA® WERKE) a 2000 rpm durante 5 min.

#### 2.2.2.2 Nanoemulsión

La nanoemulsión se obtuvo a partir de la emulsión descrita anteriormente. La muestra fue sometida a 3 ciclos de ultra alta agitación cada 5 minutos a 10 000 rpm y reposo de 5 minutos entre ciclo utilizando un homogeneizador rotor/estator (Ultra-Turrax IKA® T50 EE.UU.) y una herramienta de dispersión 25 N - 25 G, IKA®).

### **2.2.2.3 Nanocápsulas y Nanoesferas**

Las nanocápsulas de  $\alpha$ -tocoferol fueron preparadas por el método de emulsificación - difusión (Quintanar - Guerrero y col., 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 adiciono el  $\alpha$ -tocoferol procediéndose a preparar los sistemas submicrónicos de acuerdo a las condiciones optimizadas por Zambrano-Zaragoza y col. (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).

### **2.2.2.4 Nanoesferas**

La preparación para las nanoesferas fue el mismo que para las nanocápsulas (apartado 2.2.2.3) con la diferencia que no contenía  $\alpha$ -tocoferol en la fase orgánica.

### **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 ( $\zeta$ )

El  $\zeta$  de las dispersiones se determinó con un usando un equipo Zetasizer 4<sup>®</sup> (Zetasizer Nano Series Malvern Ltd., UK). Para este fin se utilizaron soluciones diluidas de las dispersiones en agua Milli Q<sup>®</sup> midiendo el  $\zeta$  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 el mercado del centro de Cuautitl de Romero Rubio; 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<sup>®</sup>. Para realizar el proceso de filtrado se hizo pasar por una malla de acero inoxidable de 100  $\mu\text{m}$  y finalmente se adicionaron los sistemas de talla submicrónica de  $\alpha$ -tocoferol a una concentración de 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de manera independiente tomando un control de referencia, que consistió en el jugo fresco pasteurizado sin ningún sistema submicrónico. A continuación se muestran los tratamientos realizados para el jugo de sandía (Cuadro 5):

**Cuadro 5.** Diferentes tratamientos aplicados a los jugos de sandía.

Tratamientos Realizados
1. Control/Pasteurizado
2. Emulsión/Pasteurizado
3. Nanoemulsión/Pasteurizado
4. Nanoesferas/Pasteurizado
5. Nanocápsulas/Pasteurizado

### **2.2.6 Pasteurización y Almacenamiento Refrigerado**

Para pasteurizar el jugo de sandía se hizo pasar a través de un Intercambiador de Superficie Raspada (ISR) (ARMFIELD LTD, Inglaterra) utilizando a las condiciones óptimas de proceso propuestas por González-Reza y col. (2015). Las muestras fueron tomadas a la salida del intercambiador en frascos de vidrio desinfectados previamente (sumergiéndolos en solución con DERMOSAN al 1%).

Las muestras fueron monitoreadas cada cuarto días durante 20 días en su almacenamiento refrigerado a 4 °C.

### **2.2.7 Refractometría**

Para medir la cantidad de sólidos totales se utilizó un refractómetro digital (Hanna HI 96801, USA) que se basa en las mediciones del índice de refracción. El refractómetro fue calibrado con agua destilada para obtener un valor igual a cero. Posteriormente se colocó la muestra de jugo previamente homogenizada en el prisma y se procedió a tomar la lectura directamente en °Brix. Las pruebas se realizaron por triplicado.

### **2.2.8 Potenciometría**

El valor de pH de las muestras fue medido utilizando un potenciómetro (Hanna 213, Portugal), el cual fue calibrado con soluciones buffer de 4 y 7 antes de realizar las determinaciones. Las pruebas se realizaron por triplicado.

### 2.2.9 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 al cambio total de color mediante la siguiente expresión:

$$\Delta E \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad \text{Ec. (3)}$$

### 2.2.10 Turbidimetría

La turbidez del jugo fue medida con un turbidímetro digital (ECOSHEL WGZ-200, USA), el cual hace pasar un rayo de luz a través de la muestra midiendo la luz reflejada por las partículas en un ángulo de 90° con respecto al rayo incidente. El equipo fue calibrado con agua destilada comprobando que marcara cero, después se tomó 1 mL de jugo de sandía previamente homogenizado al que se le añadieron 99 mL de agua destilada, la solución resultante se introdujo en la botella de muestra y finalmente se tomó la lectura. Cada prueba se realizó por triplicado y las lecturas se obtuvieron en Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU).

### 2.2.11 Contenido de Licopeno

El contenido de licopeno fue medido por espectrofotometría siguiendo el método propuesto por Davis, Fish y Perkins-Veazie (2003). Se tomaron 5 mL de jugo de sandía y se añadieron junto con 5 ml de Hidroxi Tolueno Butirato (BHT) en acetona al 0.05 % (w/v), 5 mL de etanol y 10 mL de hexano. La mezcla se agitó durante 5 minutos y posteriormente

fue centrifugada por 15 minutos a 3600 rpm. La absorbancia del sobrenadante fue medida en un espectrofotómetro UV – Visible (Genesys 10s, EUA) a una longitud de onda de 503 nm. El contenido de licopeno se calcula mediante la siguiente ecuación.

$$\text{Contenido de licopeno } \left( \frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{\text{Abs}_{503} * \text{PM} * \text{FD} * 1000}{\epsilon * L}$$

Dónde:

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

FD = factor de dilución (25/5=5)

L = longitud de la celda (1 cm)

$\epsilon$  = coeficiente de extinción molar (172 000 L/mol/cm)

### 2.2.12 Fenoles Totales

Para determinar Fenoles totales se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton y 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  $\mu$ L de extracto al que se le adicionaron 3 mL de agua destilada y 250  $\mu$ L de reactivo Folin. Después de 8 min se incorporaron 750  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Carbonato de Sodio) junto con 950  $\mu$ L 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.

### 2.2.13 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 ( $\text{HPO}_3$ ) 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:

$$\frac{\text{mg de ácido ascórbico}}{100 \text{ mL de muestra}} = \frac{A_c * B * 100}{C * 1000 * m} \quad \text{Ec. (4)}$$

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).

### 2.2.14 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  $4^\circ\text{C}$  durante 40 minutos y se filtró a través de papel Whatman de  $1.2 \mu\text{m}$ . La disolución obtenida consistió en el extracto enzimático crudo para la determinación de la actividad PME, el cual se ajustó a  $\text{pH} = 7.5$  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 µL de azul de bromotimol (0.1 g/L), 200 µL de NaCl (0.2 M) y 580 µL 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 µL 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 µmoles 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 µmoles de ácido. Los ensayos se realizarán por triplicado en extractos independientes.

### **2.2.15 Peroxidasa (POD)**

La actividad POD (EC 1.11.1.7) se determinó utilizando la metodología propuesta por Gonçalves y col. (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 ×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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 Residual Relativa (ARR)

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

$$AR (\%) = \frac{A_t}{A_0} * 100 \quad \text{Ec. (5)}$$

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.

### 2.2.17 Análisis Estadístico

Los resultados se analizaron utilizando el software estadístico MINITAB® versión 17 para determinar el efecto de la adición de los sistemas de talla submicrónica conteniendo  $\alpha$ -tocoferol sobre su estabilidad, cambios fisicoquímicos y enzimático. Las diferencias entre tratamientos se realizaron en función de la variación con respecto a la media realizándose una prueba de ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ).

## CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1 Caracterización de los sistemas de talla submicrónica

Es de vital importancia la evaluación de los parámetros físicos y de estabilidad de las nanoestructuras en dispersión para el establecimiento en principio de que los sistemas de talla submicrónica se encuentren dentro del rango nanométrico, además de que estos parámetros (TP, IPD y  $\zeta$ ) pueden indicar la estabilidad de los sistemas (Mirhosseini y col., 2008). El Cuadro 6 muestra los valores de tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial zeta de los sistemas de talla submicrónica de  $\alpha$  - tocoferol. Se determinó que todos los sistemas tuvieron talla nanométrica, menor a los 500 nanómetros e índices de polidispersión menores a 0.3. En cuanto al TP de la emulsión se obtuvieron valores alrededor de los 850 nm. Esto es congruente con estudios realizados para nanocápsulas con  $\alpha$  - tocoferol (Zambrano-Zaragoza y col., 2011) y nanoesferas de PCL (Galindo-Pérez y col., 2015) así como para los valores de la emulsión y nanoemulsión de  $\alpha$  - tocoferol (Zambrano-Zaragoza y col., 2014a).

**Cuadro 6.** Propiedades de los sistemas dispersos con  $\alpha$ -tocoferol.

Sistema	TP (nm)	IPD (nm)	$\zeta$ (mV)
<b>Emulsión</b>	841 $\pm$ 19	0.29 $\pm$ 0.07	- 31 $\pm$ 5
<b>Nanoemulsión</b>	214 $\pm$ 7	0.12 $\pm$ 0.06	- 45 $\pm$ 3
<b>Nanoesferas</b>	202 $\pm$ 9	0.09 $\pm$ 0.09	- 49 $\pm$ 2
<b>Nanocápsulas</b>	232 $\pm$ 12	0.11 $\pm$ 0.07	-43 $\pm$ 4

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 y col., 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.

El  $\zeta$  de los sistemas indica en cierta medida la estabilidad de las nanopartículas. Para los sistemas preparados el  $\zeta$  fueron menores a  $-30$  mV; lo que sugiere buena estabilidad con baja probabilidad de agregación (Zambrano-Zaragoza y col, 2011). Los sistemas dispersos que presentan un  $\zeta$   $>25$  mV son sistemas defloculados con buena estabilidad, ya que entre mayor sea el valor absoluto de  $\zeta$  mayor será la repulsión eléctrica entre las partículas en dispersión (Friberg y col., 2003).

Por lo tanto dado a las características obtenidas de los sistemas dispersos con y sin  $\alpha$ -tocoferol se puede decir que son aptos para su incorporación en el jugo de sandía previo a su pasteurización y posterior almacenamiento refrigerado.

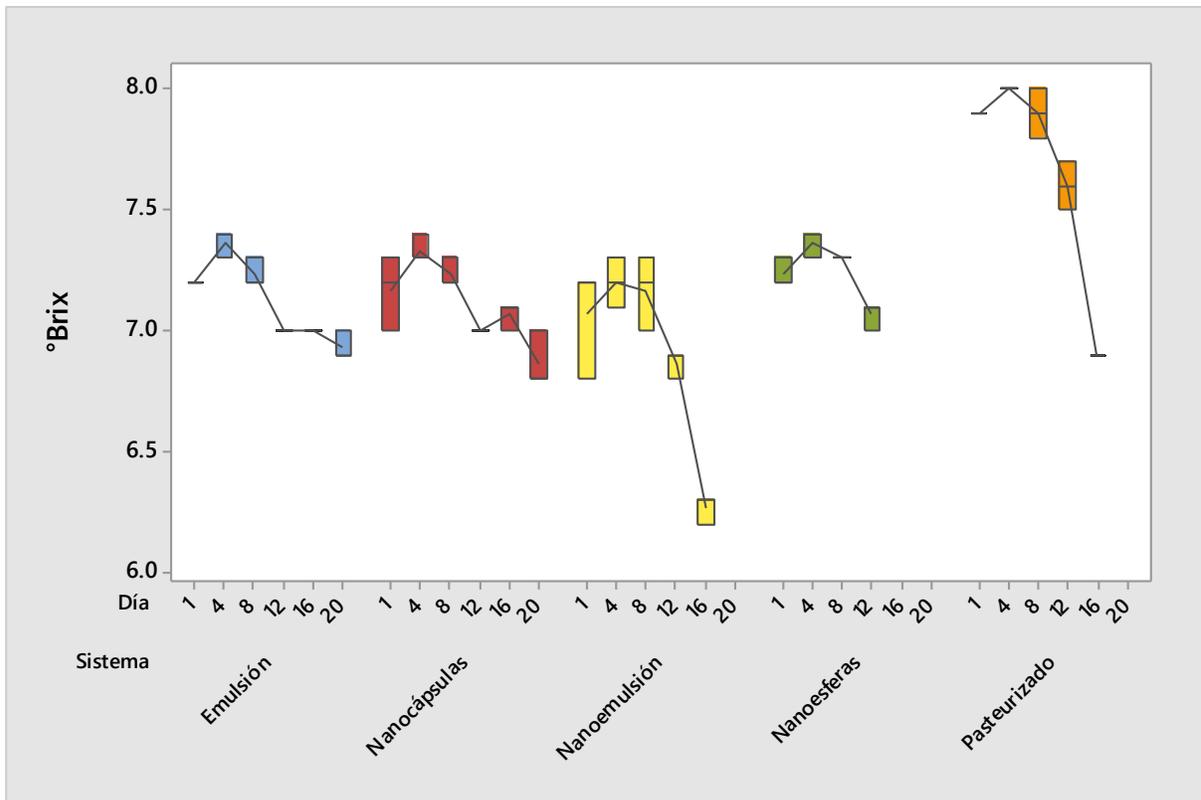
### 3.2 Sólidos Solubles

En la Figura 14, se muestra la evolución de la cantidad de sólidos solubles presentes en cada una de las muestras de jugo de sandía con respecto al tiempo. Se observa un intervalo entre 6.9 a 7.5 °brix aproximadamente. El ANOVA realizado no presentó diferencias estadísticamente significativas ( $p>0.05$ ) en los sólidos solubles de los jugos.

Sin embargo, a pesar de esto, en todos los tratamientos se aprecia que la concentración de sólidos solubles disminuye con respecto al tiempo de almacenamiento, lo cual se puede atribuir a la pérdida de otras sustancias solubles como ácidos orgánicos y pectinas durante el almacenamiento en refrigeración, así como a la acción de microorganismos que pudieron desarrollarse en la etapa final y que transformaban azúcares en productos de desecho.

En lo que se refiere a ácidos orgánicos se tiene en especial importancia el ácido ascórbico ya que es el que se encuentra en mayores concentraciones en los jugos, degradándose

desde la pasteurización por acción del calor para posteriormente hacerlo gradualmente después del envasado por las condiciones de almacenamiento.



**Figura 14.** Evolución de los sólidos solubles en los diferentes tratamientos del jugo de sandía.

Los sistemas que adquieren comportamiento similar son las muestras que contienen la emulsión y las nanocápsulas, que se mantienen prácticamente constantes en comparación con los otros tratamientos que presentan un notorio decremento a partir del día 12 siendo mayormente marcado hacia el día 16. Este descenso en las muestras con respecto al tiempo es significativo ( $p < 0.05$ ) lo cual se puede explicar a la mayor disponibilidad que tiene el alfa tocoferol durante el almacenamiento. Las pectinas solubles al ser desmetoxiladas por actividad de la PME gelifican en forma de pectinato de calcio aprisionando las partículas en suspensión. Posteriormente el gel se retrae y precipita.

El comportamiento es parecido a los resultados publicados por Tarazona-Díaz y Aguayo (2013), quienes reportan que durante el almacenamiento del jugo no hay variaciones significativas en éste parámetro, siendo estas diferencias ligeramente más marcadas cuando no se incorporan compuestos adicionales para alargar la vida útil. En sus experimentos utilizan jugo de limón para disminuir el pH y ya que las pectinas son más solubles en medios ácidos y las enzimas disminuyen su actividad bajo estas condiciones, la pérdida de sólidos solubles resulta mínima.

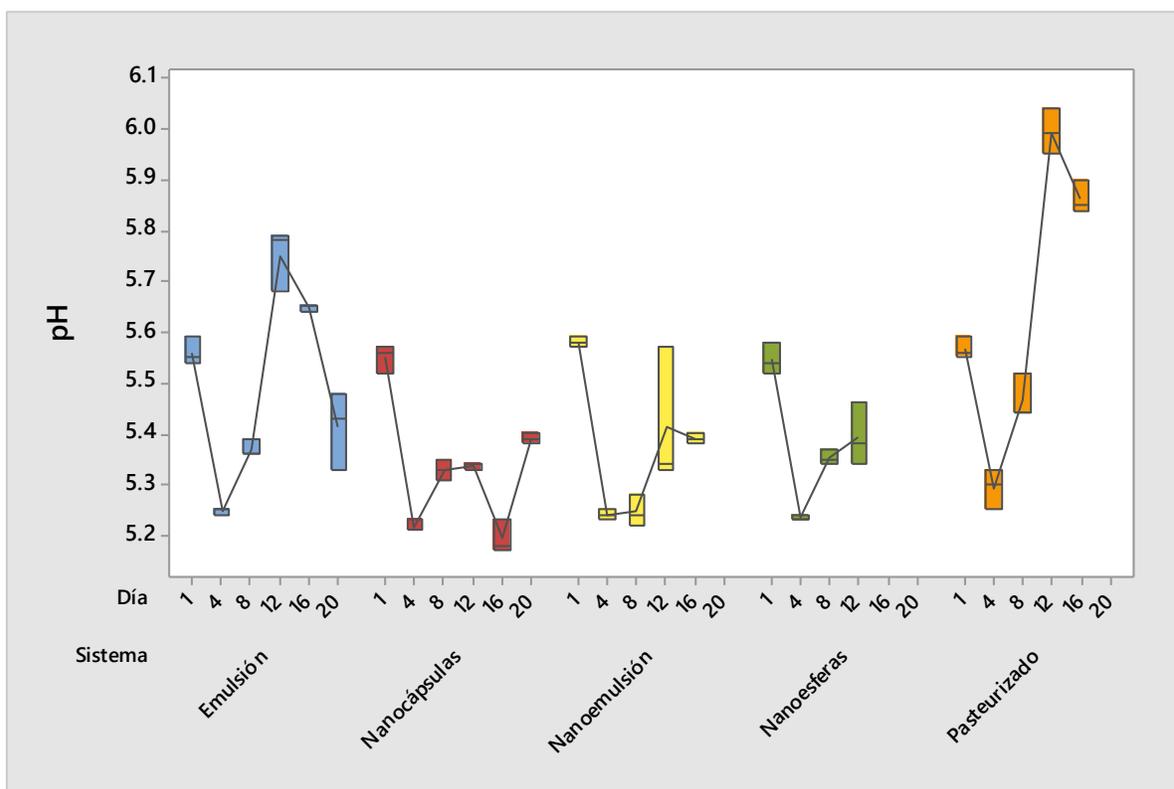
### 3.3 pH

El pH obtenido en los jugos se encuentra en un intervalo de 5.2 – 5.9 en los diferentes tratamientos realizados. 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.

En la Figura 15 se muestran las tendencias obtenidas por los cambios en el pH durante el almacenamiento del jugo de sandía. El valor en el día 1 para todos los tratamientos es de 5.6, el cual que se asemeja a lo reportado por Santos y col. (2015) quienes utilizan almacenamiento a altas presiones para la conservación del jugo de sandía, mostrando valores iniciales de 5.78 y un máximo de 5.99 por lo que mantienen una variación similar a la que presentan los sistemas submicrónicos reportados en éste estudio experimental.

La disminución de pH del día 1 al día 4 puede deberse a la liberación de  $\alpha$ -tocoferol que al ser un antioxidante donador de protones provoca que la concentración de iones hidrógeno aumenten en el medio incitando a que el pH disminuya. Para la emulsión y la muestra control se aprecia un efecto significativo ( $p < 0.05$ ) en los valores hasta el día 12, lo cual es ocasionado principalmente por la pérdida de ácido ascórbico durante el almacenamiento, efecto que se correlacionará más adelante con las pruebas que se realizaron para determinar la concentración de ácido ascórbico en el jugo.

Posterior a este incremento, vuelve a existir una disminución de pH que puede deberse a diversos factores, uno de ellos es el crecimiento de microorganismos que comienzan a producir ácidos orgánicos.



**Figura 15.** Cambios en el pH de los diferentes tratamientos del jugo de sandía.

El comportamiento de los sistemas con nanoemulsión y nanoesferas presentan un aumento de pH después del día 4 y hasta el día 16, posterior a ese día ya no se realizaron pruebas debido a los cambios de viscosidad en las muestras, provocadas presumiblemente al crecimiento de microorganismos tal como es reportado por Lemos y col. (2017). El jugo adicionado con nanocápsulas fue el que presentó menores variaciones de pH ( $p > 0.05$ ) teniendo 2 decrementos, uno en el día 4 y otro en el 16, lo cual puede demostrar que la liberación del antioxidante es paulatina.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, se demuestra que la adición de  $\alpha$ -tocoferol tiene un efecto positivo en el jugo de sandía ya que mantiene el pH sin variaciones significativas en contraste con la muestra control. Esto puede ser un indicador de la degradación y actividad de otros compuestos en el sistema, los cuales se analizarán a continuación.

### **3.4 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 y col., 2013).

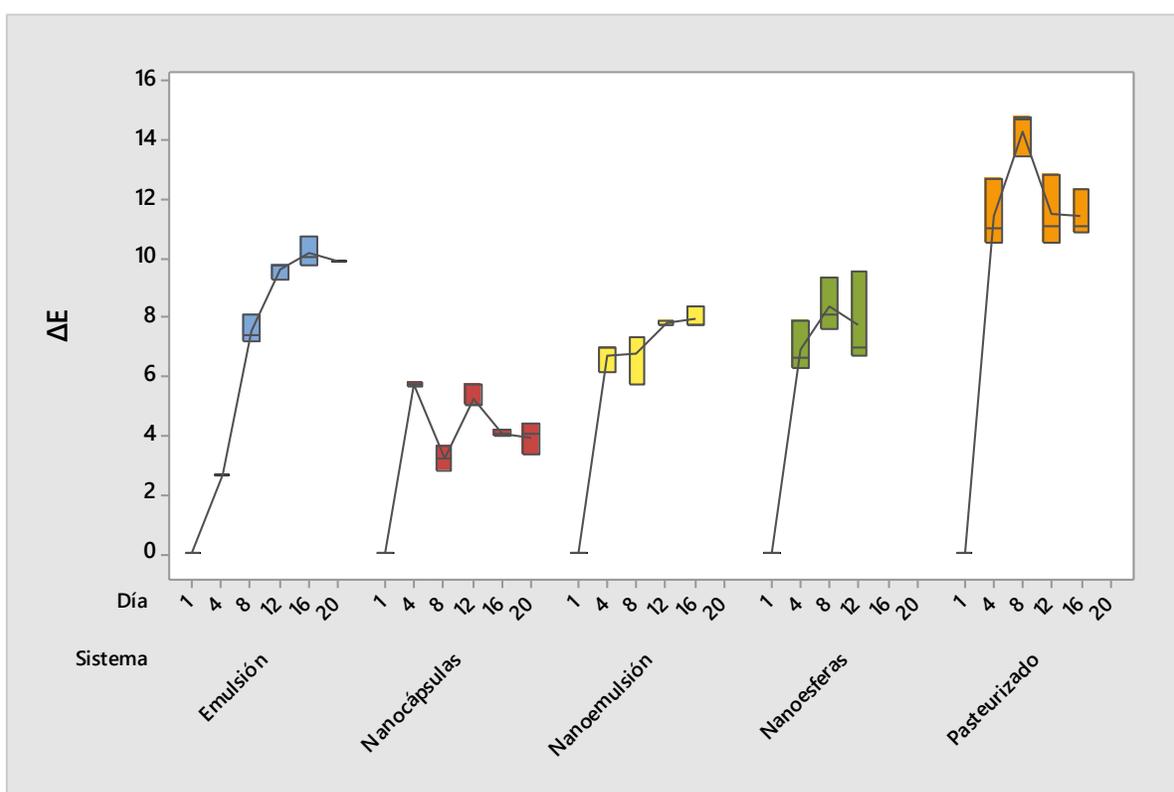
#### **3.4.1 Cambio Total de Color ( $\Delta E$ )**

El  $\Delta E$  nos permite conocer los cambios de color de manera general durante el almacenamiento o después de algún procesamiento térmico (Qian y col., 2012). Éste parámetro de color está relacionado con la pérdida de licopeno y en menor medida puede estarlo también con la oxidación de fenoles (Chew-Sew y col. 2014). En el caso de los fenoles, al oxidarse producen quinonas y éstas al reaccionar producen polímeros que son responsables del oscurecimiento de las frutas. En los jugos de frutas, sobre todo en el de sandía, no se aprecia un cambio de color a simple vista por la oxidación de fenoles. Sin embargo, pueden tener un pequeño efecto en el cambio de color durante el almacenamiento en refrigeración (Figura 16).

El ANOVA realizado evidenció que para todos los tratamientos realizados existe una diferencia estadísticamente significativa de los valores obtenidos en el día 1 al día 4 ( $p < 0.05$ ). Según estudios realizados por Thompson (1998) y tomando en cuenta los

valores obtenidos de cambio total de color, el color rojo característico de las muestras se redujo por efecto de la concentración de carotenoides presentes, en específico de licopeno.

Posterior al cuarto día de almacenamiento, los valores de cada tratamiento permanecen sin cambios significativos ( $p>0.05$ ) lo cual indica la efectividad de la incorporación de  $\alpha$  - tocoferol en las muestras, es decir, se sugiere que la liberación del componente con respecto al tiempo inhibió la oxidación de otros compuestos como lo es el licopeno.



**Figura 16.** Cambios totales de color evaluados en las diferentes muestras durante su almacenamiento refrigerado.

Aguiló-Aguayo y col. (2010a), obtienen cambios significativos en el color del jugo de sandía cuando es tratado térmicamente a 90°C por 60 segundos. También reportan valores elevados de  $\Delta E$  (14.30) que se correlacionan con la formación de compuestos producidos

por reacciones de Maillard y degradación del licopeno durante el almacenamiento. Se puede decir que los resultados obtenidos son confiables en contraste a los valores de la muestra control son muy parecidos a los reportados por los autores anteriormente mencionados.

Sin embargo, los cambios de color en el jugo de sandía están correlacionados principalmente con la degradación de licopeno por efecto del tratamiento térmico inicial, dado a que los compuestos se estabilizan en un periodo prolongado, lo cual fue registrado durante el almacenamiento refrigerado. Al correlacionar estos dos parámetros con los sistemas nanoparticulados, se observa que ambos manifiestan la mayor conservación de color y por lo tanto licopeno cuando se usan nanoemulsión y nanocápsulas, siendo la emulsión la que presenta mayor pérdida.

En las nanocápsulas se muestra un comportamiento muy similar a la obtenida para la concentración de licopeno, lo que se atribuye a la actividad del licopeno de predominar su propiedad de síntesis cuando está en presencia de  $\alpha$  - tocoferol. De acuerdo con la escala propuesta por Wang y col. (2014) para el cambio total de color las muestras analizadas presentan fuertes diferencias ( $6 < \Delta E < 12$ ) y colores completamente diferentes ( $\Delta E > 12$ ).

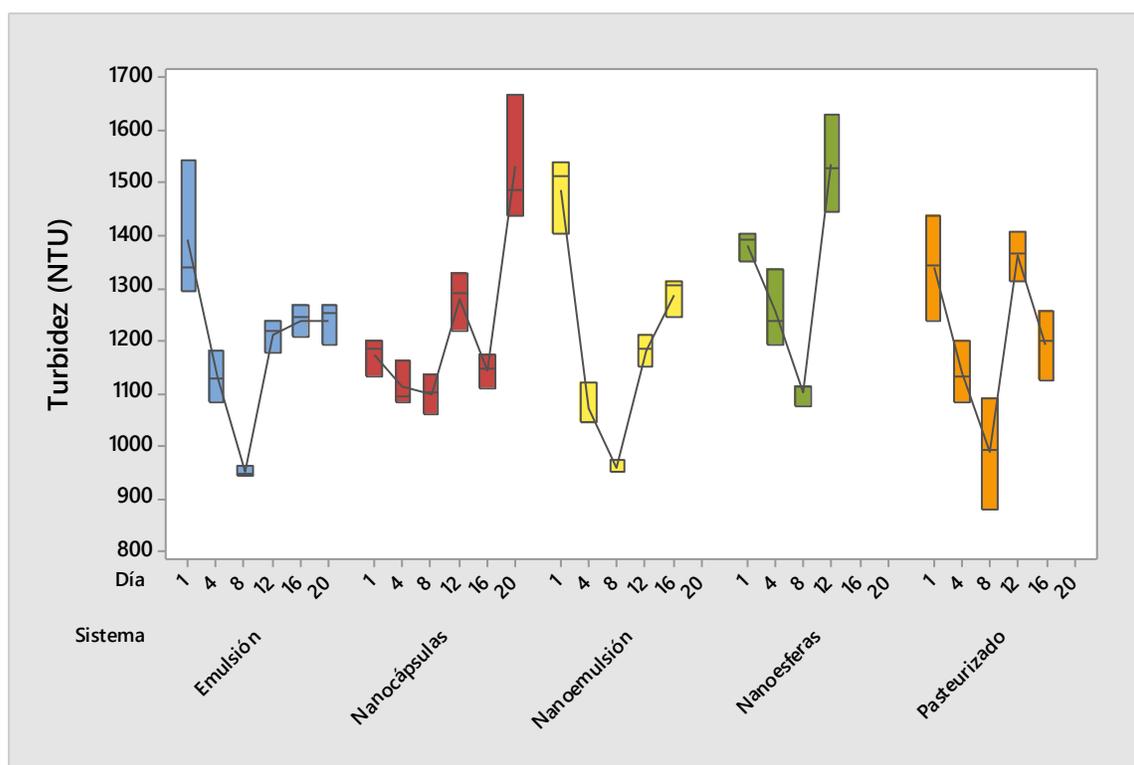
### **3.5 Turbidimetría**

La turbidez de los jugos de frutas es provocada por la opalescencia de los coloides pécticos en pseudodisolución y a las partículas en suspensión, dichas partículas en medio acuoso, dan suspensiones estables debido a su tamaño pequeño y a repulsiones electrostáticas que separan a unas de las otras (Collado - Fernández y col., 2000; Narong y James; 2006).

En el jugo de sandía las principales partículas que contribuyen a la turbidez del jugo son las pectinas, pequeñas cantidades de celulosa, algunas proteínas y aminoácidos como la citrulina. En la Figura 17 se observa los comportamientos obtenidos para la turbidez, denotando que esta variable tuvo cambios estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) con

respecto al tiempo de almacenamiento. Las muestras que contenían emulsión y nanocápsulas presentaron las menores variaciones durante su almacenamiento.

La turbidez de las muestras analizadas está en función de distintos factores como lo son la concentración de sólidos solubles y compuestos termolábiles como lo son los carotenoides, pero en mayor proporción a la actividad enzimática de la PME. Los valores obtenidos oscilan entre los 1000 y 1500 NTU lo cual sugiere la alta actividad PME y PG en los jugos de sandía. La PME actúa directamente sobre las pectinas y estas al reaccionar con iones calcio se convierten en pectinato de calcio, molécula que es inestable y precipita, provocando la transparencia del jugo a través del tiempo.



**Figura 17.** Cambios en la turbidez de los jugos asociados a la adición de  $\alpha$  - tocoferol.

La muestra con emulsión (día 12 - 16) y nanocápsulas (día 1 - 16) denotan la efectividad de la adición de sistemas con  $\alpha$  - tocoferol ya que en dichos periodos no hay efectos

estadísticamente significativos en la turbidez ( $p>0.05$ ) teniendo un valor promedio para este parámetro de 1200 NTU.

El licopeno también influye en la turbidez del jugo de sandía de acuerdo con estudios realizados por Liu y col. (2012) y Choudhary y col. (2009) mencionan en sus investigaciones que la turbidez disminuye notablemente cuando el licopeno es arrastrado por el pectato de calcio y precipita en el fondo del jugo. En todos los casos se observa que la turbidez tiende a aumentar después del día 12, y en base a lo que se menciona anteriormente, éste comportamiento puede atribuirse a que se favorece la síntesis de licopeno sobre su degradación a causa de la liberación de tocoferol, conducta que se aprecia en la Figura 17.

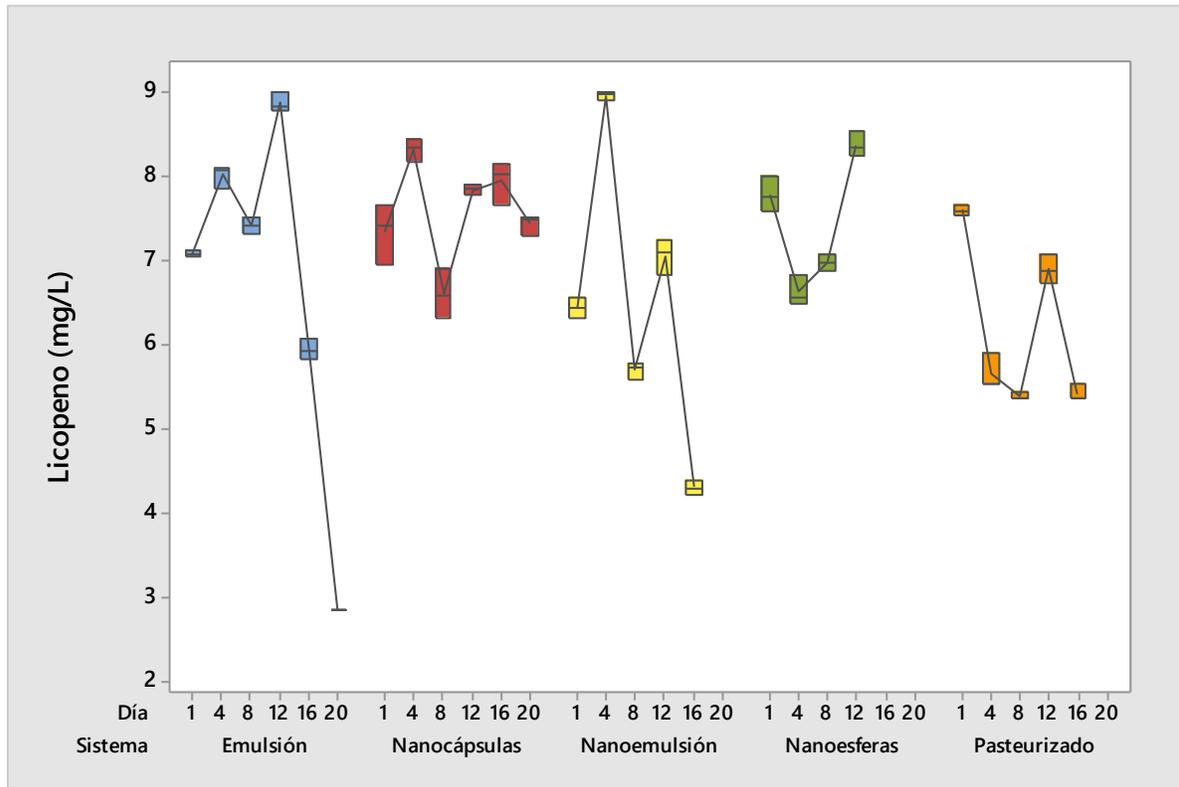
### **3.6 Contenido de Licopeno**

El contenido inicial de licopeno para los diferentes tratamientos fue de 7 mg/L, que es similar a lo reportado por Rawson y col. (2011). La Figura 18 muestra la evolución en la concentración de licopeno de los diferentes tratamientos en el jugo de sandía durante su almacenamiento en refrigeración. Se evaluaron comportamientos similares en todos los sistemas adicionados en contraste con el jugo de sandía control.

Se considera que una de las ventajas del uso de nanopartículas de  $\alpha$  - tocoferol en cuanto a la conservación de licopeno, es que al actuar el  $\alpha$  - tocoferol como antioxidante de éste carotenoide, se observa que en determinados días de almacenamiento predomina la síntesis de licopeno sobre la degradación del mismo. El  $\alpha$  - tocoferol tiene gran efecto en la conservación de este nutriente ya que observándola Figura 18, la muestra control presenta pérdidas y bajas concentraciones desde el primer día.

El ANOVA realizado denota una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos evaluados ( $p<0.05$ ). La prueba de diferenciación de medias en función del tiempo de almacenamiento denota un efecto significativo en los tratamientos ( $p<0.05$ ) a

excepción de las muestras que fueron adicionadas con nanocápsulas de  $\alpha$  - tocoferol ( $p > 0.05$ ) revelando que la liberación del activo repercute positivamente en la retención del licopeno presente.



**Figura 18.** Evolución de la concentración de licopeno en el jugo de sandía durante su almacenamiento refrigerado.

Para los sistemas con emulsión, nanocápsulas y nanoemulsión se observa que en el primer día de almacenamiento hay un aumento en la concentración de licopeno por la presencia de  $\alpha$  - tocoferol en el medio. Posteriormente en el día 4 se empieza a agotar la disponibilidad de éste antioxidante exponiendo una disminución en la concentración. Después del día 8 las tendencias de vuelve ascendente, lo cual se atribuye a una segunda liberación de  $\alpha$  - tocoferol que vuelve a proteger al licopeno de la degradación. En el caso de la emulsión y la nanomeulsión esta reserva se agota rápidamente al no existir una capa

polimérica que permita su liberación por lo que a partir del día 12 se aprecia un decremento significativo infiriendo que existe ya poca concentración de  $\alpha$  - tocoferol.

Se conoce que el licopeno es el precursor de los carotenoides restantes, es lábil a condiciones de almacenamiento y a factores como luz, oxígeno y calor. También posee la característica de sintetizarse nuevamente aunque no lo hace a la misma velocidad a la que se degrada por lo que en estudios convencionales no se detecta esta propiedad (Sin embargo es un caroteno altamente susceptible a la degradación por agentes externos como la temperatura (Tarazona – Díaz y Encarna Aguayo, 2013).

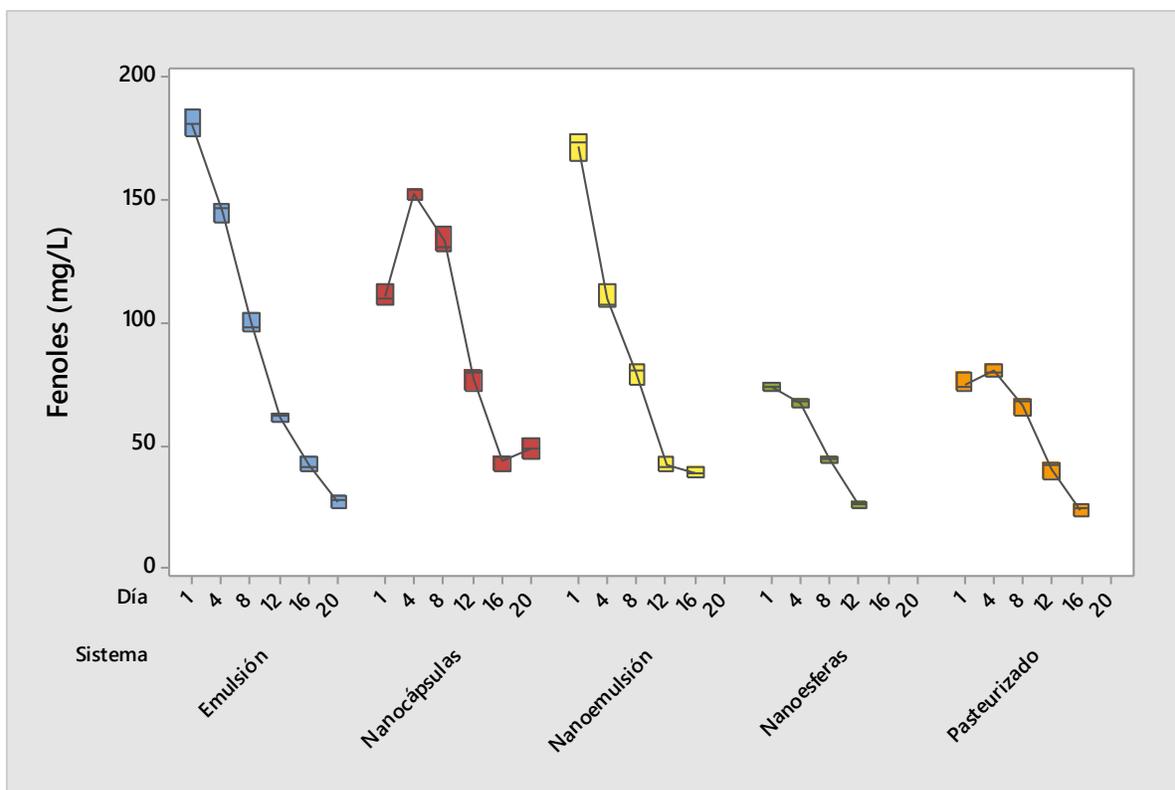
El sistema con nanocápsulas presenta una pérdida menos marcada de licopeno después del día 12, comportamiento que puede deberse a que aún existe liberación de tocoferol aunque en menor proporción conforme transcurre el almacenamiento. En las nanoesferas a partir del día 4 se aprecia un incremento en la concentración de licopeno, demostrando que tienen un efecto positivo en este parámetro.

### 3.7 Fenoles Totales

Es bien conocido que los fenoles son compuestos sumamente lábiles que se degradan fácilmente en presencia de luz, calor y sobre todo oxígeno. Para este caso en particular, el  $\alpha$  - tocoferol puede presentar dos papeles importantes, 1) actuar como antioxidante de los polifenoles degradándose primero que éstos compuestos, y 2) es secuestrar el oxígeno presente en el sistema para así reducir la actividad enzimática de la POD la cual es uno de los principales responsables de la degradación de fenoles en los jugos.

La Figura 19, muestra que el jugo adicionado con nanoesferas tiene un comportamiento muy similar a la muestra control desde el primer día de almacenamiento teniendo concentraciones de 70 a 75 mg/L, valores que presentan los otros sistemas después del día 8 el 12. Esto es atribuido a que las nanoesferas no contenían  $\alpha$  - tocoferol que es cuantificado como compuesto fenólico por el reactivo de Folin-Ciocalteu ya que estudios realizados para jugo de sandía fresco reportan valores de contenido de fenoles totales de

138.9 mg/L (Rawson y col., 2011). Estos resultados son comparables para el jugo fresco y son consistentes con el presente estudio experimental.



**Figura 19.** Evolución de los fenoles totales de las muestras en los diferentes tratamientos realizados.

Los resultados denotan que durante el almacenamiento en refrigeración hubo una pérdida significativa ( $p < 0.05$ ) de estos compuestos, lo que sugiere que los sistemas de talla submicrónica ayudan a preservar los fenoles. Para el caso de las nanocápsulas después del octavo día de almacenamiento se infiere que la liberación del  $\alpha$  - tocoferol disminuyó considerablemente permitiendo realizar la actividad de oxidación a la POD haciendo disminuir las concentraciones de los polifenoles totales por debajo de los 50 mg/L.

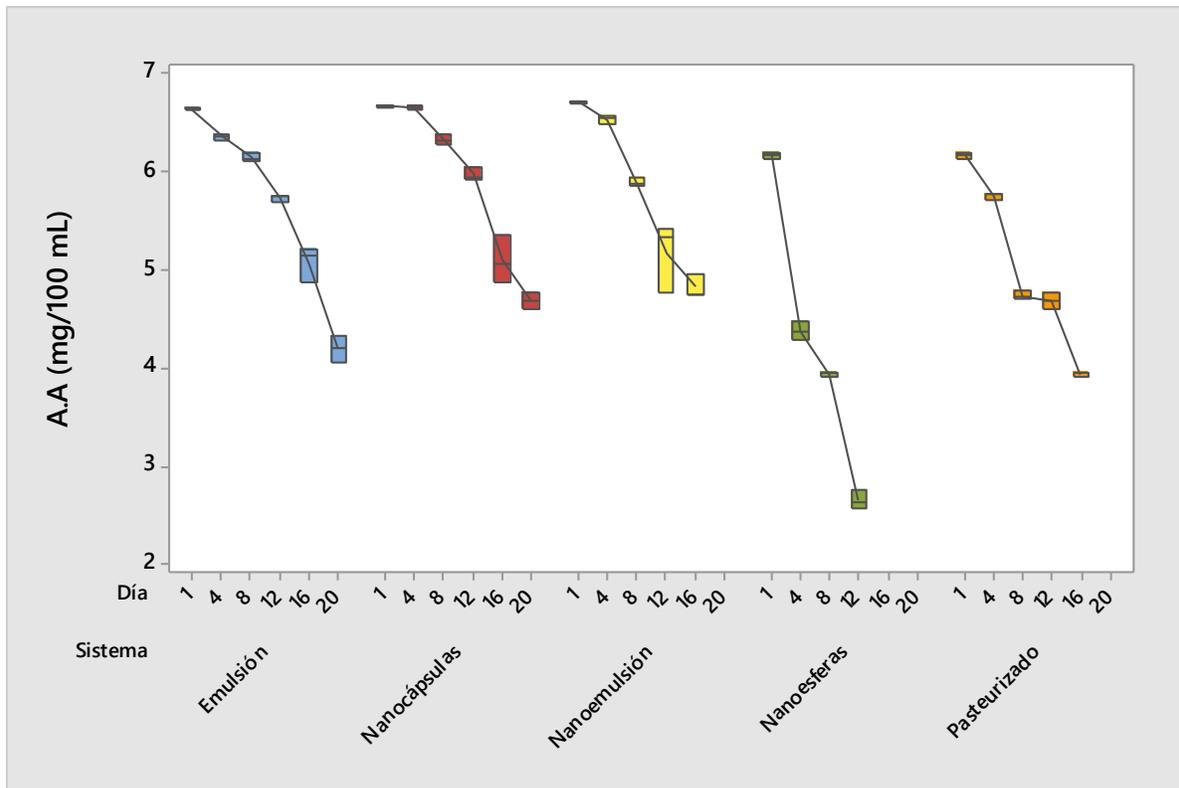
Los sistemas de emulsión, nanoemulsión y nanocápsulas presentan tendencias similares, sobre todo la emulsión y las nanocápsulas que hasta el día 8 conservan una concentración

mayor a 100 mg/L. La disminución en la concentración tan drástica de fenoles totales concuerda con el análisis anterior de concentración de licopeno. Al ser el  $\alpha$  - tocoferol un potente antioxidante reacciona de manera inmediata a la oxidación en el medio, por lo cual su concentración disminuye, dando una disminución en la concentración de fenoles totales asociado a la preservación de licopeno y ácido ascórbico. Después de este periodo, las nanocápsulas presentan un marcado decremento en la concentración hasta el día 12 donde disminuyen la velocidad de degradación de estos compuestos, lo cual puede ser atribuido a la segunda liberación de tocoferol que se considera después de este día en el almacenamiento.

### 3.8 Ácido Ascórbico

La concentración de ácido ascórbico obtenida para el jugo fresco de sandía fue 6.5 mg/100 mL en promedio al inicio del periodo de almacenamiento para los distintos tratamientos del jugo de sandía. Estudios realizados por Rawson y col. (2011) reportan valores de ácido ascórbico de 4.02 mg/100 mL lo cual es ligeramente inferior y puede deberse a una diferencia en los cultivares de sandía investigados. Estos resultados son comparables para el jugo fresco y son consistentes con el presente estudio experimental.

Las tendencias de la concentración de ácido ascórbico con respecto al tiempo de almacenamiento tienen conductas similares en los diferentes sistemas empleados. El sistema con nanoesferas proyecta un comportamiento muy inestable ya que tan solo del día 1 al día 4 disminuye de 6.5 a 4.5 mg/L la concentración de éste compuesto, incluso refleja mayores pérdidas que la muestra control. Este comportamiento puede deberse a la característica que posee el ácido ascórbico de ayudar al  $\alpha$  - tocoferol a recuperar su función antioxidante después de que esta ha actuado como tal. La prueba de diferenciación de medias evidenció un efecto estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) dado por el tiempo de almacenamiento en refrigeración de los jugos de sandía.



**Figura 20.** Cambios en la concentración de ácido ascórbico de los jugos durante su almacenamiento.

Los sistemas que presentan mayor concentración de ácido ascórbico son los que contienen  $\alpha$  - tocoferol, ya que presentan una concentración de 4.5 mg/100 mL al final del almacenamiento. Con respecto al sistema que contiene nanoemulsión, en los primeros 4 días demuestra tener una fuerte acción antioxidante, sin embargo, a partir del día 8 ésta actividad empieza a disminuir y lo hace considerablemente en el día 12, lo cual se puede atribuir a que la nanoemulsión es más susceptible a la maduración de Ostwald a través del tiempo, lo que ocasiona que el antioxidante tenga menos disponibilidad en el medio.

De acuerdo con los resultados publicados por Rawson y col. (2011), quienes utilizan la termosonicación como método de conservación, reportan que el ácido ascórbico y otros nutrientes como el licopeno y los polifenoles tienen mayor retención cuando son tratados a temperaturas menores de 45°C, lo cual es congruente con el presente trabajo

experimental. El uso de sistemas coloidales con  $\alpha$  - tocoferol favorece la retención en la concentración de ácido ascórbico cuando el jugo es sometido a altas temperaturas y aunado a esto, algunos sistemas submicrónicos (Nanoemulsión y nanocápsulas) brindan mejores resultados en contraste con la emulsión durante el almacenamiento en refrigeración.

## 3.9 Actividades Enzimáticas

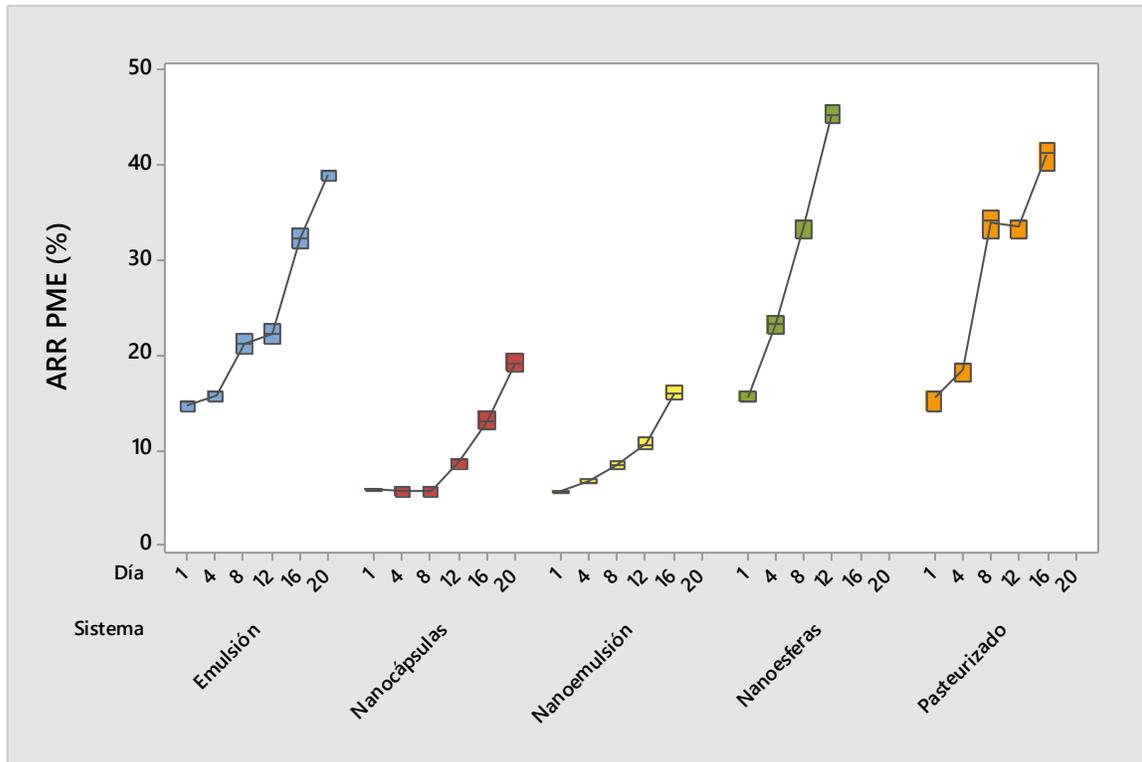
### 3.9.1 Pectinmetilesterasa (PME)

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 y col., 2006, Zhang y col., 2011).

La actividad de la PME se muestra en la Figura 21 y su actividad está relacionada con la presencia de  $\alpha$ -tocoferol. El efecto de este compuesto sobre la enzima puede estar relacionado porque la PME es una enzima hidrolítica y disminuye su acción al estar en presencia de  $\alpha$ -tocoferol que es una sustancia hidrófoba. En todas las muestras se aprecia que la tendencia de las curvas es que la actividad residual aumenta a través del tiempo de almacenamiento. El resultado obtenido en el primer día de la muestra control es parecido al obtenido por Aguiló-Aguayo y col. (2010a) quienes reportan que a 90°C y 60 segundos de tratamiento térmico, la actividad residual es de 25.4%, aunque en nuestro estudio la ARR es más baja debido a que la temperatura de pasteurización es más elevada y el tiempo de tratamiento más prolongado (González-Reza y col., 2015).

La muestra con nanoesferas tiene comportamiento similar a la muestra control mostrando valores similares de ARR con respecto al tiempo, aunque en el día 12 presenta una actividad más alta con respecto al control lo que demuestra que no tuvo efecto alguno en disminuir la actividad de la PME dado a que ambos tratamientos no contenían  $\alpha$ -tocoferol.

Este comportamiento también se observa en la curva que corresponde a la POD (Figura 21) donde se aprecia un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) de ARR después de ese tiempo de almacenamiento.



**Figura 21.** Actividad residual relativa de la PME en los jugos de sandía durante su almacenamiento refrigerado.

La emulsión refleja mayor efectividad que los dos tratamientos mencionados anteriormente (control y nanoesferas). Sin embargo, también de revela que después del día 12 aumenta significativamente la ARR ( $p < 0.05$ ) lo que se puede atribuir a que ya fue agotado el tocoferol presente en la muestra.

La prueba de diferenciación de grupos reveló que los tratamientos que tuvieron un impacto estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) en la disminución de actividad enzimática fueron los sistemas de nanocápsulas y nanoemulsión. Las muestras adicionadas con nanocápsulas presentaron un mayor efecto, ya que presenta un comportamiento

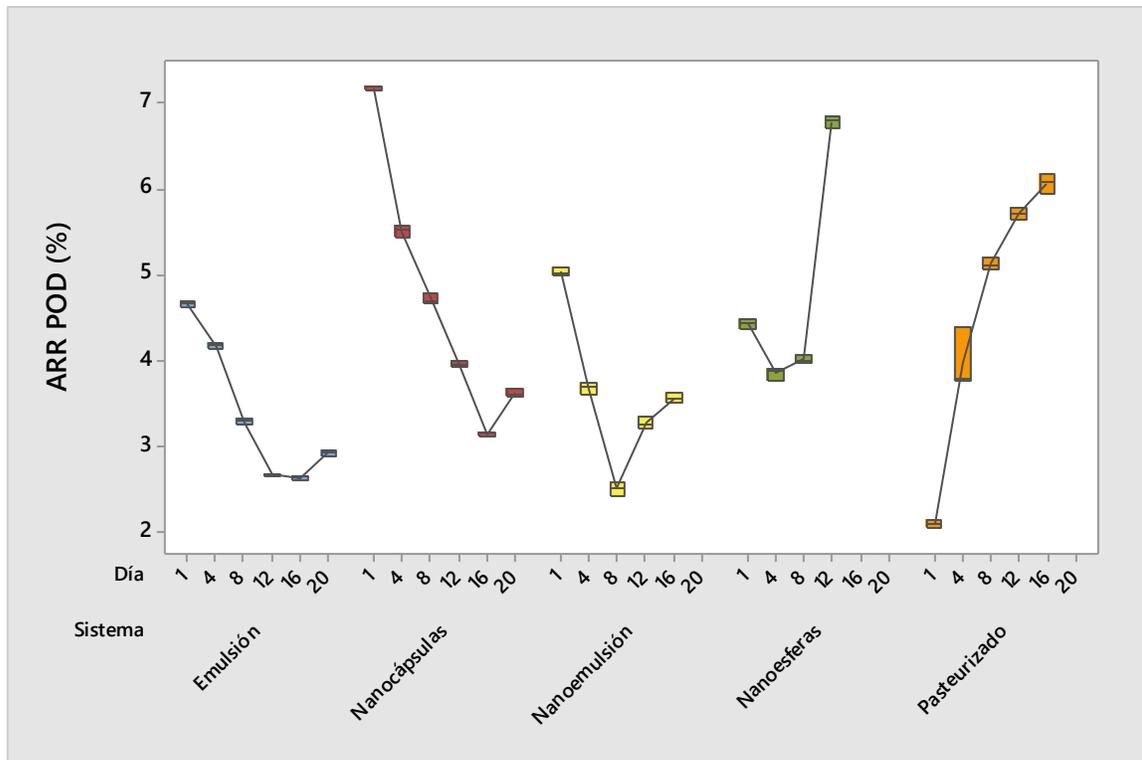
constante hasta el día 8 de almacenamiento, posteriormente en el día 12 se aprecia un pequeño aumento en la ARR ( $p>0.05$ ) posiblemente porque en ese día ocurrió una liberación de activo en menor proporción que al inicio. En los días subsecuentes se aprecia un comportamiento lineal que es característico de la cinética de primer orden correspondiente a estas enzimas.

### 3.9.2 Peroxidasa (POD)

La enzima POD cataliza las reacciones de oxidación utilizando ya sea peróxidos u oxígeno como aceptor de hidrogeno, promoviendo cambios deteriorantes en el color, sabor y valor nutricional de los jugos de frutas. El mecanismo de acción de la POD implica la formación de complejos de donantes enzimas-hidrógeno, los cuales pueden ser fenoles, aminos u otros compuestos orgánicos. Por lo tanto, la POD podría reducir sustancialmente los beneficios para la salud, degradando nutrientes importantes como el ácido ascórbico y carotenoides (Hemeda y Klein, 1990)

La actividad residual de la POD se muestra en la Figura 21. El ANOVA realizado revela que las muestras presentan valores similares con respecto a las medias de los tratamientos ( $p>0.05$ ). Sin embargo un efecto estadísticamente significativo fue evaluado en las muestras con respecto al tiempo en su almacenamiento en refrigeración ( $p<0.05$ ).

En la muestra control ésta actividad aumenta conforme pasa el tiempo de almacenamiento, mostrando una tendencia constante hacia el último periodo en refrigeración. Se aprecia una curva muy parecida a la de actividad enzimática sustrato vs tiempo, para este caso entre mayor sea el porcentaje de ARR, quiere decir que la enzima está en su forma más activa. De igual manera, para correlacionar se considera la curva de concentración de fenoles mostrada anteriormente (Figura 21) ya que en ella se visualiza de manera concreta como la concentración de fenoles disminuye significativamente en comparación con los sistemas que contienen  $\alpha$ -tocoferol y a medida que esto sucede la actividad enzimática también se reduce por la ausencia de sustrato que se va presentando.



**Figura 22.** Actividad residual relativa de la POD en los jugos de sandía durante su almacenamiento refrigerado.

De los sistemas submicronicos el que presentó menor efecto hacia la POD fueron las nanoesferas quienes disminuyeron la actividad enzimática hasta el día 4 para después aumentarla de 3 a 7 % la ARR hacia el día 16. El sistema que tuvo un efecto significativo fue el de las nanocápsulas ( $p < 0.05$ ), posiblemente porque la liberación de  $\alpha$ -tocoferol en éste sistema es paulatina a través del tiempo, brindando mayor disponibilidad de este compuesto en el jugo de sandía durante el almacenamiento hasta el día 16, después de este día empieza a aumentar la actividad enzimática probablemente por el agotamiento del antioxidante.

Existen estudios en alimentos donde se manejan diferentes sistemas submicrónicos utilizando como principio activo alfa tocoferol con el motivo de observar algún efecto que éste pueda causar en la actividad enzimática. Galindo-Perez y col. (2015) realizaron un estudio donde determinan que la presencia de nanopartículas utilizadas como

recubrimiento en manzanas frescas cortadas, ayudan a disminuir las reacciones de oxidación provocadas por enzimas oxidantes debido a que limitan la absorción de oxígeno.

En el jugo de sandía las nanopartículas de  $\alpha$ -tocoferol pueden jugar un papel similar ya que al estar distribuidas, este antioxidante tiene presencia en toda la muestra y al querer reaccionar las partículas de oxígeno con la POD, el  $\alpha$ -tocoferol secuestra las moléculas de manera efectiva, evitando así que aumente la actividad de la enzima en el sistema.

## CONCLUSIONES

Las nanopartículas de  $\alpha$ -tocoferol ayudaron a mantener la calidad nutracéutica del jugo de sandía durante su almacenamiento en comparación con el jugo que solo fue pasteurizado. El sistema que tuvo efecto benéfico fue las nanocápsulas, dado a su liberación en función del tiempo, logrando tener mayor disponibilidad a través del almacenamiento y por lo tanto, interviniendo en las reacciones de oxidación de los demás nutrientes que eran susceptibles a degradarse. La emulsión y nanoemulsión también ayudaron a conservar los compuestos termolábiles de interés, aunque a diferencia de las nanocápsulas, estos sistemas se agotaron rápidamente ya que se encontraban altamente disponibles a causa de la ausencia de un polímero que ayudara a su protección.

Por otro lado, las nanoesferas tuvieron un efecto restringido debido a que no se encontraban funcionalizadas. Se esperaba que presentaran un efecto de “esponja” absorbiendo nutrientes y protegiéndolos en su interior, esto solo se logró con el licopeno el cual también ayudó a conservar el color del jugo teniendo un efecto parecido al que ejercieron las nanocápsulas confirmando así que el licopeno es el principal responsable de las alteraciones de color y ayudando a conservarlo, el color se ve menos afectado.

También se demostró que el  $\alpha$ -tocoferol ayudó a disminuir la actividad enzimática de PME y POD lo que se reflejó en la turbidez del jugo que fue modificada en menor proporción en presencia de sistemas submicrónicos y en la degradación de fenoles que fue más lenta en presencia de éste antioxidante en talla nanométrica. La concentración de ácido ascórbico se benefició por la presencia de nanoestructuras lo que confirma la alta actividad antioxidante del  $\alpha$ -tocoferol.

## RECOMENDACIONES

- Realizar análisis microbiológicos para saber con exactitud en que momento comienza el crecimiento microbiano.
- Realizar la cinética de otras enzimas como polifenoloxidasas y poligalacturonasas que nos ayuden a contrastar y correlacionar los resultados obtenidos.
- Añadir nanoesferas cargadas con alfa tocoferol para estudiar si puede conservar mejor otras propiedades aparte del color.
- Realizar la caracterización de los sistemas nanoparticulados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 2000 Agro. (2014). México, primer lugar mundial en exportaciones de sandía. *Revista Industrial del Campo Sitio*.
- Aganovic, K., Grauwet, T., Siemer, C., Toepfl, S., Heinz, V., Hendrickx, M., & Van Loey, A. (2016). Headspace fingerprinting and sensory evaluation to discriminate between traditional and alternative pasteurization of watermelon juice. *European Food Research and Technology*, 242(5), 787-803.
- Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2010a). Color and viscosity of watermelon juice treated by high-intensity pulsed electric fields or heat. *Innovative food science & emerging technologies*, 11(2), 299-305.
- Aguiló-Aguayo, I., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2010b). Impact of high-intensity pulsed electric field variables affecting peroxidase and lipoxygenase activities of watermelon juice. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 897-902.
- AROMICS (2008). Plant cell Wall aromatics: influence on degradation of biomass. *BioFru SCI*.
- Avella, D. M. G., García, C. A. O., & Cisneros, A. M. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. In *Memorias del Simposio de Metrología. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Nacional de Querétaro*.
- 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 Dergal, S. (2013). *Química de los alimentos* (No. 547.3 B138q5). Pearson.
- Barba, L., Rodríguez, R., & Córdova, J. L. (1991). *Manual de técnicas microquímicas de campo para la arqueología*. UNAM.
- Barreiro, J., Sandoval, A. (2006). Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Venezuela: Editorial Equinoccio.

- Bellary, A. N., Indiramma, A. R., Prakash, M., Baskaran, R., & Rastogi, N. K. (2016). Anthocyanin infused watermelon rind and its stability during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 554-562.
- Berg JM, Stryer L & Tymoczko JL (2008) Bioquímica. 6ª edición. Editorial Reverté. Barcelona, España.
- Bosch, V., Cilla, A., García-Llatas, G., Gilabert, V., Boix, R., & Alegría, A. (2013). Kinetics of ascorbic acid degradation in fruit-based infant foods during storage. *Journal of Food Engineering*, 116(2), 298-303.
- 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.
- 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.
- Cheung, P. C., & Mehta, B. M. (Eds.). (2015). *Handbook of Food Chemistry*. Springer Reference.
- Chew-Sew, Ch., Mohd-Ghazali, H., Martín-Belloso, O., Adzahan-Noranizan, M. (2014). Effects of combining ultraviolet and mild heat treatments on enzymatic activities and total phenolic contents in pineapple juice. 26, 511 – 516.
- Choudhary, R., Bowser, T. J., Weckler, P., Maness, N. O., & McGlynn, W. (2009). Rapid estimation of lycopene concentration in watermelon and tomato puree by fiber optic visible reflectance spectroscopy. *Postharvest biology and technology*, 52(1), 103-109.
- Choudhary, R., Bowser, T. J., Weckler, P., Maness, N. O., & McGlynn, W. (2009). Rapid estimation of lycopene concentration in watermelon and tomato puree by fiber optic visible reflectance spectroscopy. *Postharvest biology and technology*, 52(1), 103-109.

- 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.
- Cushen, M., Kerry, J., Morris, M., Cruz-Romero, M., Cummins, E. (2012). Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation.
- Davis, A. R., Fish, W. W., & Perkins-Veazie, P. (2003). A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. *Postharvest Biology and Technology*, 28(3), 425-430.
- Duarte, A. C. P., Coelho, M. A. Z., & Leite, S. G. F. (2002). Identification of Peroxidase and Tyrosinase in Green Coconut Water. *CYTA-Journal of Food*, 3(5), 266-270.
- Dziezak, J. D. (1988). Emulsifiers: The interfacial key to emulsion stability. *Food technology (USA)*.
- Eitenmiller, R. R., Landen Jr, W. O., & Ye, L. (2016). *Vitamin analysis for the health and food sciences*. CRC press.
- Friberg, S., Larsson, K., & Sjoblom, J. (Eds.). (2003). *Food emulsions*. CRC Press.
- Fuchs, M., Turchiuli, C., Bohin, M., Cuvelier, M. E., Ordonnaud, C., Peyrat-Maillard, M. N., & Dumoulin, E. (2006). Encapsulation of oil in powder using spray drying and fluidised bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, 75(1), 27-35.
- Galindo-Pérez, M. J., Quintanar-Guerrero, D., Mercado-Silva, E., Real-Sandoval, S. A., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2015). The Effects of tocopherol nanocapsules/xanthan gum coatings on the preservation of fresh-cut apples: evaluation of phenol metabolism. *Food and bioprocess technology*, 8(8), 1791-1799.
- Geankoplis, C. J. C. J. (1998). *Procesos de transporte y operaciones unitarias*. Compañía Editorial Continental.
- Ghitescu, R. E., Popa, A. M., Popa, V. I., Rossi, R. M., & Fortunato, G. (2015). Encapsulation of polyphenols into pHEMA e-spun fibers and determination of their antioxidant activities. *International journal of pharmaceutics*, 494(1), 278-287.
- Giancoli, D. (2006). *Física: Principios con aplicaciones*. PEARSON. México.
- 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-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., Quintanar-Guerrero, D., Flores-Minutti, J. J., Gutiérrez-Cortez, E., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2015). Nanocapsules of  $\beta$ -carotene: Thermal degradation kinetics in a scraped surface heat exchanger (SSHE). *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), 124-130.
- González-Sánchez, H., González-Palomares, S., Rosales-Reyes, T. (2011). Caracterización de compuestos volátiles durante el secado por aspersion de jugo de sandía (*Citrullus lanatus*). *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. (51). 10 – 15.
- Guevara Bretón, N., & Jiménez Munguía, T. (2008). Encapsulación: técnicas y aplicaciones en la industria alimentaria. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* 2, 36-49.
- 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.
- Handford, C. E., Dean, M., Spence, M., Henchion, M., Elliott, C. T., & Campbell, K. (2015). Awareness and attitudes towards the emerging use of nanotechnology in the agri-food sector. *Food Control*, 57, 24-34.
- Hemeda, H. M., & Klein, B. P. (1990). Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal of Food Science*, 55(1), 184-185.
- Hernández-Sánchez, H., & Gutiérrez-López, G. F. (Eds.). (2015). *Food Nanoscience and Nanotechnology*. Springer.
- Huang, Q. (Ed.). (2012). *Nanotechnology in the food, beverage and nutraceutical industries*. Elsevier.
- 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.
- Jay, J. (2005). *Microbiología de alimentos*. Porto Alegre: Artmed.

- 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.
- Kosegarten-Conde, C., Jiménez-Munguía, M. (2012). Factores principales que intervienen en la estabilidad de una emulsión doble. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, *6*(2), 1 – 18.
- Kulmyrzaev, A., Sivestre, M. P., & McClements, D. J. (2000). Rheology and stability of whey protein stabilized emulsions with high CaCl<sub>2</sub> concentrations. *Food Research International*, *33*(1), 21-25.
- Lakkis, J. M. (2016). *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. John Wiley & Sons.
- Lemos, Á. T., Ribeiro, A. C., Fidalgo, L. G., Delgadillo, I., & Saraiva, J. A. (2017). Extension of raw watermelon juice shelf-life up to 58days by hyperbaric storage. *Food Chemistry*, *231*, 61-69.
- Lewis, M. J., Heppell, N., & Hastings, A. (2000). Continuous thermal processing of foods— Pasteurization and UHT Sterilization.
- Li, J., Chotiko, A., Narcisse, D. A., & Sathivel, S. (2016). Evaluation of alpha-tocopherol stability in soluble dietary fiber based nanofiber. *LWT-Food Science and Technology*, *68*, 485-490.
- Liu, Y., Hu, X., Zhao, X., & Song, H. (2012). Combined effect of high pressure carbon dioxide and mild heat treatment on overall quality parameters of watermelon juice. *Innovative food science & emerging technologies*, *13*, 112-119.
- López-Díaz, A., Palou, E., López-Malo, A. (2012). Radición ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, *6*, 79 – 93.
- 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.
- Mata-Jiménez, L. (1992). El cólera: historia, prevención y control.
- Mirhosseini, H., Tan, C. P., Hamid, N. S., & Yusof, S. (2008). Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on  $\zeta$ -potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 315(1), 47-56.
- 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.
- 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.
- Moreiras, O. (2013). Tablas de composición de alimentos. 16° edición. PIRAMIDE.
- Narong, P. & James, A.E. (2006). Effect of pH on the  $\zeta$ -potential and turbidity of yeast suspensions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* , 274,130–137.
- NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-173-SCFI-2009 JUGOS DE FRUTAS PREENVASADOS-DENOMINACIONES, ESPECIFICACIONES FISICOQUIMICAS, INFORMACION COMERCIAL Y METODOS DE PRUEBA PREFACIO.
- Noronha, C. M., Granada, A. F., de Carvalho, S. M., Lino, R. C., de OB Maciel, M. V., & Barreto, P. L. M. (2013). Optimization of  $\alpha$ -tocopherol loaded nanocapsules by the nanoprecipitation method. *Industrial crops and products*, 50, 896-903.
- Organización de las naciones unidas para la agricultura y alimentación (FAO). (2008).

- 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).
- Periago M., Martínez-Valverde, I., Ros, G., Martínez, C., López, G. (2001). Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo del licopeno. *An. Vet. (Murcia)*, 17, 51 – 66.
- Pinchao, Y. A., Osorio, O., & Mejía, D. (2014). Inactivación térmica de pectinmetilesterasa en jugo de uchuva (*Physalis peruviana* L.). *Información tecnológica*, 25(5), 55-64.
- 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.
- Porras-Loaiza, A., & López-Malo, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 121-124.
- Primo, E. (1997). Química de los alimentos. *Síntesis SA*.
- Qian, C., Decker, E. A., Xiao, H., & McClements, D. J. (2012). Inhibition of  $\beta$ -carotene degradation in oil-in-water nanoemulsions: influence of oil-soluble and water-soluble antioxidants. *Food chemistry*, 135(3), 1036-1043.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Fessi, H., & Doelker, E. (1998). Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug development and industrial pharmacy*, 24(12), 1113-1128.
- Rai, M., Ribeiro, C., Mattoso, L., & Duran, N. (Eds.). (2015). *Nanotechnologies in food and agriculture*. Springer.
- Ranganna, S. (1977). Manual of analysis of fruit and vegetable products.
- 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.

- 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.
- Romain, J., Thomas, C. (2010). *Ciencia de los alimentos vol. 2 tecnología de los productos alimentarios*. Editorial Acribia.
- Ruales, J., Ibarz, A., & Samaniego, E. (2014). Efecto de irradiación ultravioleta en la actividad enzimática de la polifenoloxidasas y peroxidasa y las propiedades fisicoquímicas del jugo de dos variedades de naranjilla (*Solanum quitoense* LAM). *Revista Politécnica*, 33(1).
- Samaniego, E., Ibarz, A., Ruales, J. (2014). Efecto de irradiación ultravioleta en la actividad enzimática de la polifenoloxidasas y peroxidasa y las propiedades fisicoquímicas del jugo de dos variedades de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam). *Revista EPN*, 33(2).
- Santos, M. D., Queirós, R. P., Fidalgo, L. G., Inácio, R. S., Lopes, R. P., Mota, M. J., & Saraiva, J. A. (2015). Preservation of a highly perishable food, watermelon juice, at and above room temperature under mild pressure (hyperbaric storage) as an alternative to refrigeration. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 901-905.
- 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 Agaroquímica y Tecnología de Alimentos*, 11(3), 217-222.
- 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.
- Sikorski, Z. E. (Ed.). (2006). *Chemical and functional properties of food components*. CRC press.
- 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.
- Spínola, V., Llorent-Martínez, E. J., & Castilho, P. C. (2014). Determination of vitamin C in foods: Current state of method validation. *Journal of Chromatography A*, 1369, 2-17.
- Tarazona-Díaz, M. P., & Aguayo, E. (2013). Influence of acidification, pasteurization, centrifugation and storage time and temperature on watermelon juice quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(15), 3863-3869.
- 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.
- Tillmans, J. (1930). Das antiskorbutische vitamin. *Zeitschrift für Untersuchung der Lebensmittel*, 60(1-2), 34-44.
- Torres, E. F., Bayarri, S., Sampedro, F., Martínez, 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 Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 14(6), 525-529.
- Vegara, S., Martí, N., Mena, P., Saura, D., & Valero, M. (2013). Effect of pasteurization process and storage on color and shelf-life of pomegranate juices. *LWT-Food Science and Technology*, 54(2), 592-596.
- Viñas, P., & Campillo, N. (2014). Gas chromatography–mass spectrometry analysis of polyphenols in foods. *Polyphenols in Plants: Isolation, Purification and Extract Preparation*, 103-157.
- Vitale, A., Bernatene, E., Pomillo, A. (2010). Carotenoides en quimiopreención: Licopeno. *Acta bioquímica clínica Latinoamérica*, 44 (2), 195 – 238.
- 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., Voragen, A. G., & Whitaker, J. R. (2003). *Handbook of food enzymology*. Marcel Dekker.
- Zambrano-Zaragoza, M. L., Gutiérrez-Cortez, E., Del Real, A., González-Reza, R. M., Galindo-Pérez, M. J., & Quintanar-Guerrero, D. (2014a). Fresh-cut Red Delicious apples coating using tocopherol/mucilage nanoemulsion: Effect of coating on polyphenol oxidase and pectin methylesterase activities. *Food research international*, *62*, 974-983.
- 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.
- Zambrano-Zaragoza, M. L., Mercado-Silva, E., Gutiérrez-Cortez, E., Cornejo-Villegas, M. A., & Quintanar-Guerrero, D. (2014b). The effect of nano-coatings with  $\alpha$ -tocopherol and xanthan gum on shelf-life and browning index of fresh-cut "Red Delicious" apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *22*, 188-196.
- Zhang, C., Trierweiler, B., Li, W., Butz, P., Xu, Y., Rufer, C. E., Ma, Y., & Zhao, X. (2011). Comparison of thermal, ultraviolet-c, and high pressure treatments on quality parameters of watermelon juice. *Food Chemistry*, *126*(1), 254-260.