



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

**“DESARROLLO DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE
GOMA XANTANA-NANOPARTÍCULAS LIPÍDICAS SÓLIDAS
(NLS) PARA LA CONSERVACIÓN DE GUAYABA
A BAJA TEMPERATURA”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
INGENIERA EN ALIMENTOS
P R E S E N T A
ALICIA GONZÁLEZ VELÁZQUEZ

*Asesores: Dr. David Quintanar Guerrero
I .A. Alfredo Álvarez Cárdenas*



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN

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



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

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

Desarrollo de un recubrimiento comestible goma xantana-Nanopartículas
Lipídicas Sólidas (NLS) para la conservación de guayaba a baja temperatura.

Que presenta la pasante Alicia González Velázquez

Con número de cuenta: 405091283 para obtener el título de:

Ingeniera en Alimentos

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

**ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"**

Cuautitlan Izcalli, Mex. a 23 de febrero de 2011

PRESIDENTE	<u>I.A. Laura Margarita Cortazar Figueroa</u>	
VOCAL	<u>Dr. David Quintanar Guerrero</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Elsa Gutiérrez Cortez</u>	
1er SUPLENTE	<u>M.C. Ma. de la Luz Zambrano Zaragoza</u>	
2º SUPLENTE	<u>M.C. Araceli Ulloa Saavedra</u>	

DEDICATORIAS

*Este trabajo es dedicado a mis hijas **Ximena Siomara** y **Elena Saraí**
a quienes amo con todo mi corazón, por ser la luz de mi vida y mi razón de ser.*

AGRADECIMIENTOS

Fueron muchos los momentos difíciles a lo largo de este camino, pero por fin me puedo sentar a escribir la parte más emocionante y personal de este trabajo: los agradecimientos a todos aquellos quienes de una manera u otra me ayudaron a alcanzar esta meta.

En primer lugar, gracias a Luz Zambrano por haberme dado la oportunidad de trabajar dentro de este proyecto de investigación. Gracias por tu ayuda incondicional a lo largo de estos años y sobre todo por no dejar que renunciara a continuar con mi trabajo. ¡Muchísimas gracias!

Un gran agradecimiento para el Dr. David Quintanar Guerrero, por permitirme trabajar dentro de su laboratorio, especialmente por su amistad y por haberme introducido en el mundo de la investigación.

Gracias al I.A. Alfredo Álvarez Cárdenas, por ser el mejor profesor que tuve durante la carrera y porque a pesar de que le falle muchas veces, no dejó de apoyarme y confiar en mí

A mi querida amiga Pamela Ramírez Zamorano por su amistad y apoyo durante la experimentación

Gracias a todos mis compañeros de laboratorio, Geritas y Nestor principalmente. A quien agradezco por su apoyo durante mi estancia en el laboratorio. Gracias.

Este agradecimiento va dirigido a una persona muy especial. Quien me ha guiado y acompañado en todo momento. Quien ha robado muchísimas sonrisas de mis labios en momentos difíciles. Quien ha estado siempre muy pendiente de mí y a quien le estaré eternamente agradecida...Pakito gracias por no interponerte nunca a mis deseos de seguir estudiando y por apoyarme siempre y animarme en los momentos de flaqueza por ser incondicional. Por soportarme y por quererme como el primer día, por ser mi esposo, mi amigo, por haberme dado un par de hijas preciosas y esencialmente por confiar en mí. Un millón de gracia.

Papá muchísimas gracias por haber confiado en mí. Gracias por apoyarme desde el primer momento de mi vida. Gracias por tus palabras de aliento, consejos y recomendaciones a los largo de todos estos años y especialmente por todo tu cariño y comprensión. Gracias por estar al final del camino.

Mamá gracias a ti por haberme dado la vida, apoyarme en todo, y a pesar de que estés lejos, sé que siempre estas al pendiente de mí. Gracias por tu cariño.

Un agradecimiento muy especial para mis suegros, los cuales han sido como mis segundos padres, de los cuales he recibido mucho apoyo, cariño, y los regaños necesarios para ser mejor persona en la vida.

A mis hermanos Nayeli, Jesús y Oscar por todo su cariño, y comprensión que una vez más me han dado.

Gracias a ms amigas inseparables de la vida Pilar y Eurika por haberme apoyado en todo momento, por su nobleza y sobre todo por ser más que mis amigas mis hermanas.

A mi buena amiga Karla Delgadillo. Gracias por estar allí cuando te necesité. Gracias por escucharme, ayudarme y apoyarme cuando creía que el mundo se venía abajo. Gracias por todos los momentos que hemos compartido.

Un agradecimiento muy especial a todos mis compañeros de la carrera de la FES-C porque aunque mi paso por allí para algunos fue desapercibido, con ustedes viví buenos momentos.

Un agradecimiento muy importante es para la Universidad Nacional Autónoma de México por la educación recibida y por haberme formado humana y profesionalmente.

Y aunque de último, pero no por eso menos importante. Gracias a Dios por estar siempre a mi lado.

INDICE GENERAL

	CONTENIDO	PÁGINA
	RESUMEN	
	INTRODUCCIÓN	i
I.	MARCO TEÓRICO	1
	1.1 Características y aspectos generales de la guayaba	1
	1.1.1 Composición química y valor nutritivo de la guayaba	3
	1.1.2 Fisiología postcosecha. Estado de madurez y fisiológico del vegetal	4
	1.1.3 Calidad del fruto	6
	1.1.4 Características Físico-Químicas de calidad	8
	1.2 Conservación frigorífica de productos de frutas conservadas en fresco	10
	1.2.1 Factores a tener en cuenta en el almacenamiento frigorífico	11
	1.3 Recubrimientos comestibles	13
	1.3.1 Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS). Métodos de preparación de dispersiones lipídicas	16
	1.3.1.1 Método de emulsificación/evaporación	17
	1.3.1.2 Homogenización a alta presión para la producción de nanopartículas lipídicas sólidas	17
	1.3.1.3 Método de microemulsión	18
	1.3.1.4 Método de desplazamiento del disolvente en medio acuoso	18
	1.3.1.5 Técnica de hidratación de película/ homogeneización a alta presión	19
	1.3.1.6 Método de emulsificación / difusión (MED)	19
	1.3.2 Cera de Candeuba	20
	1.3.3 Goma xantana	22
	1.3.4 Glicerol	23
II.	MÉTODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	24
	2.1 Problema	24
	2.2 Hipótesis	24
	2.3 Objetivos	24

CONTENIDO	PÁGINA
2.3.1 Objetivo General	24
2.3.1.1 Objetivo Particular 1	24
2.3.1.2 Objetivo Particular 2	24
2.4 Materiales y equipos	25
2.4.1 Materia prima	25
2.4.2 Materiales	25
2.4.3 Equipos	25
2.5 Desarrollo Experimental	26
2.6 Descripción de las actividades preliminares	28
2.6.1 Caracterización de la cámara de refrigeración	28
2.6.2 Elaboración de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)	29
2.6.3 Caracterización de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)	29
2.6.3.1 Determinación del tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI)	29
2.6.3.2 Determinación del potencial Z (ψ_z)	30
2.6.3.3 Determinación de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	30
2.7 Actividades del objetivo particular 1	30
2.7.1 Determinación del área de recubrimiento a diferentes concentraciones de goma xantana (0.3, 0.4 y 0.5%)	30
2.8 Actividades del objetivo particular 2	31
2.8.1 Preparación de recubrimientos de goma xantana / NLS	31
2.8.2 Pruebas Físicas	33
2.8.2.1 Determinación del porcentaje de pérdida de peso en guayabas con y sin recubrimiento almacenadas a temperatura de refrigeración	33
2.8.2.2 Determinación de color	33
2.8.2.3 Determinación de firmeza	34
2.8.3 Pruebas químicas	34
2.8.3.1 Determinación de sólidos solubles totales (°Brix)	34
2.8.3.2 Determinación de Acidez Total Titulable (ATT)	35
2.9 Tratamiento estadístico	35

CONTENIDO	PÁGINA
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
3.1 Actividades preliminares	37
3.1.1 Caracterización de la cámara de refrigeración	37
3.1.2 Caracterización de las Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)	38
3.1.2.1 Resultados de la determinación del tamaño de partícula	39
3.1.2.2 Resultados de la determinación del potencial Z	40
3.1.2.3 Resultados de la determinación de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	40
3.2 Resultados del Objetivo Particular 1	44
3.2.1 Resultados de la determinación del área de recubrimiento a diferentes concentraciones de goma xantana (0.3, 0.4 y 0.5%)	44
3.3 Resultados del Objetivo Particular 2	48
3.3.1 Pruebas Físicas	49
3.3.1.1 Resultados de la determinación del porcentaje de pérdida de peso en guayabas recubiertas	49
3.3.1.2 Resultados de la determinación de color en guayabas recubiertas con goma xantana / NLS almacenadas en refrigeración	50
3.3.1.3 Resultados de la determinación de la variación de textura en guayabas recubiertas con goma xantana / NLS almacenadas en refrigeración	51
3.3.2 Pruebas Químicas	53
3.3.2.1 Resultados de la determinación de los cambios en los sólidos solubles (°Brix) de guayabas recubiertas con goma xantana / NLS durante su almacenamiento en refrigeración	53
3.3.2.2 Resultados de la determinación de los cambios en la acidez de las guayabas recubiertas con goma xantana/NLS durante su almacenamiento en refrigeración	54
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

1. Propiedades funcionales de los recubrimientos comestibles	14
2. Metodología de Investigación Experimental	27
3. Caracterización de la cámara de refrigeración	37
4. Tamaño de Partícula e índice de polidispersión (PDI) en cada ciclo de homogenización	39
5. Potencial Z en cada ciclo de homogenización	40
6. 6a. Guayaba control 2000x; 6b. Guayaba control 450x	41
7. 7a. Guayaba 100% xantana 2000x; 7b. Guayaba 100% xantana 450x	41
8. 8a. Guayaba NLS/goma xantana 60/40 2000x; 8b. Guayaba /goma xantana 60/40 450x	42
9. 9a. Guayaba NLS/goma xantana 75/25, 2000X; 9b. Guayaba NLS/goma xantana 75/25 4500X.	43
10. 10a. Guayaba NLS/goma xantana 80/20, 2000X; 10b. Guayaba NLS/goma xantana 80/20 1000X	43
11. Efecto de la temperatura y la concentración de goma sobre la superficie recubierta	44
12. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.3% y 10°C, sin glicerol	45
13. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.4% y 10°C, sin glicerol	45
14. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.5% y 10°C, sin glicerol	46
15. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.3% y 20°C, con 0.5% glicerol	46
16. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.4% y 20°C, con 0.5% glicerol	47
17. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.5% y 20°C, con 0.5% glicerol	47

LISTA DE FIGURAS

PÁGINA

18. Pérdida de peso en guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas en refrigeración	49
19. Variación del ángulo Hue en guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas en refrigeración	50
20. Variación de textura en guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas en refrigeración	52
21. Cambios en sólidos solubles en guayabas almacenadas en refrigeración.	53
22. Cambios en acidez de guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas a 8 ± 2 °C	55

LISTA DE TABLAS	PÁGINA
1. Composición química promedio de la guayaba	3
2. Valor nutritivo promedio de la guayaba	4
3. Composición física y química de guayaba a diferentes estados de maduración	7
4. Comparación de propiedades de cera de Candelilla y Carnauba	20
5. Propiedades físico-químicas de las ceras de Candelilla, Candeuba y Carnauba	21
6. Proporciones (p/p) de Nanopartículas Lipídicas Sólidas y goma xantana	32
7. Diseño experimental para las relaciones (p/p) de goma xantana / NLS	36

RESUMEN

Este proyecto planteó como objetivo estudiar el efecto del uso de diferentes concentraciones de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) aplicadas en recubrimientos comestibles para evaluar la conservación de guayabas frescas almacenadas en refrigeración, con la finalidad de incrementar su vida útil. Las guayabas fueron clasificadas de acuerdo al estado de madurez (verde claro), tamaño y calidad. Posteriormente, fueron preenfriadas a través de un hidrogenofriamiento y recubiertas a diferentes concentraciones de goma xantana-NLS, almacenadas a una temperatura de 8 ± 2 °C y una humedad relativa de 85 ± 10 % durante 26 días. Las características evaluadas durante el almacenamiento fueron el porcentaje de pérdida de peso, color, firmeza, acidez total titulable y °Brix. En general, el recubrimiento aplicado a las guayabas disminuyó la pérdida de masa; los frutos con las concentraciones de 75/25 % y 80/20 % (NLS/goma xantana) fueron las que obtuvieron una pérdida de masa menor del 10.8 y 10.5 % respectivamente, mientras que las guayabas control y las recubiertas con goma xantana obtuvieron la mayor pérdida de masa (15.5 y 14.04 %). En cuanto a la degradación del color las guayabas recubiertas con goma xantana (0/100) fueron las que adquirieron una mayor variación en el ángulo Hue; mientras que las de mayor concentración (75/25 y 80/20) tuvieron la menor variación de color. En el parámetro de textura las guayabas recubiertas solo con goma xantana (0/100) presentaron una pérdida de firmeza más rápidamente que el resto de las concentraciones seguidas por las guayabas control mientras que las guayabas con la concentración de (70/30) fueron las que conservaron mejor su firmeza durante el almacenamiento. En cuanto a la variación de los °Brix, las guayabas control y las recubiertas de goma xantana (0/100) fueron las de mayor variación (12.35 y 11.9), mientras que las guayabas con una concentración de 80/20 presentaron un valor de 9.8, lo cual indica que ésta concentración de NLS impidió que el fruto se desarrollara de manera normal, provocando daños fisiológicos en el fruto. Por último, en los valores de acidez, se inició con un valor medio de 1.07 %, este valor fue disminuyendo hasta llegar a 0.84 % para las guayabas recubiertas con NLS/goma xantana y para las guayabas control y las cubiertas con goma xantana 0.72 y 0.77 % respectivamente. En general las guayabas recubiertas solo con goma xantana presentaron una aceleración en la maduración en tanto que las guayabas recubiertas con goma xantana como base y NLS a 30/70 25/75 % se lograron conservar con buena calidad durante el almacenamiento.

INTRODUCCIÓN

Bozquez *et al.* (2003) realizaron estudios con recubrimientos comestibles de fuentes renovables, incluyendo lípidos, polisacáridos y proteínas. Estos recubrimientos se han usado para incrementar la calidad y extender la vida de anaquel de frutas, vegetales frescos y mínimamente procesados (Lin y Zhao, 2007). Las frutas y los vegetales son recubiertos con estos materiales comestibles formando así una membrana semipermeable en la superficie del producto. Esta membrana actúa como una barrera capaz de regular la transferencia de humedad, O₂, CO₂, aroma y sabores (Castillo *et al.*, 2008). Actualmente los recubrimientos que incrementan la vida útil de los productos, también se han estado empleando como acarreadores de sustancias activas (Rojas-Graü *et al.*, 2009).

La aplicación más relevante de los recubrimientos comestibles es una emulsión agua en aceite (w/o) hecha con ceras y aceites que se distribuyen en las frutas para mejorar su apariencia dando brillo, color y suavidad. Estos recubrimientos permiten tener un control de maduración y pérdida de agua (Debeaufort *et al.*, 1998; Olivas y Barbosa-Cánovas, 2005), además de servir como vehículo de aditivos y fungicidas e impartir una mayor integridad a la estructura de las frutas ya que mejora las propiedades mecánicas y de manejo de los alimentos (Kester. y Fennema, 1986).

Los recubrimientos comestibles constituyen una estrategia potencial para reducir los efectos perjudiciales que conllevan las operaciones previas al preenfriamiento y almacenamiento en los tejidos vegetales de frutas frescas, creando un campo innovador en el área de la conservación de alimentos frescos. Sin embargo, los recubrimientos comestibles tradicionales no cuentan con una buena regulación en el intercambio gaseoso los cuales pueden provocar la alteración rápida del producto como resultado de la glucólisis anaerobia (Sánchez, 2004).

Las propiedades de los recubrimientos comestibles dependen en gran medida de la composición y estructura de los ingredientes (Rojas-Graü *et al.*, 2006). En este proyecto se propone el desarrollo de un recubrimiento comestible con Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS) que pueda proporcionar al fruto una permeabilidad selectiva a los gases internos y de la atmósfera.

Las NLS pueden definirse como partículas sólidas coloidales que contienen una sustancia activa y son producidas por medios mecánicos o químicos (Gutiérrez, 2005). Las NLS ofrecen ventajas tales como transporte coloidal, gran capacidad de encapsulación, alta estabilidad física y química la cual mejora la biodisponibilidad de los nutrientes, larga escala de producción y características de liberación controlada (Awad *et al.*, 2008), las cuales pueden ser usadas como una alternativa de conservación de alimentos al encapsular en ellas antioxidantes (Scampicchio *et al.*, 2006), agentes antimicrobianos y otros aditivos capaces de aumentar su vida útil.

Por esta razón en este proyecto se trabaja en el desarrollo de un nano-recubrimiento con base en NLS utilizando como matriz goma xantana, con la finalidad de tener un sistema regulador de la transferencia de gases con el ambiente que contribuya a disminuir la velocidad de respiración, actúe como un sistema crioprotector y de protección contra daños mecánicos a guayabas frescas contribuyendo a incrementar su vida útil.

La guayaba (*Psidium guajava L.*) es una fruta tropical perteneciente a la familia de *Myrtaceae*, siendo un fruto importante desde el punto de vista económico en regiones tropicales y subtropicales del mundo. La guayaba es un fruto que generalmente se consume fresco y que tiene un alto valor nutrimental. Se caracteriza por su sensibilidad al daño por frío y una rápida maduración postcosecha lo que lo hace un producto altamente perecedero (Urbano *et al.*, 2005).

I. MARCO TEÓRICO

1.1 Características y aspectos generales de la guayaba

El guayabo (*Psidium guajava L.*) es una planta de la familia de *Myrtaceae* originaria de América tropical cultivada en México (Sandoval, 2007), con una producción de 23 mil 387 hectáreas de guayaba, siendo los estados de Aguascalientes, Zacatecas, Michoacán y el Estado de México los principales productores de este fruto (SIACON, 2007). Esta planta se caracteriza por producir frutos de forma oblonga, con cáscara lisa y de coloración amarilla cuando está madura, con pulpa cremosa, espesa, dulce, levemente ácida, firme y con muchas semillas. El intervalo de tamaño es de 4.5-6.0 cm del diámetro mayor y de 5.0-7.0 cm de largo, con un peso entre 50 y 70 g. Es altamente perecedero y susceptible a daños mecánicos y por frío lo cual limita su vida de anaquel. El principal periodo de florecimiento ocurre durante junio y julio (temporada de lluvias) con un periodo de cosecha de Octubre a Diciembre (Mercado-Silva *et al.*, 1998).

Entre las frutas tropicales la guayaba destaca por sus cualidades nutricionales lo que ha contribuido que aumente su consumo en fresco. México es uno de los principales productores de guayaba al lado de Brasil, Egipto, Pakistán, Venezuela, Puerto Rico, Australia y África del sur (Azzolini *et al.*, 2002).

La guayaba es una excelente fuente de ácido ascórbico, presentando valores entre 80 y 372 mg/100 mL. El total del ácido ascórbico en la guayaba está influenciado por la condición climática, temperatura, cultivo y variedad (Azzolini *et al.*, 2005).

La guayaba es un fruto muy perecedero con corto periodo de conservación a temperatura ambiente (de 2 a 7 días según Urbano *et al.*, 2005), lo que obliga a una comercialización rápida para evitar pérdidas (Jacomino *et al.*, 2003). Esta alta perecibilidad de guayaba es uno de los principales problemas de los productores que comercializan la fruta en fresco tanto a nivel nacional como internacional (Urbano *et al.*, 2005).

Los procesos fisiológicos del deterioro del fruto son acelerados y sus efectos son agravados por las condiciones a las cuales son sometidos después de su cosecha. Una falta de empleo de tecnologías de conservación limita el periodo de comercialización y disminuye la calidad de los frutos teniendo como consecuencia una reducción de los mercados consumidores. El incremento en el consumo de guayaba fresca está condicionado a la mejoría de las cualidades del fruto (Azzolini *et al.*, 2004). De esta forma el uso de tecnologías postcosecha son imprescindibles para aumentar el periodo de conservación y comercialización del fruto (Sandoval, 2007).

La producción agrícola de guayaba con alta calidad logrará que los productos tengan alta competitividad en mercados, tanto en mercados nacionales como internacionales. La capacidad de entregar un producto de calidad al mercado y últimamente, la atención de las órdenes de compra del consumidor, hacen que cada vez la producción y el manejo deban ser más exigentes. Los manejos adecuados en el área de postcosecha pueden asegurar que la calidad de los productos perecederos agrícolas, se mantengan hasta el consumidor final (Sánchez, 2004).

Para extender la vida útil de frutas en general se han empleado diferentes procedimientos, entre los que se incluyen la utilización de recubrimientos comestibles, los que han sido empleados para retardar el deterioro, pérdida de peso, disminución de respiración, conservación de la calidad textural y ayudar a la retención de volátiles y reducir el crecimiento microbiano (Han *et al.*, 2004).

Un recubrimiento comestible se define como la capa delgada de un material que se coloca sobre la superficie del producto formando con ello una película protectora. La utilización de este revestimiento produce en la fruta una atmósfera modificada que retrasa los cambios en los productos, sirviendo además como medio de transporte para sustancias antioxidantes (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2005). Para la formación de un recubrimiento es necesario tener una solución que pueda ser constitutiva de una matriz estructural con suficiente cohesión de tal manera que el recubrimiento quede adherido a la fruta (Debeaufort *et al.*, 1998).

En guayabas han sido utilizados embalajes plásticos individuales asociados con vacío parcial, especialmente en frutos destinados a la exportación; sin embargo, han tenido problemas

relativos a la alteración de sabor y en costos de embalaje y de operación. Las ceras han sido usadas comercialmente, ya que pueden constituir una alternativa viable (Jacomino *et al.*, 2003).

En este sentido, deben aplicarse técnicas de conservación, que combinadas (bajas temperaturas y recubrimientos), puedan mantener o mejorar las características originales del producto, alargando su vida útil sin que se pierdan las características sensoriales y nutricionales, asegurando además su estabilidad microbiológica (Rojas-Graü *et al.*, 2006).

1.1.1 Composición química y valor nutritivo de la guayaba

El amplio uso del fruto en la dieta se justifica por su aceptable valor nutritivo. Los frutos, contienen gran variedad de componentes químicos y presentan diferencias considerables en composición y estructura, debido principalmente a las condiciones ecológicas prevalecientes en la región de su desarrollo. En la tabla 1 se muestran de manera representativa, un promedio de la composición de los componentes de la guayaba y sus cantidades en 100 g de muestra.

Tabla 1. Composición química promedio de la guayaba

Componente	%
Agua	77
Proteína	0.95
Grasa	0.45
Carbohidratos	11.7
Fibra	8.15
Cenizas	0.95
Pectina	0.5-1.8
Coeficiente de Digestibilidad	90

Mata y Rodríguez, 1990

Una de las principales contribuciones nutricionales de la guayaba es su contenido en vitaminas; siendo la más importante la vitamina C o ácido ascórbico como se muestra en la tabla 2, encontrándose también que es rica en calcio y fósforo principalmente, además de ser una excelente fuente de vitamina A.

Tabla 2. Valor nutritivo promedio de la guayaba

Minerales y/o vitaminas	(mg / 100 g)
Calcio	33
Fósforo	39
Sodio	23
Potasio	12
Hierro	0.74
Tiamina	0.05
Riboflavina	0.04
Niacina	1.2
Ácido ascórbico	337-700
Vitamina A	250

Instituto Nacional de Nutrición, 1992

1.1.2 Fisiología postcosecha. Estado de madurez y fisiológico del fruto.

La maduración se ha definido como el conjunto de cambios que ocurren en el fruto desde las últimas etapas del crecimiento hasta las primeras etapas de la senescencia y que hacen que el fruto tenga las características organolépticas para considerarlo adecuado para su consumo (Watada *et al.*, 1984).

Fisiológicamente se pueden distinguir 2 etapas de maduración; madurez fisiológica y madurez de consumo. La madurez fisiológica es aquella en que las células van alcanzando su tamaño máximo y su composición característica de cada especie, también llamado estado sazón. En esta etapa el fruto climatérico en general puede ser cosechado y es capaz de madurar fuera del árbol en condiciones adecuadas de humedad y temperatura. La mayor parte de los frutos se cosechan al alcanzar esta etapa para permitir además tener un mejor manejo y distribución (Ceballos, 1978).

Ahora bien, la madurez de consumo, es la etapa que involucra transformaciones químicas, que dan como resultado las características de consumo, como son: aroma, sabor, color y textura deseables en el fruto, características que pueden variar dependiendo de las exigencias del consumidor.

La maduración es un proceso normal en la vida de un vegetal, no reversible, cuyo límite es la senescencia y en la que se incluye una serie de cambios bioquímicos conducentes al rompimiento celular y finalmente la muerte. Se puede decir que la maduración es la etapa inicial de la senescencia (Ceballos, 1978).

Uno de los mecanismos importantes relacionados con la maduración de un fruto es la respiración donde se produce la degradación oxidativa de sustratos complejos (azúcares y ácidos orgánicos) hasta moléculas simples (CO_2 y H_2O), con liberación de energía utilizable por los sistemas celulares. La intensidad respiratoria se mide por la cantidad de anhídrido carbónico (CO_2) que desprende de una unidad fija del fruto o por la cantidad que ella consume de oxígeno (O_2), en una atmósfera normal (Orozco, 2002).

Según el patrón respiratorio los frutos pueden ser clasificados como climatéricos y no climatéricos; la guayaba es un fruto climatérico que se caracteriza por presentar un incremento en la respiración acompañado de una producción autocatalítica de etileno y cambios rápidos en su composición que conducen a la maduración (Akamine y Goo, 1979).

La maduración de frutas es acompañada por una serie de procesos físicos y biológicos que resultan de la síntesis y degradación de pigmentos, conversión de almidón en azúcares, pérdida de firmeza y producción de compuestos volátiles (Sandoval, 2007). Es considerada como un complejo fenómeno de diferenciación bioquímica controlado esencialmente por cuatro mecanismos reguladores:

- a) Un aumento de la síntesis de enzimas y ácidos nucleicos
- b) La regulación de sistemas enzimáticos
- c) Cambios de permeabilidad en membranas y en la ultraestructura celular
- d) Una modificación de los mecanismos hormonales (Romojaro *et al.*, 1996).

Durante la maduración ocurren reacciones de síntesis y degradación, siendo la energía liberada utilizada para varias actividades fisiológicas y para el mantenimiento de la integridad celular, además se produce una mayor producción de etileno y la tasa de respiración aumenta (Orozco, 2002).

El etileno el cual es un gas conocido como la hormona universal de la maduración (Brown y Wills, 1983) parece ser responsable de la síntesis de enzimas involucradas en cambios físicos, químicos y metabólicos en los tejidos vegetales que tienen una importante influencia en las características sensoriales relacionadas con el sabor y la firmeza del fruto (Rojas, 2006) ya que favorece la senescencia o envejecimiento en los tejidos vegetales; sin embargo, no es el único responsable. La disminución de la temperatura en un tiempo corto, es una estrategia que disminuye la producción de etileno, la sensibilidad del producto al etileno y la velocidad del desarrollo del daño (Sánchez, 2004).

La determinación del momento óptimo de madurez, así como el mantenimiento de sus propiedades sensoriales durante las diferentes etapas de la postcosecha, es imprescindible para satisfacer las necesidades del consumidor (Rojas-Graü *et al.*, 2006).

El término postcosecha puede definirse como el período que incluye todas las fases de comercialización de los productos hortofrutícolas, desde la recolección, pasando por la manipulación, conservación y distribución, hasta el consumo (Romero *et al.*, 1996). Independientemente del tipo de materia prima que se quiera transformar, ésta debe ser manipulada con especial cuidado con el propósito de causar el menor daño posible a los tejidos, evitando desórdenes fisiológicos del fruto así como la proliferación microbiana que repercuten directamente en la pérdida de calidad del producto.

1.1.3 Calidad del fruto

La calidad es un atributo definido, puede considerarse como un conjunto de muchas propiedades o características peculiares de cada producto hortofrutícola, engloban propiedades sensoriales (apariencia, textura, sabor, aroma), valor nutritivo definido por sus componentes químicos, propiedades mecánicas, que sirven para conocer la ausencia o presencia de defectos en el producto. Las características de la calidad de los productos hortofrutícolas, de modo general, relaciona la composición química con los atributos organolépticos y nutricionales (Sandoval, 2007).

El estado de madurez en el momento de la cosecha determina la calidad final del producto (Sandoval, 2007). Cuando los frutos son recolectados inmaduros, presentan características indeseables identificables como el aumento en la susceptibilidad a desordenes fisiológicos. Por otro lado, cuando son recolectados muy maduros, entran rápidamente en la senescencia. No existe un patrón y un consenso del estado de maduración ideal para la cosecha de guayabas (Manica *et al.*, 2000). Estas normalmente son recolectadas cuando la pulpa está firme y la coloración de la cáscara comienza a cambiar de verde-oscuro a verde-claro (Azzolini *et al.*, 2004).

En la tabla 3 se muestran los resultados encontrados por Soares *et al.* (2007) de color, pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, azúcares y vitamina C en frutos de guayaba blanca a diferentes estados de maduración, donde se puede observar que los valores del ángulo Hue ($^{\circ}$ Hue) disminuyen conforme transcurre la maduración, lo cual indica el paso del color verde claro al color amarillo; el valor de pH aumenta durante la maduración de un valor de 4.07 a 4.54 disminuyendo así el sabor agrio de la guayaba; el porcentaje de ácido cítrico, los sólidos solubles totales ($^{\circ}$ Brix), la sacarosa y la glucosa tienden a aumentar durante el estado de maduración intermedio y a disminuir durante el estado maduro debido a las reacciones de síntesis y degradación que ocurren dentro del fruto; es importante resaltar que esto varía de acuerdo a distintos factores como pueden ser la variedad, el clima y la época de la cosecha.

Tabla 3. Composición física y química de guayaba a diferentes estados de maduración

Parámetros	Estados de maduración		
	Inmaduro	Intermedio	Maduro
Color			
<i>L</i>	53.83	64.05	71.87
<i>a</i>	-9.78	-2.99	4.23
<i>b</i>	22.25	28.9	32.83
<i>c</i>	24.3	29.05	33.1
$^{\circ}$ Hue	113.73	95.91	82.66
Ph	4.07	4.48	4.54
Acidez titulable (% ac.citrico)	0.39	0.46	0.44
Sólidos Solubles Totales ($^{\circ}$ Brix)	7.4	8.6	8.4
Sacarosa (mg/100g)	10.57	11.43	11.37
Glucosa (mg/100g)	22.5	15.16	14.13
Fructosa (mg/100g)	21.46	17.96	18.39
Vitamina C (mg ac.ascorbico/100g)	76.8	145.35	168.36

Soares et al., 2007

1.1.4 Características físico-químicas de calidad

En el caso de las frutas y hortalizas, es importante considerar desde el punto de vista tecnológico, al proceso de maduración que se infiere, a la serie de cambios físicos y químicos que lo hacen apto para ser consumido. La duración de esta etapa varía de acuerdo a la especie y puede completarse fuera del árbol, si el fruto es cosechado en el momento adecuado (Sandoval, 2007).

La medición de firmeza es una forma práctica de evaluar el estado de maduración del fruto, considerando verdes las guayabas con firmeza de 85 N y verde amarillas aquellas con firmeza entre 51 y 66 N de acuerdo a las pruebas de punción realizadas (Mercado-Silva *et al.*, 1998).

La degradación de las moléculas poliméricas constituyentes de la pared celular, como celulosa, hemicelulosa y pectina, genera alteraciones llevando a un reblandecimiento de la pulpa (Tucker, 1993). La guayaba es rica en pectina y está influenciada por factores como variedad, estado de maduración y factores climáticos. La pérdida de firmeza es debida principalmente a la acción de enzimas proteolíticas y pectolíticas sobre los componentes de la pared celular el cual es otro cambio muy evidente del deterioro de la calidad (Rojas-Graü *et al.*, 2006).

La coloración de los frutos es un importante atributo de la calidad, no solo por contribuir para una buena apariencia, si no también, por influenciar la preferencia del consumidor. Durante el almacenamiento, la mayoría de los frutos sufre alteraciones de color, principalmente de la cáscara. De esta forma el color se toma como un atributo muy importante en la determinación del estado de madurez. Las variaciones de color son resultado principalmente de la degradación de la clorofila, y también es resultado de la síntesis de carotenoides y antocianinas (Tucker, 1993). La degradación de clorofila, ocurre en función de los cambios de pH, aumentando los procesos oxidativos en las clorofilazas (Wills *et al.*, 1998). La coloración de guayaba es debida a la existencia de pigmentos como clorofila, caroteno, xantofila y licopeno (Adsule *et al.*, 1995).

El color de la cáscara es el mejor índice para indicar el estado de maduración de las guayabas (Azzolini *et al.*, 2004; Mercado-Silva *et al.*, 1998). Es importante tener cuidado en utilizar el color como índice de maduración (Bleinroth, 1992); esto porque frutos localizados en ciertas

posiciones del árbol, reciben la radiación solar durante una buena parte del día y adquieren una coloración muy intensa.

La vitamina C se encuentra en los tejidos vegetales en una forma reducida como ácido ascórbico, o en una forma oxidada como ácido dehidroascórbico, ambos con actividad vitamínica (Chitarra y Chitarra, 2005; Pelletier y Brassard, 1997). Según Mokady *et al.* (1984) las formas oxidadas y reducidas de ácido ascórbico poseen valores biológicos semejantes, siendo necesaria la determinación de ambos ácidos para una correcta determinación de contenido de ácido ascórbico.

La guayaba es una excelente fuente de ácido ascórbico; el total de ácido ascórbico en la guayaba está influenciada por la condición climática, temperatura, cultivo y variedad (Chitarra y Chitarra, 1990). Daños mecánicos, pudriciones y senescencia promueven las desorganizaciones de las paredes celulares promoviendo la oxidación del ácido ascórbico, probablemente debido a la presencia de enzimas polifenoloxidasas y ácido ascórbico oxidasa (Mokady *et al.*, 1984).

Durante el almacenamiento el valor de ácido ascórbico aumenta en el fruto durante los estados iniciales de desarrollo y hasta la maduración total, cuando está excesivamente maduro, el contenido disminuye significativamente (Dhillon *et al.*, 1987; Esteves *et al.*, 1984; Vázquez y Colinas, 1990).

Los sólidos solubles representan la composición soluble en agua presentes en frutos, como azúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos y algunas pectinas. El valor de sólidos solubles es dependiente del estado de maduración en el cual el fruto fue cosechado, generalmente aumenta durante la maduración debido a la biosíntesis y degradación de los polisacáridos, y disminuye durante la senescencia (Chitarra y Chitarra, 1990). Los principales azúcares responsables del sabor dulce de los frutos son la fructosa, la glucosa y la sacarosa. La fructosa comprende 59.93 % y 52.85 % la sacarosa (Carvalho, 1994). El aumento en el dulzor durante la maduración está relacionado con la creciente formación de la fructosa (Esteves y Carvalho, 1982).

La fructosa y la glucosa son originadas de la degradación de la sacarosa y los polisacáridos de reserva como el almidón. La degradación de hexosas fosfatadas ocurre en la respiración vía

glucosa en el ciclo de las pentosas fosfato (Nultsch, 2000). Después de la cosecha el valor de los sólidos solubles en guayaba parece no sufrir alteraciones significativas (Jacomino *et al.*, 2001), tal hecho puede ser explicado por el bajo contenido de almidón en guayabas. Las formas de almacenamiento de azúcares en guayaba son fructosa, glucosa y sacarosa (Adsule y Kadam, 1995; El-Buluk. *et al.*, 1997; Manica *et al.*, 2000; Seymour *et al.*, 1993).

La acidez titulable de un fruto está dada por la presencia de ácidos orgánicos. El valor de dichos ácidos tiende a disminuir durante el proceso de maduración, debido a la oxidación de los ácidos en el ciclo de los ácidos tricarbónicos en el proceso de la respiración, siendo fundamental la síntesis de compuestos fenólicos, lípidos y aromas volátiles (Chitarra y Chitarra, 2005). Así mismo la variación de la acidez puede ser un indicativo del estado de madurez del fruto, ya que la acidez disminuye, en función del avance de la maduración.

La acidez en guayaba es debida, principalmente, a la presencia de ácido cítrico y málico y en menores cantidades, de ácidos galacturónico y fumárico (Chan y Kwok, 1976), pudiendo variar la acidez de 0.24 a 1.79 mg de ácido cítrico por 100 g de pulpa (Gehard *et al.*, 1997), lo que permite clasificarlas siendo de sabor moderado la de mayor consumo.

1.2 Conservación frigorífica de productos de frutas conservadas en fresco

La refrigeración es una tecnología que permite alcanzar una temperatura óptima para prolongar el tiempo de vida de un producto determinado (Sánchez, 2004). La cadena de frío debe empezar tan pronto como sea posible tras la recolección y mantenerse hasta que el producto sea consumido por el comprador (Rojas-Graü *et al.*, 2006).

El enfriamiento posterior a la cosecha, reduce rápidamente la temperatura del producto y lo prepara para su envasado, almacenamiento o procesado. Un adecuado enfriamiento postcosecha busca disminuir la actividad enzimática y el crecimiento microbiano; reducir la actividad respiratoria y otras actividades metabólicas, disminuir o inhibir la pérdida de agua y reducir la producción de etileno (Sánchez, 2004).

Además de proteger la calidad del producto, el enfriamiento postcosecha, realizado de forma adecuada, hace que el mercado se torne mucho más flexible debido al incremento en el periodo de almacenamiento que los productos puedan tener, sin pérdidas de sus características sensoriales. El enfriamiento y almacenamiento evitará así la necesidad imperiosa de comercializar este tipo de productos casi inmediatamente, obteniendo una forma efectiva de regular el mercado y el precio del mismo (Sánchez, 2004).

1.2.1 Factores a tener en cuenta en el almacenamiento frigorífico

Las recomendaciones para las mejores condiciones para el almacenamiento de frutas frescas podrían cambiar a medida que cambian las variedades y los métodos de manejo y que se obtenga más información sobre los requisitos para el almacenamiento de estos productos. Las condiciones y requisitos dados están basados en la mejor práctica comercial en la actualidad (Sánchez, 2004).

- a) *Calidad de los productos*: Las frutas frescas destinadas a almacenamiento deberán estar libres de roturas de la cáscara, magulladuras, putrefacción u otro deterioro. Las magulladuras y otros daños mecánicos no solo provocan la disminución del atractivo de la apariencia de los productos, sino que generalmente constituyen la principal vía de entrada para los microorganismos que provocan la putrefacción. El daño mecánico también incrementa la pérdida de humedad (Sánchez, 2004).

La vida máxima del almacenamiento se puede obtener solo mediante el almacenamiento de productos de alta calidad, poco después de la cosecha. Las propiedades del almacenamiento son influenciadas por la variedad, el clima, las condiciones del suelo y del cultivo, la madurez y las prácticas del manejo antes del almacenamiento (Sánchez, 2004).

- b) *Temperatura*: La temperatura de almacenamiento es uno de los principales parámetros a controlar; su influencia en la velocidad de maduración y deterioro tiene un significado especial en el manejo del almacenamiento en frío de frutas. La temperatura en la cámara de almacenamiento se elige de acuerdo al producto que se pretende almacenar, está en función del estado de madurez, la sensibilidad del frío de cada producto y variedad

primordialmente. Tiene la finalidad principalmente de reducir la respiración, envejecimiento, reblandecimiento y cambios de textura y color; disminuye la pérdida de humedad y la degradación debido al crecimiento microbiano (Sánchez, 2004).

- c) *Humedad Relativa*: La humedad relativa del aire en las cámaras de almacenamiento afecta directamente la calidad del mantenimiento de los productos conservados dentro de estas cámaras. Si es demasiado baja, es probable que ocurra marchitamiento o arrugas en la mayoría de las frutas; si es demasiado alta puede favorecer el desarrollo de putrefacciones especialmente en las cámaras donde hay considerable variación de temperatura. El control del desarrollo de mohos se vuelve particularmente difícil si la humedad relativa se aproxima a 100 %. Los hongos de superficie podrían crecer sobre las paredes, techos y contenedores, así como los productos almacenados (Sánchez, 2004).

Se recomienda utilizar humedades relativas altas de 90 % a 95 % para la mayoría de las frutas, para retrasar el reblandecimiento y marchitamiento a causa de la pérdida de humedad. Si es necesario incrementar la humedad relativa en las cámaras de almacenamiento se puede efectuar rociando el suelo ocasionalmente o colocando recipientes de agua distribuidas en la cámara. Las humedades relativas recomendadas son las que retrasan la pérdida de humedad que han sido consideradas suficientemente seguras con respecto al crecimiento de microorganismos. Sin embargo, ha de ser aceptada alguna pérdida de humedad (Sánchez, 2004).

Es de gran importancia el mantenimiento de la humedad relativa adecuada en el aire de almacenamiento, el proveer un buen aislamiento, evitar infiltraciones y proveer suficiente superficie de enfriamiento para que el margen de variación entre la temperatura de la superficie de refrigeración y la temperatura deseada del producto, sea la más pequeña posible. Por esta razón, es esencial un control exacto de la temperatura de refrigeración para mantener altas humedades en un almacenamiento mecánicamente refrigerado (Sánchez, 2004).

- d) *Circulación de aire y acomodo del producto*: El aire debe circularse para mantener la temperatura de la cámara de almacenamiento lo más posible en cada uno de sus puntos. Las temperaturas del producto en una cámara de almacenamiento podrían variar por que la temperatura del aire asciende a medida que circula a través de la cámara y absorbe el

calor de los productos. También puede existir una fuga de calor variable en diferentes partes de la cámara. Después de haber sido eliminada la carga térmica procedente del campo, una velocidad alta de aire ya no es necesaria y generalmente resulta indeseable. Solamente se debe administrar un movimiento suficiente del aire para retirar el calor de respiración del producto y el calor que entra a la cámara a través de superficies exteriores y las puertas. Es muy importante que el aire circulante sea distribuido uniformemente en toda la cámara. El ajuste no apropiado de los sistemas de distribución del aire ha sido encontrado como la causa mayor de la no uniformidad de las temperaturas de la cámara (Sánchez, 2004).

La naturaleza del contenedor y la forma de apilar son factores importantes que influyen en el comportamiento del enfriamiento. Es inútil un sistema elaborado para la distribución del aire, si un apilamiento mal hecho evita que fluya el aire. Un principio cardinal del movimiento del aire es que el aire siga el camino que ofrece la menor resistencia, de este modo, si el espacio es irregular, los espacios más amplios logran mayor volumen de aire que los más reducidos (Sánchez, 2004). Goncalves *et al.* (2005), propone el almacenamiento de guayabas verdes maduras, manteniéndolas durante un periodo de 2 a 5 semanas en refrigeración a temperatura de 8 a 10 °C y 85-90 % de humedad.

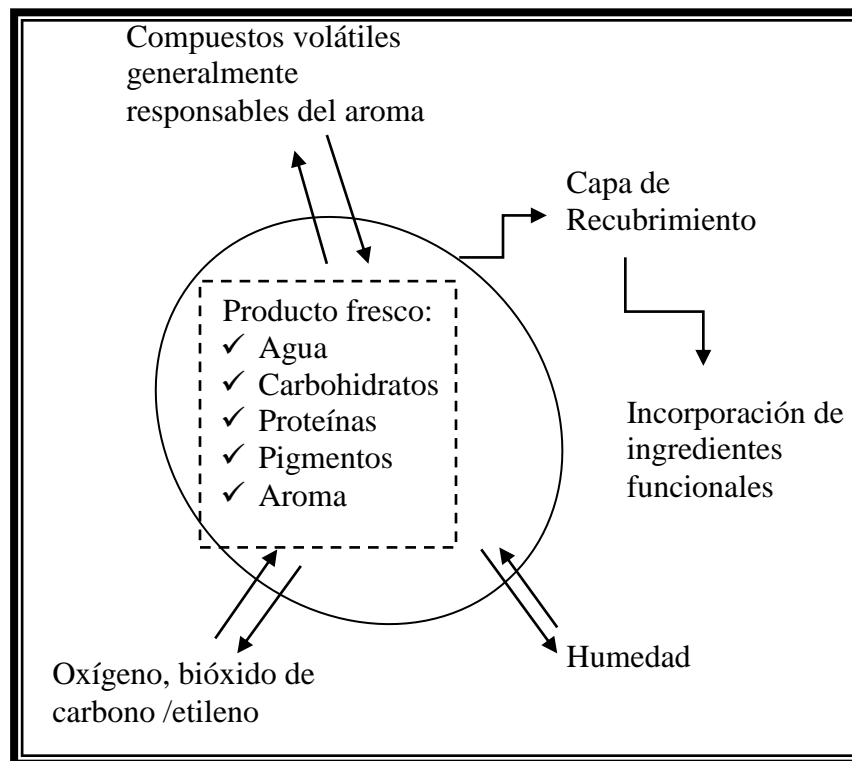
En general, es aplicable la combinación de dos o más procesos para la conservación de frutos frescos como son el uso de recubrimientos comestibles y las bajas temperaturas como la técnica de hidroenfriamiento para completar el almacenamiento refrigerado.

1.3 Recubrimientos comestibles

La aplicación de recubrimientos y películas comestibles en alimentos para prolongar su vida de anaquel no es una técnica nueva. El recubrimiento de naranjas y limones frescos con ceras para retardar la desecación fue practicada en China en el siglo XII y XIII; mientras que la aplicación de cubiertas sobre carnes para prevenir su contracción, ha sido una práctica usual al menos desde el siglo XVI, donde las carnes cortadas eran cubiertas con grasas para su conservación (Kester y Fennema, 1986).

Los recubrimientos comestibles han sido utilizados para la conservación de frutas y hortalizas frescas con la finalidad de retardar el deterioro, pérdida de peso, disminuir la respiración, conservar la calidad textural, ayudar a la retención de volátiles y reducir el crecimiento microbiano, en la figura 1 se representa el efecto que tiene un recubrimiento comestible y su funcionalidad en la conservación de frutas y hortalizas frescas. (Han *et al.*, 2004).

La aplicación de recubrimientos comestibles en la superficie de las frutas imparte una apariencia brillante y mejor color, reduce las pérdidas de peso, extiende la vida de anaquel y previene el ataque microbiano, lo cual es muy importante en frutas perecederas. Los recubrimientos comestibles crean una atmósfera modificada alrededor de las frutas ya que funcionan como una barrera semipermeable al vapor de agua y otros gases, y sus usos ofrecen una atractiva alternativa en empaques debido a sus características amigables con el ambiente (Debeaufort *et al.*, 1998).



Han et al., 2004

Figura 1. Propiedades funcionales de los recubrimientos comestibles

Las características de diferentes recubrimientos son dependientes de su composición. La aplicación de varios recubrimientos comestibles ha sido reportado que afecta la apariencia de la

fruta y calidad en diferentes frutas. Los resultados de recubrimientos comestibles en la maduración de frutas y calidad están es función de varios factores como el tipo de recubrimiento, concentración de la formulación, naturaleza del fruto, cultivo, maduración de la fruta, condiciones de almacenamiento y densidad del recubrimiento colocado. La característica funcional más importante de los recubrimientos comestibles es la resistencia a la migración de humedad. La deshidratación superficial constituye uno de los principales problemas en el mantenimiento de calidad de frutas frescas. Así a mayor hidrofobicidad de los materiales utilizados, mayor será la permeabilidad al vapor de agua (Martín-Belloso *et al.*, 2005).

La aplicación de varios tipos de biopolímeros como recubrimientos comestibles en frutos de guayaba y chabacano mostraron que dextrinas de carboximetilcelulosa (CMC) fueron más efectivas que el polietileno, en retener agua y compuestos aromáticos (2-pentanona) de la fruta. Similarmente, recubrimientos a base de almidón y pectinas, también fueron reportados por incrementar la vida de anaquel y aroma de la guayaba mexicana (Khuyen *et al.*, 2008).

Un recubrimiento comestible es definido como una capa delgada de material comestible (proteína o polisacárido como una solución hidrocoloide, o como una emulsión con lípidos) formado como un revestimiento sobre el alimento en adición o reemplazo de la corteza natural y que se comportan principalmente como barreras que reducen la difusión de gases como el O₂, CO₂, y vapor de agua (Olivas y Barbosa-Cánovas, 2005), permitiendo extender la vida útil del alimento, mientras que una película comestible es una capa preformada y delgada elaborada con material comestible y la cual una vez elaborada puede ser colocada sobre el alimento ó entre los componentes del mismo. La principal diferencia entre ambos sistemas comestibles es que los recubrimientos comestibles son aplicados en forma líquida sobre el alimento, generalmente por inmersión del producto en una solución, y las películas comestibles son en primer lugar preformadas como láminas sólidas las cuales son posteriormente aplicadas en forma de recubrimiento sobre el alimento (Rojas-Graü *et al.*, 2006).

Actualmente existen muchas investigaciones relacionados con el desarrollo de recubrimientos comestibles funcionales que permiten retardar el deterioro de frutas frescas, disminuyendo la velocidad de respiración y transpiración de tal forma que se logre conservar la calidad textural, retener los compuestos volátiles, enriquecer los productos mediante la adición de ingredientes

funcionales y reducir el crecimiento microbiano en la superficie de frutas y hortalizas frescas enteras o cortadas (Han *et al.*, 2004).

Los materiales utilizados para el desarrollo de recubrimientos comestibles incluyen proteínas, polisacáridos y lípidos, generalmente en forma combinada, de tal manera que se logre tener efecto sobre las propiedades físicas del recubrimiento. A final de cuentas lo que se busca con las diferentes formulaciones es modificar las propiedades de transporte; en el caso de frutas y vegetales frescos las permeabilidades a los gases y vapor de agua son importantes, además de considerar la retención de componentes aromáticos, por lo que se combinan lípidos en la mayoría de las formulaciones ya que la combinación con aceites, fosfolípidos y otras grasas dan como resultado modificaciones en las propiedades hidrofílicas y/o resistencia al transporte de vapor de agua, que a su vez, modifica otras propiedades de transporte de gases como el etileno (Navarro *et al.*, 2008).

La funcionalidad de los recubrimientos comestibles en frutos y vegetales frescos, hacen necesaria la búsqueda de alternativas, razón por la cual se formuló este recubrimiento comestible combinando las ventajas de la goma xantana y de los componentes lipídicos de las NLS, estos últimos como barrera al vapor de agua y la goma xantana como barrera selectiva al oxígeno y al dióxido de carbono, además de proveer un matriz de soporte estructural. A continuación se presentará una revisión sobre las características de los principales componentes del recubrimiento comestible de Nanopartículas Lipídicas Sólidas-goma xantana, puesto que puede ser una alternativa para la conservación de guayaba a baja temperatura.

1.3.1 Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS). Métodos de preparación de dispersiones lipídicas

Las nanopartículas pueden definirse como partículas sólidas coloidales, las cuales contienen una sustancia activa y son producidas por medios mecánicos o químicos. La talla de partícula obtenida generalmente oscila entre 100 a 500 nm. Generalmente se les da el nombre de nanopartículas a las nanoesferas y a las nanocápsulas. La diferencia entre ambas formas radica en su morfología y su arquitectura. Las nanoesferas están formadas por una densa matriz

polimétrica mientras que las nanocápsulas están compuestas por un centro oleoso cubierto por una membrana polimérica.

De manera general las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) están constituidas por un lípido sólido, un emulsificante y agua. El término lípido abarca una gran variedad de compuestos entre los que se incluyen mono, di y triglicéridos, ácidos grasos, esteroides (p.ej. colesterol) y ceras. Los emulsificantes usados para estabilizar las NLS pueden ser de muy diversos tipos, con distintos pesos moleculares y con o sin carga. De hecho se ha encontrado que una mezcla de emulsificantes puede prevenir de manera más eficiente la aglomeración (Tamayo, 2004).

1.3.1.1 Método de emulsificación/evaporación

En este método se propone la producción de NLS por medio de la precipitación del lípido que se encuentra disuelto en la fase orgánica de una emulsión. El material lipídico se disuelve en un disolvente insoluble en agua (p.ej. ciclohexano), éste es emulsificado en una fase acuosa con ayuda de un molino coloidal seguido de homogeneización a alta presión. Posteriormente, se evapora el disolvente y se precipita el lípido en la fase acuosa, con ello se da la formación de las NLS (Mehnert y Mader, 2001).

1.3.1.2 Homogeneización a alta presión para la producción de nanopartículas lipídicas sólidas

En esta técnica la producción de NLS es por medio de la homogeneización a altas presiones de los lípidos fundidos y una solución acuosa conteniendo al estabilizante. Las gotas de lípido solidifican y se forman las NLS. Los dos métodos que con mayor frecuencia son utilizados para la preparación de NLS son la técnica de homogeneización a alta presión (*“High Pressure Homogenization”*) en caliente y en frío (Schwartz *et al.*, 1992).

- a) Para el caso de la técnica de *homogeneización en caliente*, el lípido fundido se dispersa bajo agitación en una solución acuosa del surfactante que se encuentra a la misma temperatura que la fase lipídica. La pre-emulsión obtenida se homogeneiza usando un homogeneizador de pistón (*“homogenizer piston-gap”*), entonces la nanoemulsión

caliente formada se enfría hasta temperatura ambiente. De esta manera el lípido recristaliza y se forman las NLS.

- b) Para la técnica de **homogeneización en frío** el lípido fundido se enfría, lo que provoca la aparición de micropartículas (aproximadamente de 50 a 100 μm). Estas micropartículas se dispersan en una solución de surfactante frío y así se forma una pre-suspensión que se homogeneiza a temperatura ambiente (o menor). La energía necesaria para producir las NLS por esta técnica es considerable.

1.3.1.3 Método de microemulsión (μE)

La preparación de NLS por medio del método de microemulsión (μE) consiste en dispersar una microemulsión caliente aceite en agua (w/o) en un medio acuoso frío bajo agitación mecánica (Gasco, 1993). La microemulsión está compuesta del lípido (p.ej. ácido esteárico), surfactante (p.ej. polisorbato 20, polisorbato 60 y fosfatidilcolina de soya), co-surfactante(s) (p.ej. butanol) y agua. Con lo que se forma un sistema transparente y termodinámicamente estable siempre y cuando los componentes se encuentren en las proporciones adecuadas para formar la microemulsión. La microemulsión a 65-70 $^{\circ}\text{C}$ se adiciona a un medio acuoso frío (2-3 $^{\circ}\text{C}$) bajo agitación mecánica lo que asegura que la reducción del tamaño de partícula se debe a la precipitación del lípido y no a un proceso mecánico. Comúnmente las proporciones entre la microemulsión y el agua son de 1:25 a 1:50 (Cavalli *et al.*, 1997, 2000).

1.3.1.4 Método de desplazamiento del disolvente en medio acuoso

En este método el lípido se disuelve completamente en una mezcla de acetona (12 mL) y etanol (12 mL) a temperatura controlada (50 $^{\circ}\text{C}$). La solución resultante se vierte bajo agitación mecánica sobre un medio acuoso ácido que contiene 1 % peso/volumen (p/v) de alcohol polivinílico (PVAL) a temperatura ambiente y se agita por cinco minutos. El pH de la fase acuosa se ajusta a 1.10 al adicionar 0.1 M de HCl (Hu *et al.*, 2002). Las NLS son producidas de manera muy rápida. Posteriormente el sistema se centrifuga y se re-suspende en agua destilada. El ajuste del pH del medio acuoso ácido es con la finalidad de ajustar el potencial zeta para coacervar las NLS y que sea fácil la separación por centrifugación. La distribución del tamaño de partícula obtenida por este método es bimodal (14 nm y 432 nm) (Tamayo, 2004).

1.3.1.5 Técnica de hidratación de película / homogeneización a alta presión

La preparación de NLS consiste en disolver en una fase orgánica (p.ej. cloroformo) el material lipídico, los fosfolípidos (estabilizante) y/o el fármaco. Después de que se remueve la fase orgánica se forma una película lipídica que es hidratada en una solución salina y agitada por 5 min a 50 °C. Finalmente la emulsión obtenida (diámetro de entre 1–2 μm) se homogeneiza por medio de un sistema de alta presión (aproximadamente cinco ciclos a 60–70 °C y 1,055.85 kg/cm^2) para obtener las NLS (Heiati *et al.*, 1997).

1.3.1.6 Método de Emulsificación Difusión (MED)

El método de emulsificación difusión (MED) se puede considerar como una modificación del proceso de “*salting-out*” pero sin el uso de sales, lo que evita los subsecuentes pasos de purificación así como los problemas relacionados con la compatibilidad entre los fármacos y los electrolitos empleados. La originalidad del MED consiste en el uso de disolventes parcialmente solubles en agua. Al desarrollar el método para la preparación de NP’s poliméricas se usa alcohol bencílico como disolvente (Leroux *et al.*, 1995a, 1995b). Las NP’s se prepararan al formar una emulsión aceite en agua (o/w) entre la solución del polímero en alcohol bencílico y una solución acuosa que contiene al hidrocóide estabilizante, seguido de la dilución de la emulsión con agua (Trotta *et al.*, 2003).

Posteriormente se realiza la saturación del disolvente parcialmente soluble en agua. Esta saturación de la fase orgánica con agua y de la fase acuosa con el disolvente orgánico permite mejorar el equilibrio termodinámico del sistema (Quintanar-Guerrero *et al.*, 1997).

La técnica consiste en la formación de una emulsión (o/w), entre la solución de un polímero biodegradable (según el método propuesto inicialmente) en el disolvente saturado con agua (p.ej. propilencarbonato) y una fase acuosa que contiene el estabilizante (p.ej. alcohol polivinílico o gelatina) previamente saturada con el disolvente orgánico. La subsecuente adición de agua al sistema causa que el disolvente difunda hacia la fase externa lo que trae como resultado la formación de NP’s del polímero. La adición de un estabilizante adecuado evita la formación de grumos del polímero, pues éste actúa como un agente protector (Quintanar-Guerrero *et al.*, 1996).

El método que se utilizó para producir la Nanopartículas Lipídicas Sólidas en este proyecto es mediante el método de homogenización a alta presión en caliente propuesto por Schwartz *et al.* (1992) teniendo como lípido formador de nanopartículas la cera de Candeuba y como estabilizante Pluronic F-127.

1.3.2 Cera de Candeuba.

La Candeuba es una formulación especial constituida principalmente por cera de Candelilla y ésteres sintéticos de origen vegetal, los cuales se complementan con homopolímeros de peso molecular medio (www.multiceras.com, 2008).

El nombre Candeuba deriva de la fusión de dos palabras- Candelilla y Carnauba con el objetivo fundamental de hacer referencia a una cera constituida principalmente por cera de Candelilla, pero que incorpora también las propiedades más valiosas de la cera de carnauba en aplicaciones diversas (www.multiceras.com, 2008).

La Candeuba es una cera de última generación, la cual fue diseñada y desarrollada con las propiedades más valiosas de las dos ceras vegetales más utilizadas en la industria, en la tabla 4 se muestra una comparación de las propiedades de las ceras de las cuales está compuesta la cera de Candeuba.

Tabla 4. Comparación de propiedades de cera de Candelilla y Carnauba

Cera de Candelilla	Cera de Carnauba
✓ Alto contenido de hidrocarburos	✓ Propiedades de brillo
✓ Propiedades de emoliencia y protección contra el intercambio de humedad	✓ Bajo contenido de resinas
✓ Alta capacidad de retención de aceites	✓ Alta dureza
✓ Bajo coeficiente de expansión/contracción	✓ Mayor facilidad de emulsificación
✓ Aprobada por la Food and Drug Administration (FDA)	✓ Aprobada por la FDA

www.multiceras.com, 2008

Las propiedades presentadas en la tabla 4 son importantes ya que la cera de Candeuba está compuesta por ambas ceras, las cuales se unen para obtener las características que nos interesan, como son las propiedades de brillo, mayor facilidad de emulsificación, la protección contra la humedad, además de que las dos ceras son aprobadas por la FDA.

En la tabla 5 se mencionan las propiedades físico-químicas de las ceras de Candelilla, Candeuba y Carnauba.

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de las ceras de Candelilla, Candeuba y Carnauba

Análisis	Método	Especificaciones Candelilla	Especificaciones Candeuba	Especificaciones Carnauba
Color	Visual	Amarillo-Café	Amarillo	Amarillo-Café
Punto de Fusión (°C)	USP 741 CLASE II	69-73	82-86	82-86
Penetración (dmm)	ASTM D-1321	0-2	0-8	0-2
Número de Acidez (mg KOH /g)	USP 401	12-22	8-18	4-10
Número de Éster (mg KOH/g)	USP 401	31-43	58-73	70-82
Saponificación (mg KOH/g)	USP 401	43-65	70-90	78-88

www.multiceras.com, 2008

Las propiedades que se pueden resaltar como parámetros importantes de la tabla 5 son el punto de fusión que oscila entre los 82-86 °C, el cual es importante en la aplicación metodológica para la obtención de Nanopartículas Lipídicas Sólidas, ya que este debe elevarse 5 °C por arriba de su punto del punto de fusión de la cera para evitar que una vez fundida la cera vuelva a su estado original. Otro parámetro importante es el color, puesto que debe ser afín al fruto con la finalidad de no modificar el aspecto de la guayaba.

1.3.3 Goma xantana

Para la formación de un recubrimiento comestible es necesario tener una solución que pueda ser constitutiva de una matriz estructural con suficiente cohesión de tal manera que el recubrimiento quede adherido a la piel de la fruta (Debeaufort *et al.*, 1998), por esta razón se decidió utilizar la goma xantana como matriz estructural del recubrimiento comestible.

La goma xantana es un polisacárido de origen microbiano, muy importante desde el punto de vista comercial. Fue descubierto en Estados Unidos por el Departamento de Agricultura de ese país (García *et al.*, 2000). Es un heteropolisacárido ramificado sintetizado por diferentes especies de bacterias *xanthomonas*, principalmente *X. campestris*, que produce la goma como una cobertura de protección. Después de su producción el medio se pasteuriza y se separa por filtración del microorganismo (Badui, 2006).

El peso molecular de la goma xantana es de alrededor de 3, 000, 000; está formada por residuos de D-glucosa, D-manosa y ácido D-glucurónico en una relación molar de 2.8:32.2; también contiene aproximadamente 4.7 % de grupos acetilo y 3.5 % de ácido pirúvico.

Es una goma fluidificante, soluble en agua fría o caliente, y forma soluciones muy viscosas estables en un rango de pH de 1-9 así como en la presencia de diversas sales en el medio; produce soluciones traslucidas aún a altas concentraciones, es resistente a la degradación enzimática, funciona como un buen crio-protector, además de tener propiedades físicas y químicas uniformes que sirven de matriz en recubrimientos comestibles tradicionales de ceras y es determinante por sus efectos sobre otros parámetros de calidad de recubrimientos de frutas (Chen y Nussinovitch, 2000).

Legalmente es un aditivo permitido por la Food and Drug Administration para uso como aditivo sin alguna especificación de límites de concentración (García-Ochoa *et al.*, 2000), en Europa y en México. Su aplicación debe darse bajo las “buenas prácticas de manufactura” (Badui, 2006).

La goma xantana ha sido utilizada en una gran variedad de alimentos por diversas razones, incluyendo la estabilización de emulsiones, compatibilidad con otros ingredientes, estabilidad de temperatura y sus propiedades reológicas fluidificantes (García-Ochoa *et al.*, 2000).

1.3.4 Glicerol

El uso de glicerol como plastificante es importante, ya que el tipo de plastificante utilizado afecta considerablemente las propiedades mecánicas y de transporte de gases de los recubrimientos comestibles. Con la utilización de un plastificante se modifica el espacio entre las cadenas y reduce la rigidez de las estructuras, aumentando la flexibilidad del recubrimiento, con lo que se logra facilitar su aplicación, pero a su vez influirá en el espesor de la película obtenida y resistencia mecánica a la elongación. (Olivas y Barbosa-Cánovas., 2008).

El glicerol, también es conocido como glicerina es 1, 2, 3-Propanotriol. Es un líquido transparente, incoloro, con consistencia de jarabe, higroscópico. Sus soluciones son neutras al tornasol. Soluble en agua y alcohol. Insoluble en aceites fijos y volátiles, cloroformo y éter (U.S. Pharmacopeia, 2000).

II. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1 Problema

Garantizar la respiración del fruto por medio de un recubrimiento uniforme goma xantana-NLS, con la finalidad de utilizarlos para incrementar la vida de almacenamiento de guayabas.

2.2 Hipótesis

Debido a que las nanopartículas permiten tener un recubrimiento capaz de funcionar como una barrera semipermeable al intercambio de gases con el ambiente, por lo tanto a medida que se aumente la concentración de NLS en el recubrimiento la guayaba tendrá un menor porcentaje de pérdida de peso, una menor pérdida de firmeza, menor cambio de color, mayor acidez y menor cambio en sólidos solubles, durante el tiempo de almacenamiento.

2.3 Objetivos

2.3.1 Objetivo General

Estudiar el efecto de las proporciones de NLS y soporte de goma xantana, sobre los parámetros físico-químicos de guayabas frescas almacenadas en refrigeración, con la finalidad de incrementar su vida útil.

2.3.1.1 Objetivo Particular 1

Evaluar el efecto de la temperatura de enfriamiento de guayaba (10 y 20 °C) y concentración de goma xantana (0.3, 0.4, y 0.5 %) sobre la calidad y uniformidad de recubrimientos, mediante la evaluación de la superficie de recubrimiento para su aplicación en la conservación de guayaba.

2.3.1.2 Objetivo Particular 2

Evaluar el efecto de las proporciones de NLS y soporte en goma xantana en recubrimientos comestibles sobre la conservación de guayaba durante el almacenamiento refrigerado en función de los cambios de físico-químicos del fruto.

2.4 Materiales y equipos

2.4.1 Materia Prima

Las guayabas (*Psidium guajava L.*) provenientes de Calvillo Ags., fueron adquiridas en la central de abastos de la Ciudad de México. Posteriormente, seleccionadas de acuerdo a su tamaño y estado de madurez (verde claro), cuidando la mayor calidad posible (sin defectos, magulladuras, podredumbres o fisuras). En seguida, se desinfectaron con una solución de hipoclorito de Sodio (70 ppm) durante 15 minutos. Después de la limpieza fueron preenfriadas por hidro-enfriamiento y secadas suavemente con toallas absorbentes. Por último, fueron sometidas a aplicaciones de recubrimientos comestibles a diferentes concentraciones de NLS (ver tabla 6), sumergiéndolas durante un minuto y dejándolas secar a temperatura ambiente.

2.4.2 Materiales

- Cera de Candeuba S.; Multiceras, México
- Pluronic® F- 127 - Poloxámero 407; SIGMA, USA
- Goma xantana; SIGMA, USA
- Glicerina Q.P, Droguería Cosmopolita, México

2.4.3 Equipos

- Balanza Analítica; Boeco® BBC32, Alemania
- Calibrador Digital, Vernier
- Cámara de refrigeración; Torrey® R-14-B, México
- Cobertor Ionico; JEOL® FINE COAT ion spotter JFC1100, Japón
- Colorímetro, Minolta®, sensor CR-300, Japón
- Espectrofotómetro; UV / Vis; Cary ® UV 500, Varian, Australia
- Material diverso de laboratorio
- Microscopio Electrónico de Barrido; JEOL® JMS- 25SII, Japón
- Parrilla Eléctrica con agitación; Cimarec®, Termoline, USA
- Refractómetro Digital, Leica ®; AR 200, USA

- Termo–Anemómetro; AIR FLOW TA-2-15/3 k, USA
- Termo-higrómetro Digital; EL-USB-2-RH/ Temperature Data Logger. USA
- Termopares; Hanna Instruments®, USA
- Texturómetro; Instron® 4411, dispositivo de compresión (Aluminio, Ø= 3.5 cm), USA
- Ultraturrax®; IKA, Alemania
- Zetasizer; Nano Series ZS, ZEN 3600, Inglaterra

2.5 Desarrollo experimental

El desarrollo experimental que se siguió se resume en la figura 2 de la metodología de investigación experimental. El cual proyecta el trabajo conjunto. Contiene la descripción del problema, los objetivos, las variables, actividades preliminares y las actividades a desarrollar.

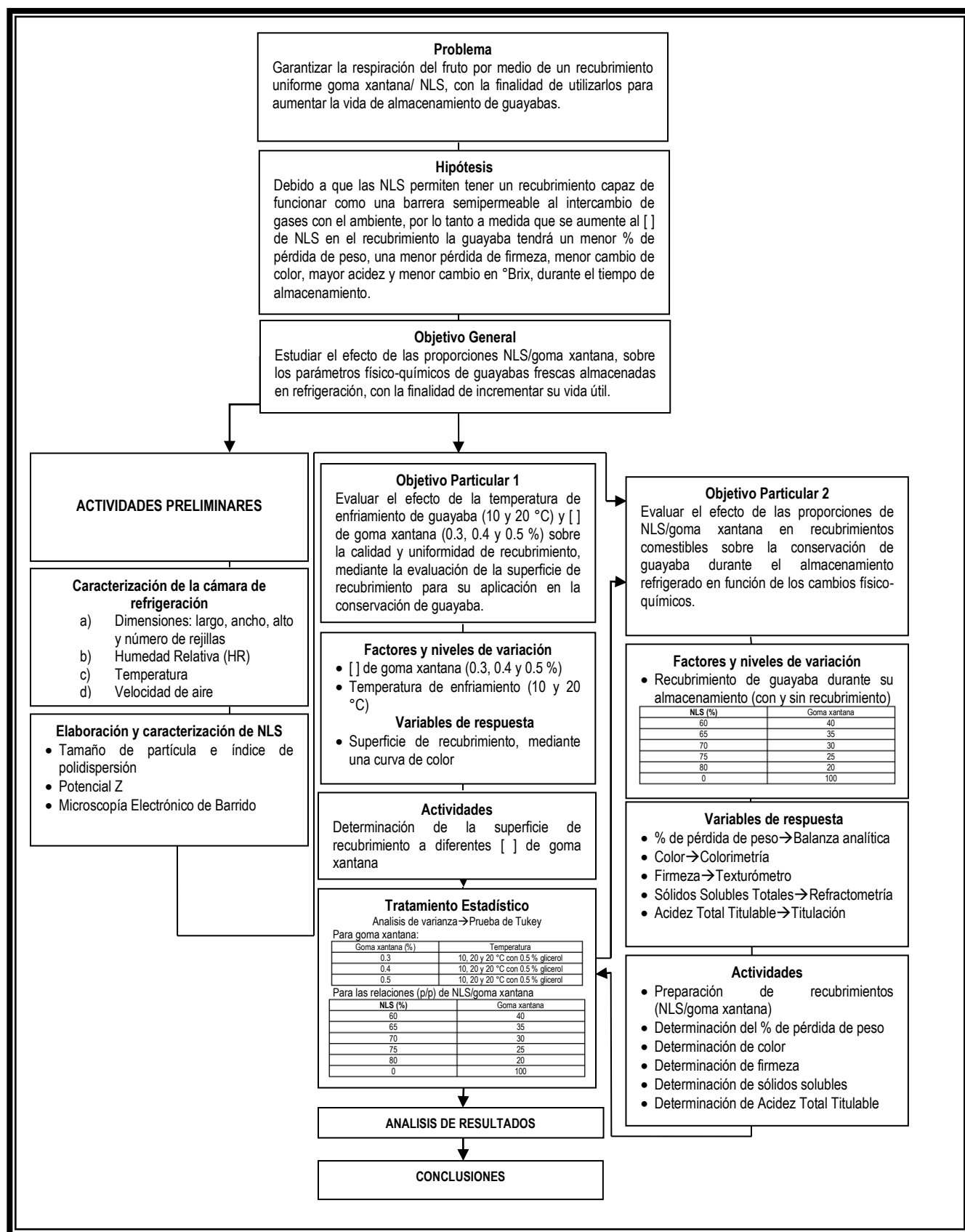


Figura 2. Metodología de Investigación Experimental

2.6 Descripción de las actividades preliminares

En las actividades preliminares que se mencionan en la metodología experimental (figura 2), se realizó la caracterización física de la cámara de refrigeración, obteniéndose como parámetros importantes las dimensiones de la cámara, la humedad relativa (HR), la velocidad del aire, y la temperatura, los cuales nos permitieron controlar las condiciones de trabajo en las que se operó durante la experimentación; además, la elaboración y caracterización de las NLS para posteriormente llevar a cabo la preparación de los recubrimientos e iniciar el almacenamiento refrigerado de las guayabas.

2.6.1 Caracterización de la cámara de refrigeración

Previo al almacenamiento de guayaba se llevó a cabo la caracterización de la cámara de refrigeración (Torrey®, R-14-B) con la finalidad de tener control de los parámetros de almacenamiento mediante la medición de las dimensiones de la cámara de refrigeración, humedad relativa, velocidad del aire y monitoreo de temperatura lo que se realizó de la siguiente manera:

- a) *Dimensiones de la cámara de refrigeración:* Las dimensiones de la cámara se obtuvieron midiendo con la ayuda de un flexómetro el largo, ancho y alto, además de los espacios entre los anaqueles (rejillas), y el número de anaqueles.
- b) *Humedad relativa (HR):* La humedad relativa promedio de la cámara, se midió colocando un termo-higrómetro Digital (EL-USB-2-RH/ Temperature Data Logger, USA), en el centro de la cámara de refrigeración y fue medida de acuerdo a lo propuesto por Goncalves *et al.* (2005).
- c) *Temperatura:* La temperatura de la cámara se determinó paralelamente a la medición de la HR con el termo-higrómetro Digital (EL-USB-2-RH/ Temperature Data Logger, USA), en el centro de la cámara para tomar la temperatura promedio a la que la cámara de refrigeración funciona.

d) *Velocidad de aire*: Determinada a través de un Termo-anemómetro de “hilo caliente” (AIR FLOW TA-2-15/3 k, USA), en m/s. El equipo fue colocado de manera horizontal de tal manera que el aire fluyera perpendicularmente a través del sensor para poder detectar su velocidad. Las mediciones se determinaron en 4 niveles, cada uno con 40 cm de separación ya que a esta distancia fueron colocadas las guayabas para su posterior manejo durante su almacenamiento.

2.6.2 Elaboración de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)

Las NLS fueron elaboradas de acuerdo al método Homogenización a alta presión en caliente (Schwartz *et al.*, 1992) con un homogenizador rotor-estator (Ultraturrax®; IKA, Alemania). La cera de Candeuba (10 % p/v) fue fundida a una temperatura de 90 °C a baño maría y mantenida a la misma temperatura durante el proceso, a continuación se adicionó a una solución de pluronic-127 (5 % p/v) a 90 °C, realizando 3 ciclos de agitación en el homogenizador a 10, 000 rpm, de cinco minutos cada uno.

2.6.3 Caracterización de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)

Para la caracterización de las NLS se determinó el tamaño de partícula, potencial zeta y Microscopia Electrónica de Barrido como se describe a continuación.

2.6.3.1 Determinación del tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI)

El tamaño medio de partícula en relación al % en volumen y el índice de polidispersión (PDI) de las partículas se determinó por dispersión dinámica de luz, con un ángulo de detección de 173° a una temperatura 25 °C, empleando un Zetasizer; Nano Series ZS, ZEN 3600, (Inglaterra). Esta prueba se realizó para conocer el tamaño y la distribución de tamaño de las NLS.

2.6.3.2 Determinación del potencial Z (ψ_z)

La estabilidad de las nanopartículas se infirió en función al potencial Z (ψ_z), determinándose por Velocimetría de Laser Doppler utilizando un Zetasizer nano series ZS, modelo ZEN 3600 (Inglaterra), a partir de soluciones diluidas en agua desionizada Milli Q[®], hasta observar la menor variación en los picos y en la desviación estándar.

2.6.3.3 Determinación de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Con la finalidad de obtener el análisis morfológico de las NLS se diluyó 1 mL de NLS en 9 mL de agua Mili Q[®] para aplicarla en un portaobjetos y una vez que se seca la película formada, se recubre con una película fina de oro (≈ 20 nm) en un cobertor iónico JEOL[®] JFC1100 (Japón) y la superficie se evalúa con un Microscopio Electrónico de Barrido JEOL[®] JMS- 25SII (Japón), a 12.5 kV.

Para la realización de esta prueba sobre las guayabas con y sin recubrimiento, fue necesario llevar a cabo la deshidratación de las mismas, sumergiendo una pequeña parte de las guayabas en etanol durante 24 horas y posteriormente se escurrieron y se dejaron secar a temperatura ambiente. Por último, se colocaron en la superficie del Microscopio Electrónico de Barrido JEOL[®] JMS- 25SII (Japón), a 12.5 kV para evaluarlas.

2.7 Actividades del objetivo particular 1

2.7.1 Determinación del área de recubrimiento a diferentes concentraciones de goma xantana (0.3, 0.4 y 0.5 %)

Se llevó a cabo mediante la aplicación de recubrimiento con base en goma xantana sobre la superficie de guayabas a temperaturas de 10 y 20 °C, las concentraciones de goma xantana fueron a 0.3, 0.4 y 0.5 %; además con el fin de cuantificar la cantidad y uniformidad del recubrimiento aplicado se utilizó colorante azul No. 1. Las guayabas fueron sumergidas en la dispersión durante 2 minutos con la finalidad de distribuir homogéneamente el recubrimiento, para secarlas a temperatura de 25 °C durante 2 h.

El área cubierta se evaluó determinando la cantidad de recubrimiento utilizado mediante la difusión del color azul No. 1 por espectrofotometría. Se realizó una curva de calibración con solución estándar de 0.025 g en 50 mL de agua destilada realizando las diluciones.

Una vez preparadas las muestras se determinó la absorbancia a 630 nm en un espectrofotómetro (UV/Vis; Cary ® UV 500, Varian, Australia), según las concentraciones, para construir una curva de calibración graficando la absorbancia vs concentración de colorante. Una vez obtenida la curva se obtuvo la ecuación de la recta: $y=mx+b$, (en este caso: $y = 0.0759x + 0.0142$) siendo “y” la absorbancia y “x” la concentración de colorante.

La determinación de la cantidad de recubrimiento en la guayaba se llevó a cabo sumergiendo cada guayaba en 100 mL de agua destilada. Se agitó con la finalidad de solubilizar el material junto con el colorante, posteriormente a ésta solución se le determinó el valor de la absorbancia, el cual se sustituyó en la ecuación anterior para así obtener la concentración de colorante. Esta concentración se relacionó con la cantidad de recubrimiento que hay sobre la superficie de las guayabas.

Con los análisis de los resultados obtenidos se realizó la selección de la concentración de goma xantana utilizada como soporte para las NLS.

2.8 Actividades del objetivo particular 2

2.8.1 Preparación de recubrimientos de goma xantana/NLS

Una vez que se definió la concentración de la goma xantana y preparadas las NLS se formularon los recubrimientos con base de goma xantana y NLS homogeneizando con un Ultraturrax®; IKA, (Alemania) a 10, 000 rpm durante 3 minutos.

En la tabla 6 se pueden observar las proporciones que se utilizaron para la elaboración de los recubrimientos comestibles en relación peso/peso (p/p) de goma xantana y NLS; es importante señalar que en todas las formulaciones se utilizó glicerol (0.5 %) como plastificante, con la

finalidad de darle al recubrimiento flexibilidad, homogeneidad y resistencia a la punción que enfrentan los frutos durante su almacenamiento y comercialización.

Tabla 6. Proporciones (p/p) de Nanopartículas Lipídicas Sólidas y goma xantana

% NLS	% goma xantana
60	40
65	35
70	30
75	25
80	20
0	100

Se partió de un lote de 40 kg de guayabas provenientes de Calvillo Ags., para seleccionar las guayabas a recubrir con base a un estado de madurez verde claro en relación al color superficial ($L=62.31$, $a=45.88$, $b=14.88$), (Mercado *et al.*, 1998). Una vez seleccionadas se procedió a desinfectarlas por inmersión (15 min) en solución de hipoclorito de sodio a 75 ppm, posteriormente se secaron cuidadosamente con toallas absorbentes, para después recubrirlas con los recubrimientos de xantana-NLS (0, 60, 65, 70, 75 y 80 %), dejando un lote control sin recubrimiento para tomarlo como referencia. La aplicación del recubrimiento se llevó a cabo por inmersión durante 1 minuto, secado posterior a temperatura ambiente y almacenamiento refrigerado (8 ± 2 °C) durante 26 días con la finalidad de evaluar si existe influencia del recubrimiento sobre los cambios fisicoquímicos de los frutos.

Los lotes se conformaron con la finalidad de llevar a cabo un muestreo cada 3 días y considerando además un lote control al que se les evaluó paralelamente la pérdida de peso y color, para realizarle las pruebas destructivas al final del almacenamiento. A continuación se describen las pruebas fisicoquímicas realizadas a los frutos durante su almacenamiento refrigerado.

2.8.2 Pruebas Físicas

2.8.2.1 Determinación del porcentaje de pérdida de peso en guayabas con y sin recubrimiento almacenadas a temperatura de refrigeración

La determinación del porcentaje de pérdida de peso se realizó en una balanza analítica; Boeco® BBC32, (Alemania), para conocer la pérdida de peso de la guayaba durante el almacenamiento, esto se realizó mediante la diferencia entre el peso al inicio y al final del periodo de almacenamiento.

El porcentaje de pérdida de peso se realizó dos veces a la semana durante tres semanas, con el apoyo de la siguiente ecuación:

$$\%PP = (Pi - Pf / Pi) * 100 \text{-----}(1)$$

Donde:

$\% PP$ = Porcentaje de pérdida de peso

Pi = Peso inicial

Pf = Peso final

2.8.2.2 Determinación de color

El color de la cáscara de las guayabas fué determinado con la ayuda de un colorímetro MINOLTA con sensor CR-300, (Japón), por el sistema Hunter Lab que representa la cromaticidad en coordenadas rectangulares. Los valores “a” en abscisas se mueven desde los valores negativos para el verde a valores positivos para el rojo; los valores “b” en ordenadas van desde azul al amarillo y el parámetro “L” representa la luminosidad desde la reflexión nula (L=0) a reflexión difusa perfecta (L=100). El instrumento fue estandarizado por medio de una baldosa blanca de cerámica. Las medidas de color fueron realizadas en la piel en dos lados opuestos de la zona ecuatorial del fruto, con tres replicas por tratamiento.

Los valores L, a y b se utilizaron para calcular el tono (ángulo de Hue) a partir de la ecuación:

$$Hue^{\circ} = \arctan(a/b) \text{ -----}(2)$$

Donde: 0 = rojo-púrpura, 90 = amarillo, 180 = azul-verde y 270 = azul (McGuire, 1997).

2.8.2.3 Determinación de firmeza

La determinación de firmeza se realizó sobre una de las caras de la zona ecuatorial de las guayabas; se llevó a cabo para conocer la pérdida de calidad de la guayaba durante el almacenamiento con la ayuda de un equipo de medición de propiedades mecánicas INSTRON 4411 con dispositivo de compresión (Aluminio, Ø= 3.5 cm), USA. Esta experimentación se efectuó tratando de imitar la fuerza de compresión que realizaría el consumidor al momento de seleccionar las guayabas. Esta prueba se realizó dos veces por semana, durante cuatro semanas con tres repeticiones por concentración, expresando los resultados en Newtons.

2.8.3 Pruebas Químicas

Los grados Brix y la acidez se determinaron con la finalidad de conocer el avance de maduración durante el almacenamiento y comparar las guayabas recubiertas a diferentes concentraciones y las no recubiertas.

Estas pruebas se determinaron con la ayuda de un refractómetro digital, Leica ®; AR 200, (USA) y el método de titulación (método AOAC 942.15) respectivamente, a continuación descritas:

2.8.3.1 Determinación de sólidos solubles totales (°Brix)

Los sólidos solubles se determinaron directamente mediante la lectura en un refractómetro digital, Leica ®; AR 200, (USA). Antes de realizar la determinación se calibró el refractómetro con una gota de agua destilada en la superficie señalada en el refractómetro, hasta que la lectura se ajustó a cero. Posteriormente, se tomó una gota de la pulpa de guayaba y se colocó en la

superficie señalada en el refractómetro. Las lecturas fueron tomadas por triplicado, y los resultados fueron reportados en grados Brix.

2.8.3.2 Determinación de Acidez Total Titulable (ATT)

La prueba se basa en la determinación de la acidez por neutralización del ácido con una base. La ATT se determinó diluyendo 10 g de pulpa homogenizada de guayaba en 50 mL de agua destilada y posteriormente se realizó la titulación con una solución patrón de hidróxido de sodio a 0.1 N, para la neutralización de los ácidos orgánicos y utilizando como indicador tres gotas de fenoftaleína al 1 % diluida en etanol. Los resultados de esta prueba fueron expresados en % de ácido cítrico (AOAC; 1990) con la ayuda de la siguiente ecuación:

$$\% \text{Acidez} = (meq_{ác} * V_{NaOH} * N_{NaOH}) / PM * 100) \text{-----}(3)$$

Donde:

% Acidez = Porcentaje de acidez

$meq_{ác}$ = Miliequivalentes de ácido cítrico (0.070)

V_{NaOH} = Volumen gastado de hidróxido de sodio 0.1 N

N_{NaOH} = Normalidad del hidróxido de sodio

PM = Peso muestra

2.9 Tratamiento estadístico

Para efectuar el tratamiento estadístico de los datos, se realizó un diseño experimental para goma xantana con tres niveles de concentración (0.3, 0.4 y 0.5 %) y dos niveles de temperatura (10 y 20 °C) para cada una, con la finalidad de evaluar el efecto de la concentración de goma xantana y la temperatura sobre el área de recubrimiento (objetivo 1). Asimismo se elaboró otro diseño experimental para evaluar el efecto de la concentración de NLS en los recubrimientos con base en goma xantana sobre los parámetros de calidad de guayaba durante su almacenamiento a bajas temperaturas. En la tabla 7 se presentan los niveles de variación para las NLS y la goma xantana en relación peso/peso (p/p) que se usaron durante la experimentación, teniendo un nivel de NLS para cada nivel de goma xantana:

Tabla 7. Diseño experimental para las relaciones (p/p) de goma xantana/NLS

% NLS	% goma xantana
60	40
65	35
70	30
75	35
80	20
0	100

Para realizar el análisis estadístico de resultados, todas las mediciones fueron realizadas por triplicado para cada caso. Los resultados fueron expresados con medias y desviaciones estándar. Además se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Tukey fue utilizada para establecer las diferencias significativas entre las medias evaluadas con el 0.05 de nivel de significancia. El análisis estadístico fue realizado con la ayuda del software Minitab 14.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Actividades preliminares

3.1.1 caracterización de la cámara de refrigeración

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

a) Dimensiones de la cámara de refrigeración:

En la figura 3 se muestra un esquema del interior de la cámara de refrigeración en la cual se llevó a cabo el almacenamiento refrigerado.

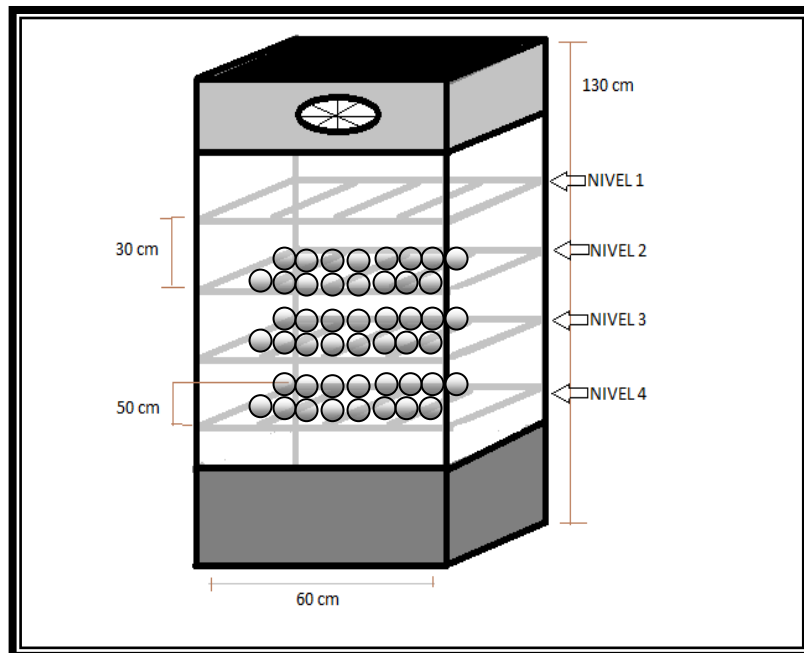


Figura 3. Caracterización de la cámara de refrigeración (Torrey®, R-14-B)

En la figura 3 se pueden resaltar como parámetros importantes las medidas de la cámara de refrigeración y el acomodo de las guayabas, es importante señalar que se adaptó una cortina de plástico (colocada en el nivel 1) para evitar que el aire del ventilador llegara directamente sobre los frutos y los deshidratara.

b) Humedad relativa (HR):

El valor de la humedad relativa fue tomado durante 24 h de monitoreo en el centro de la cámara vacía con la ayuda de un termo-higrómetro digital (EL-USB-2-RH/ Temperature Data Logger, USA); se observó que la humedad relativa fluctuó en función al tiempo entre 65 y 90 %, esta variación en los datos fue debida a los paros y arranques realizados por el compresor dentro del sistema de refrigeración de la cámara.

c) Temperatura

El valor de temperatura dentro de la cámara de refrigeración fue determinado paralelamente con la humedad relativa en el centro de la cámara vacía con la ayuda del termo-higrómetro digital (EL-USB-2-RH/ Temperature Data Logger, USA), se observó que la temperatura de la cámara de refrigeración se mantuvo a un rango de temperatura de 8 ± 2 °C

d) Velocidad de aire

La velocidad del aire fue determinada utilizando un Termo-anemómetro de “hilo caliente” (AIR FLOW TA-2-15/3 k, USA), en m/s. Observándose, que el nivel 1 (véase figura 3) y más próximo al ventilador presentó una velocidad de 5 m/s, razón por la que en esta charola no se colocaron muestras de guayaba. Se obtuvieron valores de 3.2 a 1.9 m/s para el resto de los niveles de la cámara donde fueron colocadas las guayabas.

3.1.2 Caracterización de Nanopartículas Lipídicas Sólidas (NLS)

Una vez elaboradas las NLS se llevó a cabo la caracterización de las mismas, a las cuales se les determinó el tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI); potencial Z y Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) obteniéndose los siguientes resultados:

3.1.2.1 Resultados de la determinación del tamaño de partícula

Para la caracterización de las NLS se realizó la medición del tamaño de partícula y el índice de polidispersión (PDI) los cuales se graficaron con respecto al número de ciclos dentro del homogenizador.

En la figura 4, se muestra el tamaño de partícula que se alcanzó durante la reducción de las NLS en el homogenizador (Ultraturrax®; IKA, Alemania) durante cinco ciclos de homogenización.

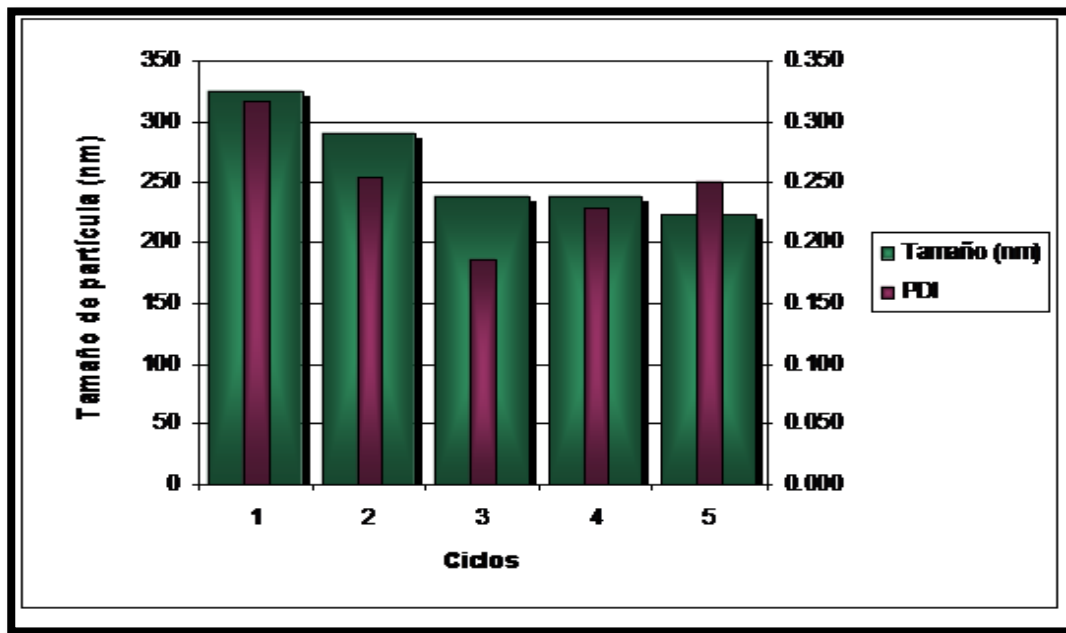


Figura 4. Tamaño de partícula e índice de polidispersión (PDI) en cada ciclo de homogenización

Se puede observar que a partir del tercer ciclo se alcanza la talla nanométrica (239 nm), mientras que durante el ciclo 4 y 5 ya no existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la reducción del tamaño.

El menor índice de polidispersión se alcanza en el ciclo 3 siendo esto importante ya que significa que el calor generado durante la homogenización puede provocar la aglomeración de las partículas provocando que se obtenga un medio más heterogéneo, estas observaciones sirven además para optimizar los siguientes procesos de reducción de tamaño ya que esta es una operación de poca eficiencia y por lo tanto de alto costo.

3.1.2.2 Resultados de la determinación del potencial Z

El potencial zeta se refiere a la compatibilidad física del sistema coloidal de nanopartículas en el cual a medida que el valor absoluto se aleje del cero el sistema tiene menor probabilidad de separación. En la figura 5 se puede observar los valores de potencial Z que se obtuvieron durante los 5 ciclos de homogenización en el ultraturrax.

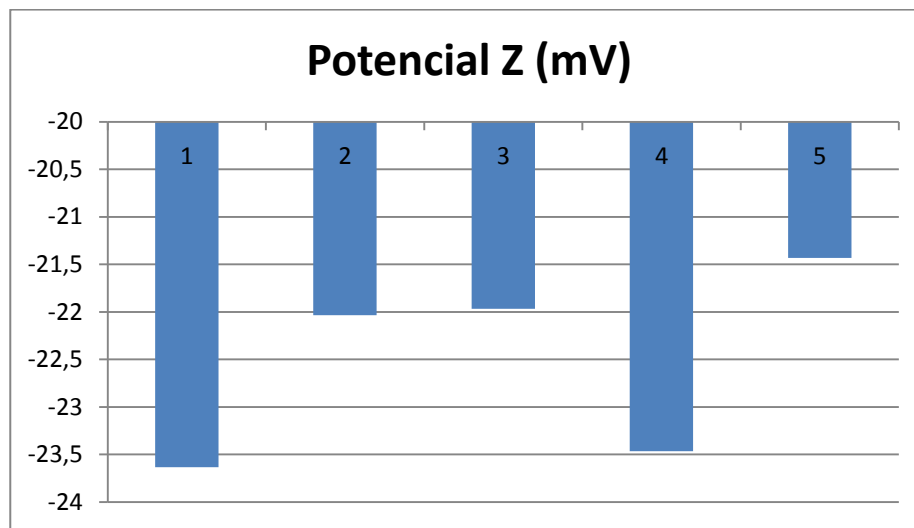


Figura 5. Potencial Z en cada ciclo de homogenización

En ésta se puede observar que el mínimo valor de potencial Z de -23.7, se obtuvo durante el ciclo 1, seguido por el cuarto ciclo con un valor de -23.45, también muestra que durante el quinto ciclo el valor de potencial Z se va acerca acercando al valor de cero, lo que indica que si se le aplicaran más ciclos de homogenización el sistema se haría más inestable. Sin embargo, estos valores no representan una diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$) y se puede considerar que las NLS poseen estabilidad física, ya que indica que tiene poca posibilidad de agregación temporal debido a que los valores son inferiores o cercanos a -30 mV.

3.1.2.3 Resultados de la Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

La Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) es la técnica que nos permite afirmar que hemos obtenido sistemas dispersos del orden submicrónico; para la realización de esta prueba se tomaron las micrografías de las guayabas con y sin recubrimiento con el fin de observar la morfología y tamaño de las nanopartículas para así corroborar la presencia de las mismas.

En la figura 6 se muestran las micrografías de las guayabas control (sin recubrimiento) para tomarlas como referencia con respecto a las guayabas recubiertas con goma xantana y NLS.

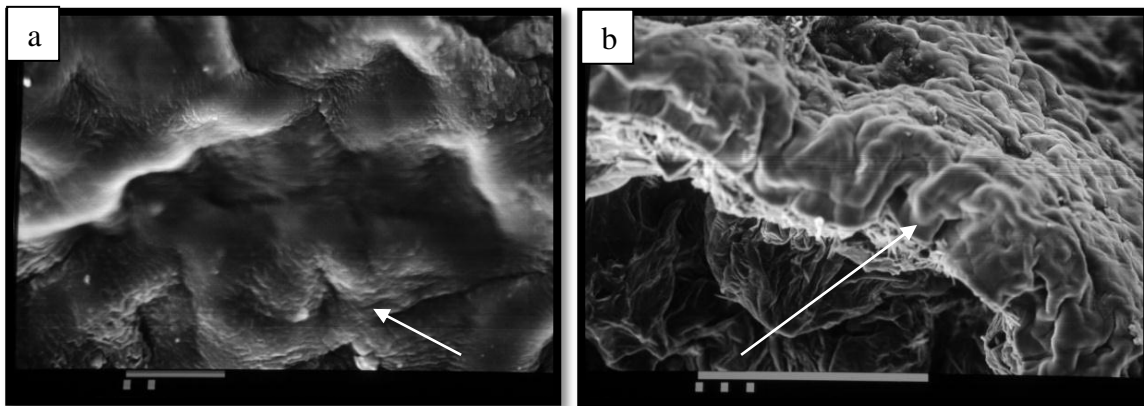


Figura 6a. Guayaba control 2000x; Figura 6b. Guayaba control 450x

La figura 6a muestra la morfología de la superficie de una guayaba deshidratada control (sin recubrimiento) a una escala de 2000x, donde se observa una superficie con pliegues debido a la falta de agua en su estructura celular, pudiéndose mostrar también, un depósito heterogéneo de cera cuticular propia del fruto, el cual impide una regulación adecuada de la respiración y provocando la rápida deshidratación; de igual manera en la figura 6b se observa la misma guayaba pero a una escala de 450x, donde se puede observar los pliegues más continuos

En la micrografía de la figura 7 se muestra la morfología de la superficie de una guayaba deshidratada recubierta con goma xantana.

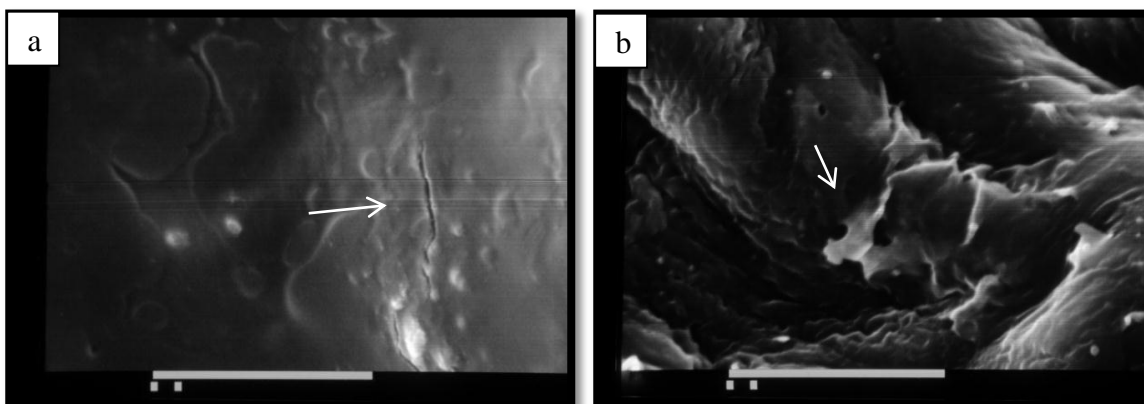


Figura 7a. Guayaba 100% xantana 2000x; Figura 7b. Guayaba 100% xantana 450x

En la figura 7a se puede observar que la aplicación del recubrimiento de goma xantana proporciona una estructura más lisa a la guayaba, sin embargo presenta pequeñas fracturas irregulares que provocan que la fruta no respire de manera regular, además de que la falta de una estructura lipídica provoca que la fruta se deshidrate más rápidamente que un recubrimiento que si la posea. En la figura 7b se expone la misma guayaba a una escala de 450x donde se puede apreciar que el recubrimiento que se aplicó sobre la superficie de la guayaba no se distribuye de manera homogénea provocando así que el fruto no tenga una respiración adecuada.

En la figura 8 se puede observar la superficie de una guayaba deshidratada recubierta con NLS y goma xantana en una relación 60/40 de peso seco respectivamente.

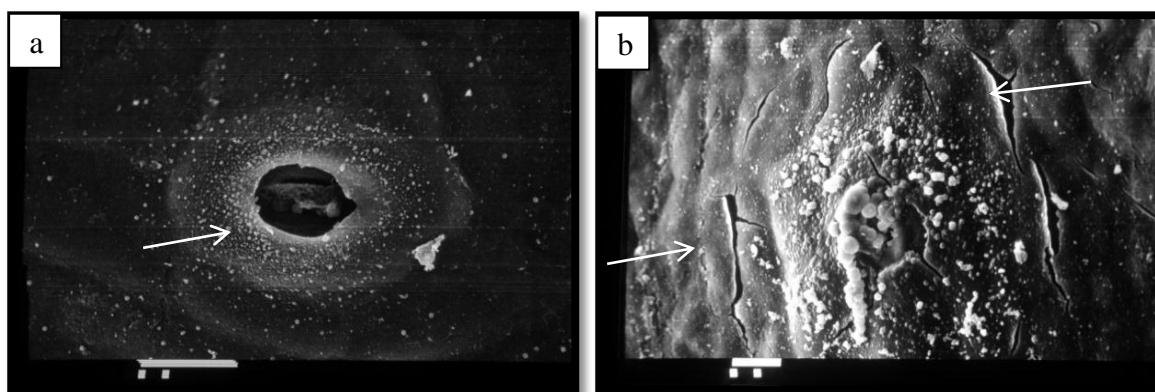


Figura 8a. Guayaba NLS/goma xantana 60/40 2000x;

Figura 8b. Guayaba /goma xantana 60/40 450x

En la figura 8a se pueden apreciar los poros formados por el recubrimiento de NLS/ goma xantana que permiten la respiración del fruto y confirma la presencia de las NLS. Sin embargo en la figura b se puede observar que existen pequeñas fracturas provocadas por la cantidad de goma xantana presente en la formulación del recubrimiento; también se pueden observar pequeños agregados de NLS debidos a la afinidad lipídica presentada por las mismas.

En la figura 9 se muestran las micrografías de una guayaba deshidratada recubierta con NLS y goma xantana a una relación de 75/25 de peso seco respectivamente.

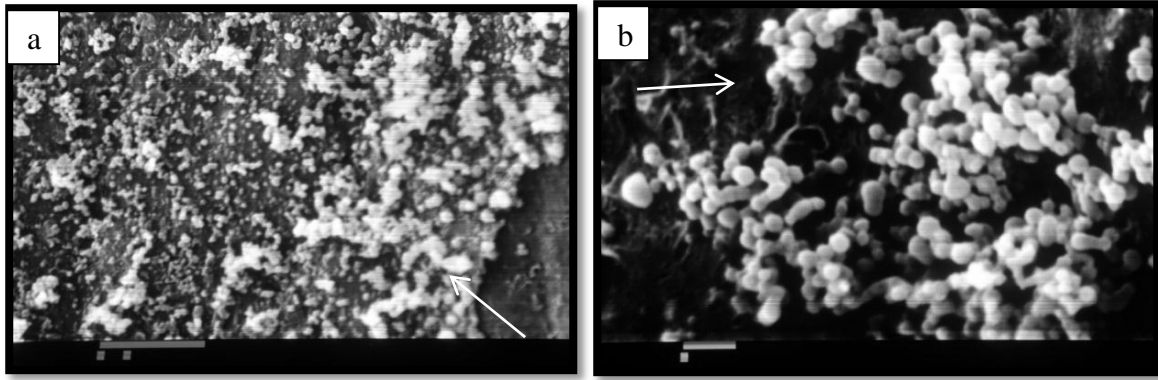


Figura 9a. Guayaba NLS/goma xantana 75/25, 2000X;

Figura 9b. Guayaba NLS/goma xantana 75/25 4500X.

En las figuras 9a y 9b se pueden apreciar de manera más clara la forma de las NLS y los espacios que forman entre sí para permitir la respiración de las guayabas de una manera controlada, evitando la deshidratación y permitiendo el intercambio de gases como el O₂, CO₂ y etileno.

En la figura 10 se muestran las micrografías de una guayaba deshidratada recubierta con NLS y goma xantana a una relación de 80/20 de peso seco respectivamente.

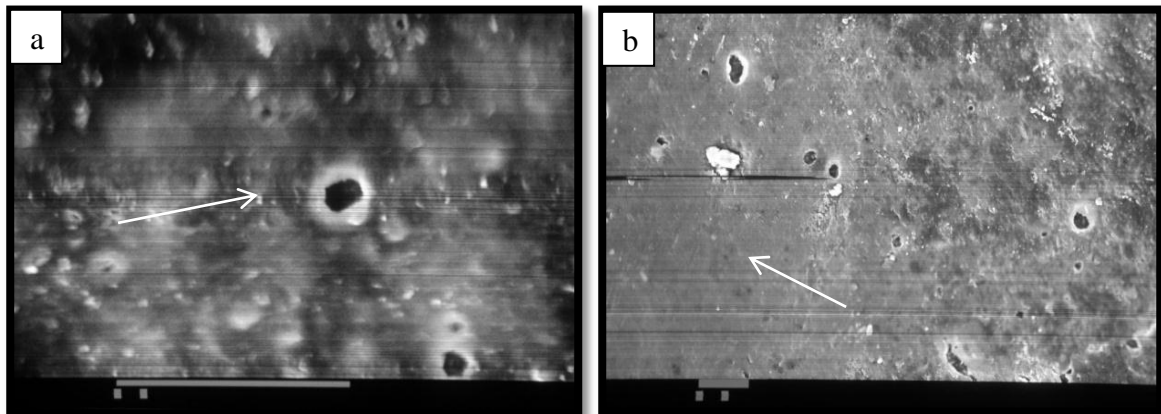


Figura 10a. Guayaba NLS/goma xantana 80/20, 2000X;

Figura 10b. Guayaba NLS/goma xantana 80/20 1000X

En la figura 10a se puede observar que los poros formados por las nanopartículas son pocos con respecto a las demás formulaciones; en la figura b se puede apreciar que la capa que forma el recubrimiento es demasiado gruesa lo que impide el desarrollo de la fruta, lo cual puede provocar daños fisiológicos en la fruta.

3.2 Resultados del Objetivo Particular 1

3.2.1 Resultados de la determinación del área de recubrimiento a diferentes concentraciones de goma xantana (0.3, 0.4 y 0.5 %)

Para observar el efecto de la temperatura y la concentración de goma sobre el área superficial, se realizó un gráfico de la superficie recubierta en gramos de goma/ cm² vs la concentración de goma en función a la temperatura de 10 °C y 20 °C, sin utilización de plastificante y a 20 °C con 0.5 % de glicerol como plastificante.

En la figura 11 se muestra el efecto de la temperatura de enfriamiento de la guayaba y la concentración de goma xantana sobre la superficie de recubrimiento de la guayaba.

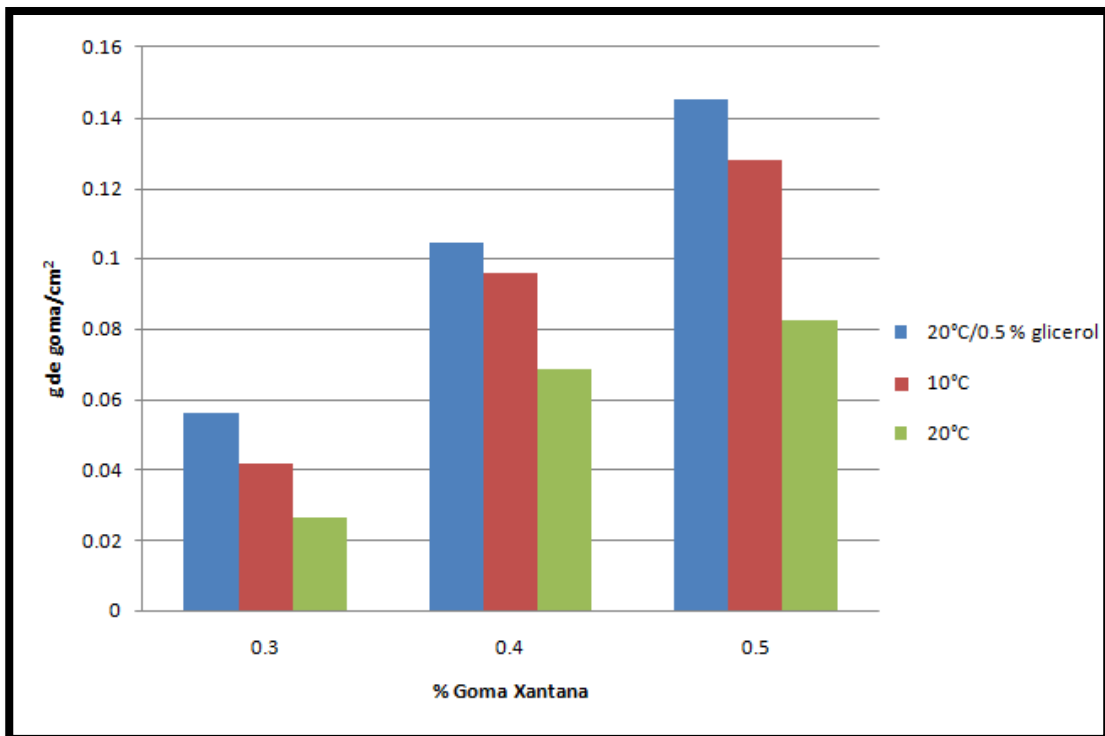


Figura 11. Efecto de la temperatura y la concentración de goma sobre la superficie recubierta

En esta figura se observa que al aumentar la concentración de goma xantana la superficie de recubrimiento es mayor, existiendo una diferencia significativa ($p \leq 0.05$), lo cual indica que la concentración de goma si influye sobre la superficie de recubrimiento. También se puede observar que a la temperatura de 10 °C se logró la superficie de recubrimiento mayor en las tres

concentraciones; sin embargo, no existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$), con respecto a la de 20 °C; el uso de glicerol al 0.5 % permitió darle flexibilidad al recubrimiento permitiendo disminuir los agregados formados por la goma xantana en la superficie de la guayaba, y así tener un recubrimiento más homogéneo lo que garantiza tener la misma concentración alrededor de la guayaba; es importante señalar que el uso de glicerol en el recubrimiento también influyó en el aumento de la superficie recubierta.

En la figura 12 se muestran guayabas recubiertas con goma xantana 0.3 % y 10 °C, sin glicerol.



Figura 12. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.3 % y 10 °C, sin glicerol

Las guayabas muestran una superficie de recubrimiento muy escasa, se puede observar que el recubrimiento no se adhirió a la pared de la guayaba, teniendo poca afinidad la goma xantana con el fruto.

En la figura 13 se muestran guayabas recubiertas con goma xantana a 0.4 %, 10 °C, sin glicerol.



Figura 13. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.4 % y 10 °C, sin glicerol

Las guayabas de la figura 12 presentan mayor superficie recubierta que las guayabas recubiertas con 0.3 % de goma xantana, además de ser un recubrimiento con más homogeneidad.

En la figura 14 se pueden visualizar las guayabas recubiertas con 0.5 % de goma xantana a una temperatura de 10 °C, sin glicerol.



Figura 14. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.5 % y 10 °C, sin glicerol

Las guayabas recubiertas con 0.5 % de goma xantana presentaron menor homogeneidad que las recubiertas con 0.4 %, se puede observar que el exceso de goma provoco la aglomeración de la misma sobre la superficie del fruto.

Para darle mayor flexibilidad al recubrimiento comestible se aplicó glicerol como plastificante; el resultado de la aplicación de plastificante sobre las guayabas se puede apreciar en la figura 15, donde se muestran las guayabas recubiertas con goma xantana a una concentración de 0.3 % y 0.5 % de glicerol.

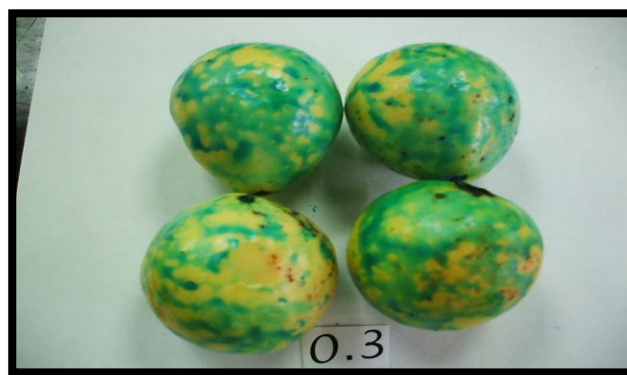


Figura 15. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.3 %, 20 °C y 0.5 % de glicerol

La figura anterior presenta una mayor superficie de recubrimiento con respecto a las guayabas recubiertas con la misma concentración de goma, lo cual indica que el uso de plastificante sobre los frutos incrementa la superficie de recubrimiento, sin embargo esta concentración de goma no es suficiente para obtener una superficie recubierta homogéneamente.

En la figura 16 se muestran las guayabas recubiertas con goma xantana a una concentración de 0.4 % con 0.5 % de glicerol.

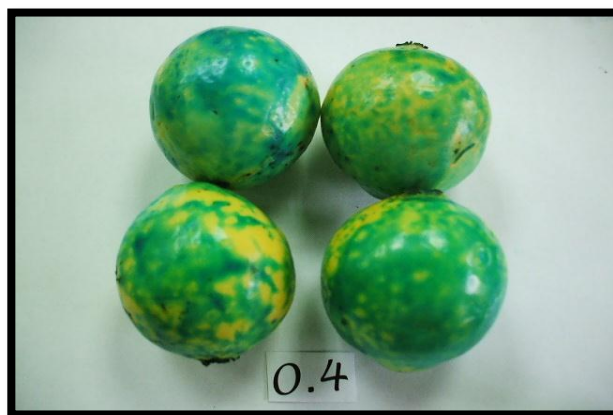


Figura 16. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.4 %, 20 °C y 0.5 % de glicerol

En las guayabas de la figura anterior se puede observar que la superficie de recubrimiento es mayor a la de la concentración de 0.3 % y se logra una homogeneidad superior.

En la figura 17 se muestran las guayabas recubiertas con goma xantana a una concentración de 0.5 % con 0.5 % de glicerol.

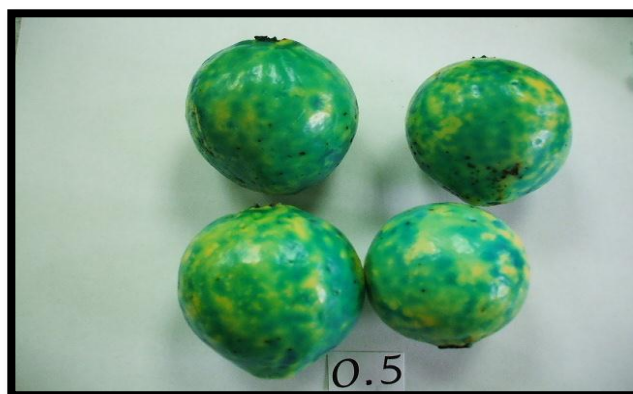


Figura 17. Guayabas recubiertas con goma xantana a 0.5 %, 20 °C y 0.5 % de glicerol

En esta figura se puede visualizar que la superficie de recubrimiento es mayor que en todas las concentraciones anteriores, sin embargo esta concentración es considerada como en exceso de recubrimiento. Además de que con la concentración de 0.4 % se podrían reducir los costos a nivel industrial.

En general se pudo observar a través de las figuras anteriores, que los recubrimientos a base de goma xantana pueden formar películas alrededor de la guayaba con buena cohesión, siendo capaces de revestir toda la fruta a las concentraciones de 0.4 y 0.5 %; sin embargo, en baja concentración (0.3 %) no forman una película capaz de regular el intercambio gaseoso de forma homogénea.

De acuerdo a los resultados obtenidos durante las actividades del objetivo particular 1, se eligió la concentración de 0.4 % ya que aunque existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre la concentración de 0.4 % y 0.5 % en cuanto a la superficie recubierta, con la concentración de 0.4 se consiguió mayor homogeneidad del recubrimiento (sin plastificante) como se muestra en las figuras 12 y 15.

Otro aspecto importante dentro de esta actividad es la elección de la temperatura la cual fue de 10° C, ya que aunque no existe diferencia significativa al recubrirlas a 10 y 20 °C, las guayabas a la temperatura inferior (10 °C),... además de obtener una mayor superficie de recubrimiento, antes del almacenamiento a nivel industrial, se recomienda pre-enfriarlas para retirar el “calor de campo”, para así reducir la respiración del fruto y disminuir los costos de energía.

3.3 Resultados del objetivo particular 2

Para el cumplimiento del objetivo 2 donde se efectuó el almacenamiento de las guayabas, se realizó la selección, desinfección, el pre-enfriamiento de las guayabas desde la temperatura ambiente (20 °C aprox.) hasta la temperatura de 10 °C elegida según el análisis de los resultados del objetivo anterior, sumergiéndolas en agua destilada a una temperatura de 0 °C y por último se realizó el recubrimiento de las guayabas.

3.3.1 Pruebas Físicas

3.3.1.1 Resultados de la determinación del porcentaje de pérdida de peso en guayabas recubiertas

Para conocer la funcionalidad del recubrimiento de guayabas a diferentes concentraciones de NLS sobre la pérdida de peso se realizó una gráfica (figura 18) del porcentaje de pérdida de peso en relación al número de días que permaneció almacenada.

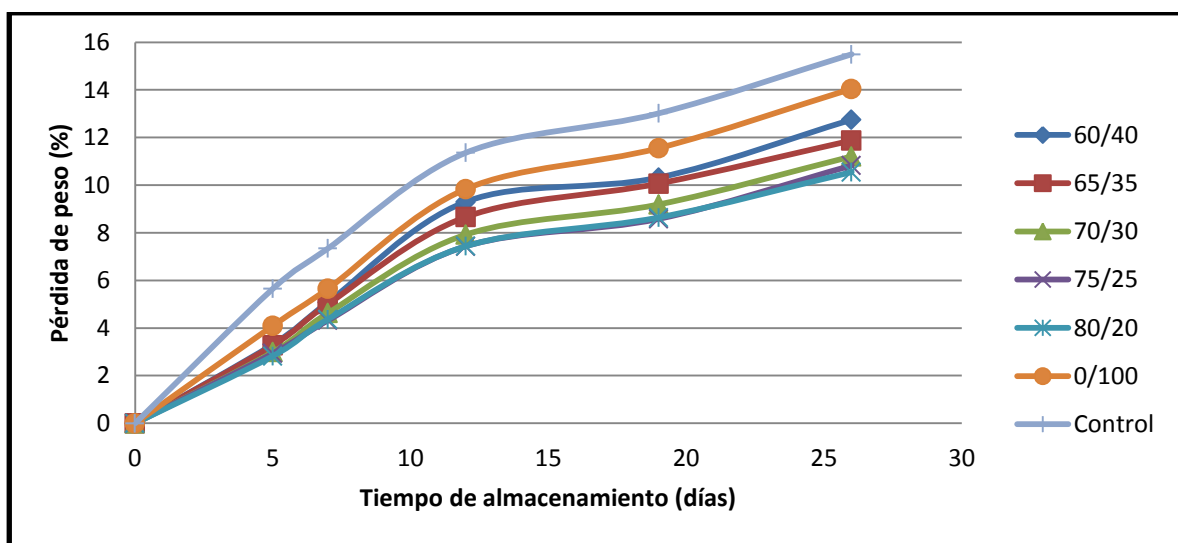


Figura 18. Pérdida de peso en guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas en refrigeración

En la figura 18 se puede observar que durante los primeros 13 días de almacenamiento se presenta la mayor velocidad de pérdida de peso, además de que las guayabas que tuvieron mayor pérdida de masa fueron las guayabas control (sin recubrimiento), seguidas de las que estaban recubiertas solo con goma xantana, también se puede apreciar que en las relaciones 65/35, 70/30, 75/25 y 80/20, existe diferencia significativa con respecto a las guayabas control ($P \leq 0,05$), y que a mayor concentración de NLS la pérdida de masa disminuye.

Según Kester y Fennema (1988), los recubrimientos de polisacáridos y proteicos, debido a su naturaleza hidrofílica, forman una barrera poco efectiva al agua. Era esperado que los recubrimientos con mayor cantidad de NLS (con características hidrofóbicas) presentaran mayor interferencia a la deshidratación de los frutos y por lo tanto menor pérdida de peso.

La pérdida de peso debe ser estudiada en conjunto con otras características para la evaluación del proceso de maduración, pues la barrera de salida de agua también puede impedir la salida de gases, bloqueando con eso el proceso de maduración y conduciendo la anaerobiosis en las frutas (Banks *et al.*, 1993).

3.3.1.2 Resultados de la determinación de color en guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas en refrigeración

El color de la cáscara se expresa de acuerdo al ángulo de color ($^{\circ}$ Hue) el cual constituye una medida objetiva para expresar de modo significativo las diferencias en la coloración de la cáscara del fruto permitiendo una visualización precisa del cambio del color verde al color amarillo; donde 180° representa un color totalmente verde y 90° un color totalmente amarillo. Los principales procesos involucrados en la pérdida de coloración verde durante el almacenamiento son la degradación de la clorofila y la síntesis de caroteno, siendo este parámetro uno de los principales criterios para juzgar la maduración de frutas y hortalizas (Cross, 1987).

En la figura 19 se presentan los resultados de la determinación de color en las guayabas recubiertas con NLS/xantana durante 26 días de almacenamiento refrigerado.

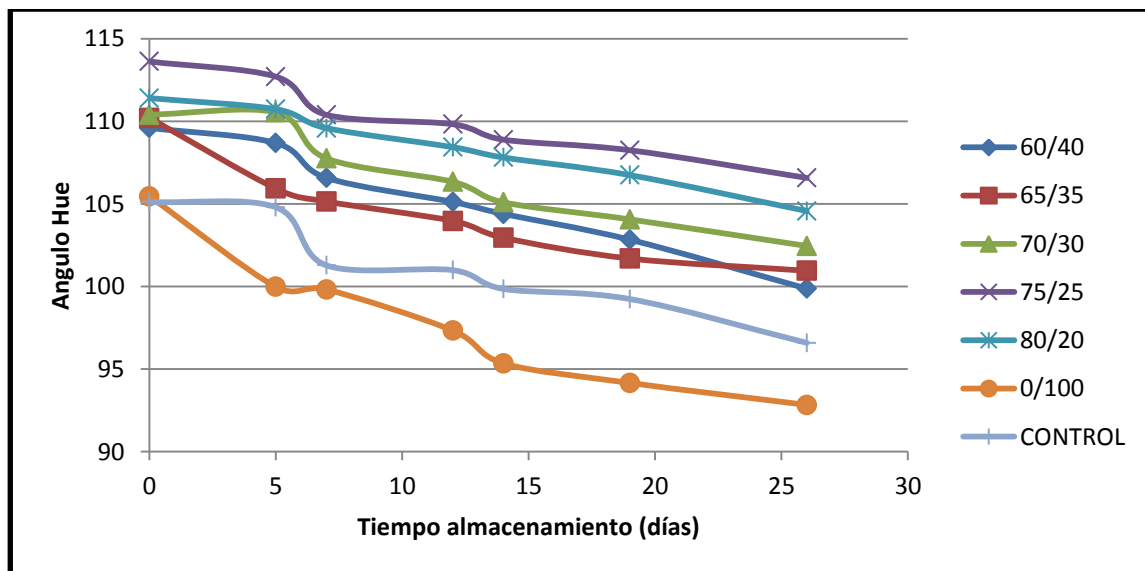


Figura 19. Variación del ángulo Hue en guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas en refrigeración

La figura anterior muestra que las guayabas recubiertas solo con goma xantana (0/100) fueron las que tuvieron mayor variación en el ángulo Hue; por lo cual se cree que la aplicación de recubrimiento solo con goma xantana aceleró la maduración de la fruta; seguidas de las guayabas control (sin recubrimiento).

Los tratamientos con las relaciones de 70/30, 65/35 y 60/40 % (NLS/goma xantana) retienen el color de la cáscara hasta el décimo tercer día de almacenamiento manteniéndola en valores semejantes a los de las guayabas al inicio del almacenamiento (110 ± 5); sin embargo los frutos tratados con las relaciones 75/25 y 80/30 presentaron poca diferencia del color durante todo el almacenamiento.

En general, las guayabas tratadas con los recubrimientos comestibles de NLS/goma xantana existe diferencia significativa ($P \leq 0,05$) con respecto a las guayabas control, resultando así que el recubrimiento si tiene influencia sobre el retraso de cambio del color verde al color amarillo.

Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Mercado-Silva *et al.* (1998), que considera el color de la cáscara como el mejor índice en la determinación del estado de madurez de la guayaba “Media China”.

3.3.1.3 Resultados de la determinación de la variación de textura en guayaba recubiertas con goma xantana/ NLS almacenadas en refrigeración

Otro de los cambios que sufre la guayaba durante su almacenamiento son los cambios en la firmeza. A medida que va alcanzando su madurez fisiológica y organoléptica, la fruta se va ablandando. Esta pérdida de firmeza durante el almacenamiento de las guayabas puede ser acreditada a las actividades de las enzimas hidrolíticas, como son la poligalacturonasa y pectinametilesterasa, que promueven intensa solubilización de las pectinas constituyentes de la pared celular (Tucker, 1993). Este ablandamiento puede valorarse cualitativamente, presionando con el dedo pulgar, pero también puede medirse cuantitativamente, obteniendo una expresión numérica de la consistencia mediante un texturómetro (Wills *et al.*, 1998).

En la figura 20 se muestra la variación de la textura en guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas a 8 ± 2 °C. Al inicio del almacenamiento las guayabas presentaron una firmeza inicial promedio de 18 N.

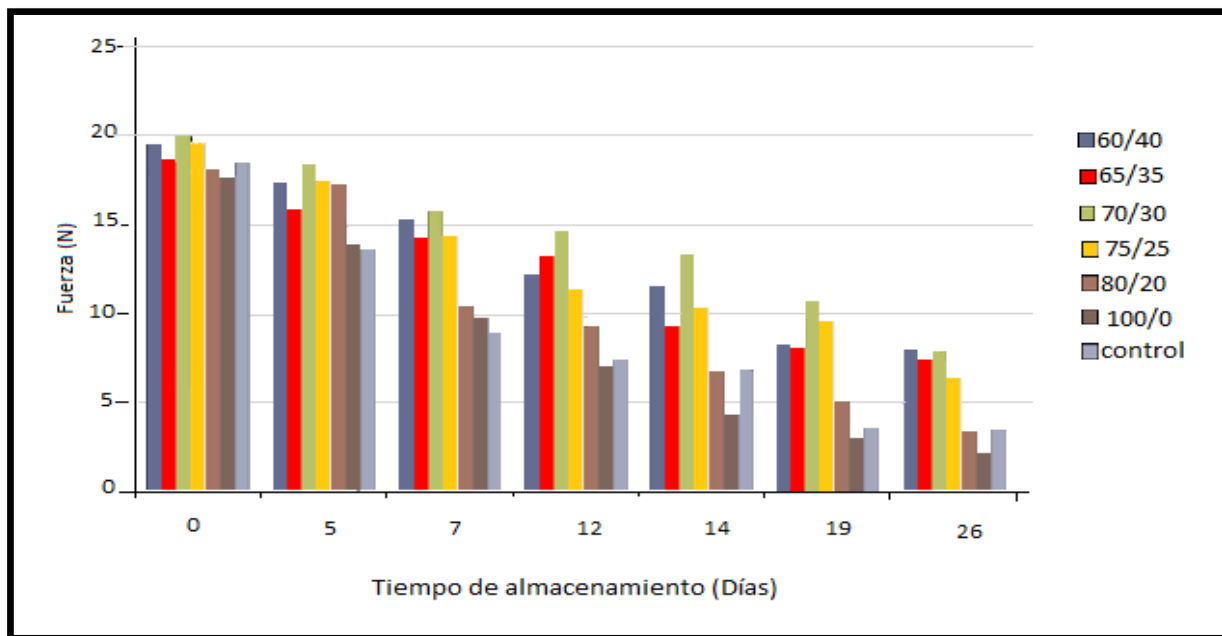


Figura 20. Variación de textura de guayabas recubiertas con goma xantana/ NLS almacenadas en refrigeración

En la figura 20 se puede mostrar que en el día 5 las guayabas control y las recubiertas con goma xantana perdieron la firmeza rápidamente; las guayabas con la concentración de 80/20 en el día 7 las guayabas comenzaron a perder su firmeza. Las guayabas con la concentración de 65 %, mantuvieron una firmeza aceptable durante el almacenamiento,

Al final del almacenamiento (26 días) las guayabas recubiertas con las concentraciones de 70/30 y 75/25 fueron las que conservaron mejor su firmeza; mientras que la concentración de 80% NLS no presenta diferencia significativa con respecto a las guayabas control. También se puede observar que las guayabas recubiertas con 100% goma xantana fueron las que perdieron más rápidamente su firmeza con respecto al resto de las guayabas.

3.3.2 Pruebas Químicas

3.3.2.1 Resultados de los cambios en los sólidos solubles (°Brix) de guayabas recubiertas con goma xantana/NLS durante su almacenamiento en refrigeración.

Otro parámetro evaluado importante de la calidad de los frutos de guayabas fue el contenido de sólidos solubles. El valor de los sólidos solubles es utilizado como una medida indirecta del valor de los azúcares, pues otras sustancias también se encuentran disueltas tales como vitaminas, compuestos fenólicos, pectinas, ácidos orgánicos, en tanto los azúcares representan 85 a 90% de los sólidos solubles (Chitarra y Chitarra, 2005). En guayaba el principal azúcar es la fructosa. El aumento en el valor de los sólidos solubles puede ser debido a la conversión de polisacáridos de la pared celular en azúcares solubles (Chitarra y Chitarra, 1990); sin embargo la magnitud del aumento depende de la variedad (Flores, 2000).

En la figura 21 se presentan los cambios en los sólidos solubles de guayabas recubiertas con goma xantana/ NLS almacenadas a 8 ± 2 °C.

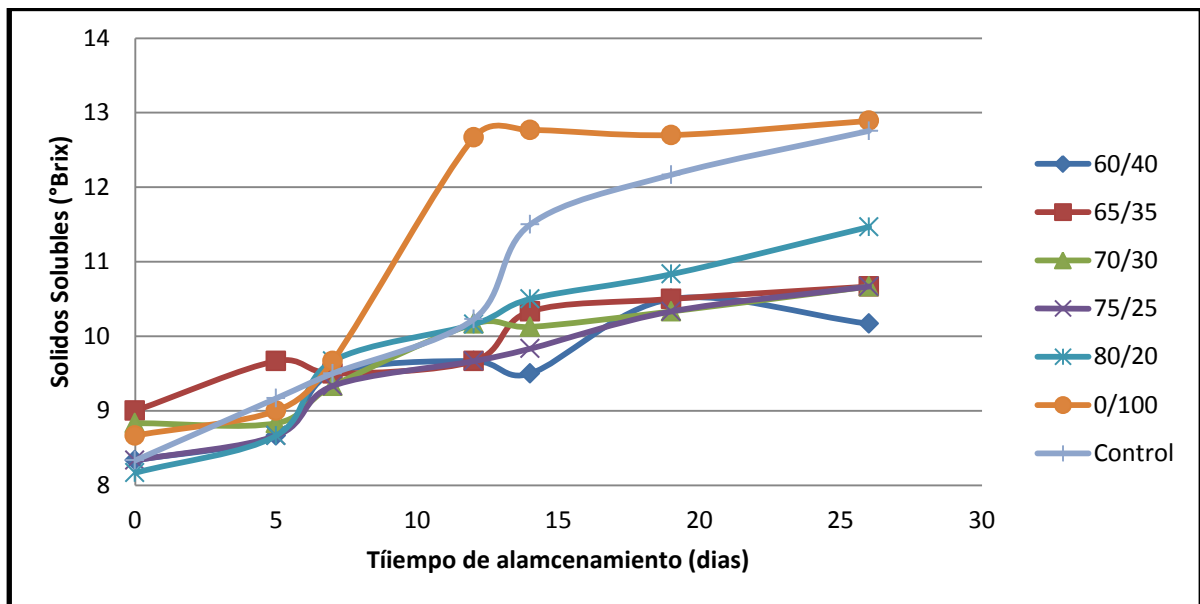


Figura 21. Cambios en sólidos solubles en guayabas almacenadas en refrigeración

En la figura 21 se observan que las guayabas presentaron un valor promedio de 8.7 °Bx al inicio del almacenamiento; a lo largo del almacenamiento las guayabas con la concentración de 100% goma xantana (0/100) y las guayabas control fueron las que alcanzaron un valor mayor del contenido de sólidos solubles (11.9 y 12.35 °Bx respectivamente). Este cambio en los valores de sólidos solubles se aprecia con respecto a las demás concentraciones a partir del día 13. También se puede apreciar que en las concentraciones: 60/40, 65/35, 70/30 y 75/25 alcanzaron un valor alrededor de 10.62 °Bx encontrando que no presentan diferencia estadística ($p \leq 0.05$); no obstante, sí representan diferencia significativa con respecto a las guayabas control y las recubiertas con goma xantana.

Además se puede observar que en la concentración de 80/20 la variación de sólidos solubles fue muy poca con respecto a las demás concentraciones (de 8.7 a 9.8 °Bx), lo cual provocó daños fisiológicos en el fruto, impidiendo que se desarrollara de manera normal.

3.3.2.2 Resultados de los cambios en la acidez de guayabas recubiertas con goma xantana/ NLS durante su almacenamiento en refrigeración

Otro parámetro evaluado fue la acidez, característica relacionada con el sabor de los frutos. La acidez titulable en productos hortícolas es atribuida, principalmente, a los ácidos orgánicos que se encuentran disueltos en los vacúolos de las células, tanto en forma libre, como combinada, como son ésteres y glucósidos. El valor de ácidos orgánicos, con pocas excepciones, disminuye con la maduración de las frutas, en recurrencia de su uso como sustrato en el proceso respiratorio o de su conversión en azúcares (Chitarra y Chitarra, 2005).

En la figura 22 se muestra los cambios en la acidez de guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas a $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

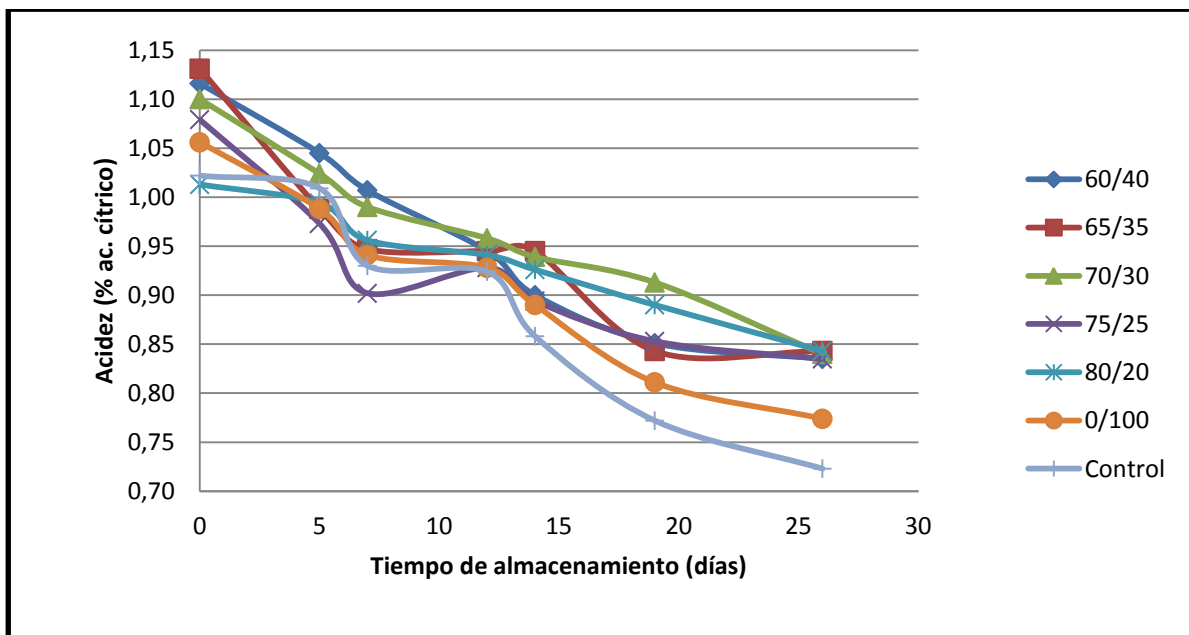


Figura 21. Cambios en acidez de guayabas recubiertas con goma xantana/NLS almacenadas a $8\pm 2^{\circ}\text{C}$

En la figura 22 se puede observar que al inicio del almacenamiento las guayabas presentaron un porcentaje de acidez media de 1.07 %, en general las muestras sufren un descenso durante el almacenamiento llegando hasta 0.84% para las guayabas recubiertas con goma xantana/NLS, y de 0.72 % para las guayabas control y 0.77 % las cubiertas con xantana. Los recubrimientos comestibles no influenciaron de forma significativa ($p\leq 0.05$) el comportamiento de ésta variable.

De acuerdo a los resultados obtenidos durante este objetivo, se puede mencionar que los recubrimientos comestibles de NLS y goma xantana como matriz con una relación de 70/30 % en relación al peso seco fueron los que conservaron las guayabas con características deseables durante los 26 días de almacenamiento, ya que lograron disminuir la pérdida de peso un 11.2 %, obtuvieron una variación en el ángulo Hue de 110 a 102, mantuvieron una firmeza aceptable hasta el último día de almacenamiento, aunque fue muy poca la variación, lograron un mayor variación de °Brix que el resto de las concentraciones de NLS, además de que disminuyeron la acidez de 1.1 a 0.85 %, lo cual indica que esta concentración logro regular de manera efectiva la respiración del fruto.

CONCLUSIONES

- A partir de toda la información obtenida en este proyecto se puede concluir que las guayabas frescas pueden conservarse de forma adecuada durante más de 26 días mediante el uso combinado de baja temperatura y recubrimientos comestibles elaborados con goma xantana y NLS, los cuales permitieron retrasar de manera efectiva los procesos de pérdida de calidad del fruto.
- La temperatura de enfriamiento de la guayaba tiene poco efecto sobre el área de recubrimiento; sin embargo la temperatura de 10 °C permitió obtener mayor área de recubrimiento con respecto a la temperatura de 20 °C; el uso de glicerol (0.5 %) como plastificante permitió dar mayor flexibilidad al recubrimiento, permitiendo tener un recubrimiento más homogéneo.
- Los recubrimientos comestibles de goma xantana y NLS con glicerol como plastificante fueron capaces de funcionar como una barrera semipermeable al intercambio de gases con el ambiente y al aumentar la concentración de NLS el fruto presentó una pérdida de masa en límites aceptables para la comercialización durante los 26 días de almacenamiento refrigerado, a una temperatura de 8 ± 2 °C con una humedad relativa de 80 ± 10 %; manteniendo una alta firmeza hasta el final del almacenamiento.
- Se logró retardar el cambio de color de verde a amarillo, además de tener valores de sólidos solubles por debajo de las guayabas control y mantenerse una mayor acidez; sin embargo, en la mayor concentración de NLS (80/20) las guayabas presentaron cambios asociados a la pérdida de calidad y daños fisiológicos debidos al efecto del recubrimiento.
- Los recubrimientos con la concentración de 70 % NLS fueron los más efectivos para preservar por más tiempo los parámetros de calidad de la guayaba.
- A partir de estos resultados se propone el uso de NLS en recubrimientos comestibles con base en goma xantana con las relaciones (p/p) de 70/30 % y 75/25 % y glicerol al 0.5 % sobre frutos de guayaba durante un almacenamiento a 8 ± 2 °C y 80 ± 10 % de humedad relativa.

El impacto que ofrece este proyecto a nivel industrial es que se pueden reducir las pérdidas de producto debidas al manejo mecánico durante el almacenamiento y comercialización, ya que además de servir como una barrera semipermeable a los gases internos y de la atmósfera, disminuye en gran medida las pérdidas por deshidratación, las lesiones en el fruto por rozamiento y funciona como crio-protector alargando así la vida útil del producto.

El uso de recubrimientos comestibles también puede disminuir la utilización de envases plásticos difíciles de degradar, siendo estos amigables con el ambiente.

RECOMENDACIONES

En base a los resultados en el presente trabajo se recomienda en experimentaciones posteriores:

- Determinar los parámetros de calidad de la guayaba recubierta con goma xantana y NLS a temperatura ambiente y compararlos con los obtenidos en refrigeración.
- Determinar si los frutos de guayaba recubiertos con goma xantana y NLS continúan con la maduración normal después del almacenamiento refrigerado a temperatura ambiente.
- Evaluar diferentes materiales de envases biodegradables que en combinación con los recubrimientos comestibles reduzcan aún más la pérdida de peso para alargar la vida útil guayaba.
- Evaluar el efecto de la adición de antioxidantes y antimicrobianos que permitan conservarlas y de esta manera tener mejores resultados.
- Determinar la permeabilidad del recubrimiento *in vitro*, para poder ser aplicado a otros frutos que requieren diferentes permeabilidades.
- Estudiar el efecto de los recubrimientos comestibles a base de goma xantana y NLS en la biosíntesis de enzimas relacionadas con la maduración de la guayaba como son: polifenol oxidasa, peroxidasa, pectinesterasa, poligalacturonasa y celulasa.
- Evaluar otros tratamientos postcosecha como: tratamientos con calcio, atmósferas controladas (AC), atmósferas modificadas (AM), que combinados con el uso de este tipo de recubrimientos comestibles permitan mejorar la comercialización de la guayaba.
- Impulsar el mejoramiento de los recubrimientos a base de goma xantana y NLS para su aplicación sobre frutos mínimamente procesados.
- Durante la experimentación se observó que si los frutos de guayaba recubiertos se humedecían, la superficie de la guayaba tomaba un color blanco, en base a ésta observación se recomienda el uso de otras ceras con las cuales se puedan realizar nanopartículas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADSULE, R.N.; Kadam, S.S.; Salunkhe, D.K. (1995). Guava in: Handbook of fruit science and technology, production composition, storage and processing. New York, 9: 419-433.
- AKAMINE, E.K. y Goo, T. (1979). Respiration and ethylene production during ontogeny of fruit. *Journal of American Society for Horticultural Science*, 98: 381- 383.
- AOAC (1990). Official methods of analysis of the association analytical chemists AOAC, Food composition; additives; natural contaminants. Publicado por: The Association of Official Analytical Chemists, Inc. Arlington, Virginia, USA 15^a edición, 2: 1298.
- AWAD, T.S.; Helgason, T.; Kristbergsson, K.; Decker, E.A.; Weiss, J.; McClements, D.J. (2008). Effect of Cooling and Heating Rates on Polymorphic Transformations and Gelation of Tripalmitin Solid Lipid Nanoparticle (SLN) Suspensions. *Food Biophysics*, 3: 155–162.
- AZZOLINI, M. (2002). Fisiología pos- colheita de goiabas 'Pedro Sato': Estadios de maduracao e padrao respiratorio. Tesis de maestria, Escuela Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz', Universidad de Sao Paulo, Brasil. 112 pp.
- AZZOLINI, M.; Jacomino, A.P.; Urbano, B.I. (2004). Indices to evaluate postharvest quality of guavas under different maturation stages. *Escuela Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz'. Pesq. Agropec, Brasil, Brasília*, 39 (2): 139-145.
- AZZOLINI, M.; Jacomino A.P.; Urbano, B.I. (2005). Ripening of "Pedro Sato" guava: study on its climateric or non –climateric nature. *Journal Plant Physiology.*, Brasil, 17 (3): 299-306.
- BADUI, D.S. (2006). Química de los alimentos. 4^a edición, Pearson Educación, México, 716p.
- BANKS, N.H.; Dadzie, B.K.; Cleland, J. (1993). Reducing gas exchange of fruits with surface coatings. *Postharvest Biology and Tecnology*, Amsterdam, 35: 269-284.
- BOSQUEZ-MOLINA, I.; Guerrero-Legarreta, E.J.; Vernon-Carter (2003). Moisture barrier properties and morphology of mesquite gum–Candelilla wax based edible emulsion coatings. *Food Research International*, 36: 885–893.
- BROWN, B.I. y Wills, R.B. (1983). Postharvest changes in guava fruit of different maturity. *Scientia Horticulturae*, 19: 237-243.
- CARVALHO, V.D. (1994). Calidad y conservación postcosecha de guayaba. Informe Agropecuario, Belo Horizonte, 17 (179): 48-54.

- CASTILLO, Valero. y Serrano, (2008). Use of alginate or zein as edible coatings to delay postharvest ripening process and to maintain tomato (*Solanum lycopersicon* Mill) quality. *Journal Science of Food Agriculture*, 88:1287–1293.
- CAVALLI, R.; Caputo, O.; Carlotti, M.E.; Trotta, M.; Scarnecchia, C.; Gasco, M.R. (1997). Sterilization and freeze-drying of drug-free and drug-loaded solid lipid nanoparticles, *Int. Journal Pharm.*, 148: 47–54.
- CAVALLI, R.; Caputo, O.; Gasco, M.R. (2000). Preparation and characterization of solid lipid nanospheres containing paclitaxel. *European Journal Pharm. Science*, 10: 305–309.
- CEBALLOS, F.M.E. (1978). La guayaba: algunos aspectos bioquímicos y microbiológicos, durante su cultivo y preservación. Tesis, UNAM.
- CHAN Jr., H. T. y Kwok, S. C. M. (1976). Identification and determination of sugars in some tropical fruit products. *Journal of Food Science*. Chicago, 40 (2): 419-420.
- CHEN, S.; Nussinovitch, A. (2000). The role of xanthan gum in tradicional coatings of easy peelers. *Food Hydrocolloids*, 14: 319-326.
- CHITARRA, M.I.F. y Chitarra, A.B. (1990). Postcosecha de frutos y hortalizas: Fisiología y manejo. ESAL/ FAEPE. Brasil, 320p.
- CHITARRA, M.I.F. y Chitarra, A.B. (2005). Postcosecha de frutos y hortalizas: Fisiología y manejo 2. Ed. UFLA. Brasil, 785p.
- CROSS, J. (1987) *Pigments in fruit.* London: Academic., 303p.
- DEBEAUFORT, F.; Quezada, J.A.; Voilley, G. (1998). Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. *Crit. Rev. Food Science*, 38: 299-313.
- DHILLON, B.S.; Singh, S.N.; Kudai, G.S.; Minhas, P.P.S. (1987). Studies on the developmental physiology of guava fruit (*Psidium guajava* L.) II: biochemical characters. *Punjab Horticultural Journal*, Patiala, 27 (¾): 212-221.
- EL-BULUK, R.R.E.; Babiker, E.F.E.; El Tinay, A.H. (1997). Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food Chemistry*, Oxford, Chicago, 56 (6): 395-399.
- ESTEVEZ M.T. y Carvalho, V.D. (1982). Modificaciones en los valores de almidón, azúcares y grado de dulzura de frutos de seis cultivares de guayabera (*Psidium guajava* L.) en diferentes estados de maduración. *Ciencia y práctica*, 6 (2): 208- 218.

- ESTEVES, M.T.; Carvalho, V.D.; Chitarra, M.I.F.; Chitarra, A.B.; Paula, M.B. (1984). Caracterización de seis cultivares de guayaberas (*Psidium guajaba* L.) en maduración. I-determinaciones fisicoquímicas. In: Congresso Brasileiro de fruticultura. Florianópolis. Ana is, Florianópolis: SBF, 1: 477-489.
- FLORES-GUTIERREZ, A.A. (2000). Manejo de frutas y hortalizas en Venezuela. 2^a edición, UNELLEZ, Universidad de la Siembra, Venezuela, 224.
- GARCÍA-OCHOA, V.E.; Santos, J.A.; Casas, E.G. (2000). Research review paper: Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances* 18: 549-579.
- GASCO, M.R. (1993). Method for producing solid lipid microspheres having a narrow size distribution. US Patent, USS 188837.
- GERHARD, L.B.A.; Manica, I.; Kilt, H.; Sieler, R.L. (1997). Características físico-químicas de los frutos de cuatro cultivares y tres clones de guayaba en Porto Lucena, RS. *Revista Agropecuaria brasileña*, Brasília, 32 (2): 185-192.
- GONCALVES, R.V.; Simao, A.J.; Freitas, S.F.; Ximenes, S.P.; Pereira, V.P. (2005). Storage of guavas 'Paluma' under refrigeration and at enviromental conditions, with coated and uncoated fruits with carnauba wax. *Revista Brasileira, Jaboticabal-SP*. 27 (2): 203-206.
- GUTIERREZ, E. C. (2005). Potencial técnica de emulsificación- difusión en la elaboración de nano cápsulas lipídicas. Tesis de Licenciatura (QFB). UNAM. FES-Cuautitlán. 85pp.
- HAN, C.; Zhao, Y.; Leonard, S.W.; Traber, M.G. (2004). Edible coatings to improve stability and enhance nutritional value of fresh and frozen strawberries (*Fragaria ananassa*) and raspberries (*Rubus ideaus*). *Postharvest Biology and Technology*, 33: 67–78.
- HEIATI, H.; Tawashi, R.; Shievers, R.R.; Phillips, N.C. (1997). Solid lipid nanoparticles as drug carriers I. Incorporation and retention of the lipophilic prodrug 3'-azido-3'-deoxythymidine palmitate. *Int. J. Pharm.* 146: 123-131.
- HU, F.Q.; Yuan, H. Zhang, H.H. Fang, M. (2002). Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization. *Int. J. Pharm.* 239: 121–128.
- Instituto Nacional de Nutrición (1992). Valor nutritivo de los alimentos de mayor consumo en México. 20-22pp.
- JACOMINO, A.P.; Ojeda, R.M.; Kluge, R.A.; Scarpate, F.J.A. (2003). Conservación de guayabas tratadas con emulsiones de cera de carnauba. *Revista brasileira de Fruticultura, Jaboticabal*, 25 (3): 401-405.

- KESTER, J.J. y Fennema, O. (1986). Edible films and coatings: a review. *Food Technology* 40: 47-59.
- KHUYEN, T.H.; Singh, D.Z.; Ewald, E. (2008). Edible Coatings influence Fruit ripening, Quality, and aroma Biosynthesis in Mando Fruit. *Agriculture Food Chemistry*, 56: 1361-1370.
- LEE, J.Y.; Park, H.J.; Lee, C.Y.; Choi, W.Y. (2003). Extending shelflife of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36, 323–329.
- LEROUX, J.C.; Allémann, E.; Doelker, E.; Gurny, R. (1995). New approach for the preparation of nanoparticles by an emulsification-diffusion method. *Eur. J. Pharm.* 4 (1): 14-18.
- LEROUX, J.C.; Cozens, R.; Roesel, J.L.; Galli, B.; Kubel, F.; Doelker, E.; Gurny, R. (1995b). Pharmacokinetics of a novel protease inhibitor incorporated into biodegradable or enteric nanoparticles following intravenous and oral administration to mice. *Pharmaceutical Science*, 84 (12): 1397-1391.
- LIN, D. y Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Compr. Rev. Food Science, Food Safety* 6: 60–75.
- MANICA, I.; Icuma, I.M.; Junqueira, N.T.V.; Salvador, J.O.; Moreira, A.; Malavolta, E. (2000). *Fruticultura tropical: goiaba*. Porto Alegre: Cinco Continentes. 373p.
- MARTÍN-BELLOSO, O.; Soliva-Fortuny, R.C.; Baldwin, E. (2005) Conservación mediante recubrimientos comestibles. En: *Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados*. G. González-Aguilar, A. Gardea, F. Cuamea-Navarro (eds.). pp. 341-356. México: CIAD.
- MATA, B.I. y Rodriguez, M.A. (1990). *Cultivo y producción del guayabo*. Ed.Trillas, |México, pp. 139.
- McGUIRE, R.G. (1997). Market quality of guavas after hot-water quarantine treatment and application of Carnauba wax coating. *Hortscience*, 32: 271- 274.
- MEHNERT, W. y Mader, K. (2001). Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* 47: 165–196.
- MERCADO-SILVA; Bautista-Belloso; García-Velasco (1998). Fruit development, harvest index and ripening changes of guavas produced in central Mexico. *Postharvest Biology and Technology*, 13: 143-150.

- MOKADY, S.; Cogan, U.; Lieberman, L. (1984). Stability of vitamin C in fruit and fruit blends. *Journal of the Science of Food and agriculture*, Hoboken, 35: 452-456.
- NAVARRO-TARAZAGA M.L.; Del Río, A.M.; Krochta, M. J.; Pérez, G. B. M. (2008). Fatty Acid Effect on Hydroxypropyl Methylcellulose-Beeswax Edible Film Properties and Postharvest Quality of Coated ‘Ortanique’ Mandarins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 56: 22.
- NULTSCH, W. (2000). *Botánica General*. Trad. de P.L. de Oliveira, Porto Alegre: Artes Medicas Sur, 489p.
- OLIVAS, G.I.; Barbosa-Cánovas, G.V. (2005). Edible coating for fresh-cut fruit. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45: 657-670.
- OLIVAS, G.I., Barbosa-Cánovas, G.V. (2008). Alginato-calcium films: Water vapor permeability and mechanical properties as affected by plasticizer and relative humidity. 41: 339-36.
- OROZCO, H. E. (2002). Envase y embalaje de alimentos. Propuesta de criterios en la selección de una película comestible en la guayaba para disminuir la velocidad de transpiración. Tesis Licenciatura (I.A.) UNAM F. E. S. Cuautitlán, 15-18p.
- QUINTANAR-GUERRERO, D.; Fessi, H.; All’emann, E.; Doelker, E. (1996). Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly(d,l-lactic acid) nanoparticles by an emulsification–diffusion technique. *Int. J. Pharm.* 143: 133–14.
- QUINTANAR-GUERRERO, D.; All’emann, E.; Doelker, E.; Fessi, H. (1997). Study of the formation mechanism of nanoparticles by the emulsion–diffusion technique. *Colloid Polym. Sci.* 275: 640–647.
- ROJAS-GRAÜ, M.A.; Tapia, M.S.; Martín-Belloso, O. (2006) Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservacion. Tesis doctoral, Universidad de Leida, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agraria, España.
- ROJAS-GRAÜ, M.A.; Soliva-Fortuny, R.; Martín-Belloso, O. (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science and Technology*.
- ROMOJARO, F.; Riquelme, T.P.; Martínez, M.S.; Martínez, P.L.P.; Segura, P.L. (1996) Nuevas técnicas de conservación de frutas y hortalizas: atmósferas modificadas . Editorial Mundi Prensa. Madrid, España.

- SANCHEZ, M.T. (2004). Procesos de conservación postcosecha de productos vegetales, AMV Ediciones, España, 290p.
- SANDOVAL, C.T. (2007). Recobrimentos comestíveis em goiabas 'Kumagai' Tesis de maestria: Universidade de Sao Paulo Escola Superior de agricultura "Luiz de Queiroz". Brazil.
- SCAMPICCHIO, M.; Wang, J.; Blasco, A.J.; Arribas, A.S.; Mannino, S.; Escarpa, A. (2006), Nanoparticle-Based Assays of Antioxidant Activity. *Analytical Chemistry*, 78: 2060-2063.
- SCHWARTZ, C., Mehenert, W., Lucks, J.S., Müller, R.H. (1992). "Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery". I. Production, characterization and sterilization. *Int. J. Pharm.* 88, 53–56.
- SEYMOR, G.B.; Taylor, J. E.; Tucker, G. A. (1993). *Biochemistry of fruit ripening*. London: Chapman and Hall, 454p.
- Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON)-SAGARPA, (2007). México, D.F. (fecha de consulta 2009).
- SOARES, F. D.; Pereira, T., Maio, M. O., Monteiro, A. R. (2007). Volatil and non-volatil chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajaba*) at different stages of maturity. *Food chemistry* 100: 15-21.
- TAMAYO, E.D. (2004). Preparación de dispersiones lipídicas de talla submicrónica por medio del método de emulsificación difusión. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas, UNAM.
- TROTTA, M.; Debernardi, F.; Caputo, O. (2003). Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification–diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics* 257: 153–160
- TUCKER, G.A. (1993), *Biochemistry of fruit ripening*. London: Chapman and Hall. 2: 51.
- URBANO, B.I.; Vasconcelos, R.R.; Cavalini, F.C.; Jacomino, A.P. (2005). Temperature-related changes in respiration and Q10 coefficient of Guava. *Centro APTA de Ingeniería y Automatización, Science Agriculture, Piracicaba, Brasil*, 62 (5): 458-463.
- U.S Pharmacopeia (2000). *The Official Compendia of. Standards*. National formulary. Unites States Pharmacopeia Convention, INC.

- VAZQUEZ-OCHOA, R.I. y Colinas-León, M.T. (1990) Changes in guavas of three maturity stages in response to temperature and relative humidity. Horticultural Science, Alexandría, 25 (1): 86-87.
- WATADA, E.A.; Herner, R.C.; Kader, A.A.; Romaní, R.I.; Staby, G.L. (1984). Terminology for the description of developmental stages of horticultural crops. Horticultural Science, 19: 20-21.
- WILLS, R.; McGlasson, B.; Graham, D.; Joyce, D. (1998). Introducción a la fisiología y manipulación postcosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales. Trad. De J. B. Gonzáles. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 240p.
- <http://www.fda.gov/> (2009).
- <http://www.multiceras.com/candeuba>, Instituto de Candelilla (2008).