



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**Efecto de la aplicación de recubrimientos de
nanoemulsión-mucílago de nopal sobre la actividad
enzimática de manzana fresca cortada.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ANGÉLICA CISNEROS MARTÍNEZ

**ASESORA: DRA. ELSA GUTIÉRREZ CORTEZ
COASESORA: C. DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO
ZARAGOZA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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

FACULTAD DE ESTUDIOS
 DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES
 ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO
 DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN
 PRESENTE

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

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: TESIS
Efecto de la aplicación de recubrimientos de nanoemulsión-mucílago de nopal sobre la actividad enzimática de manzana fresca cortada

Que presenta la pasante: Angélica Cisneros Martínez
 Con número de cuenta: 30470964-9 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 ESPÍRITU"
 Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de Junio de 2012.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Juan Manuel Aceves Hernández	
VOCAL	Dra. Elsa Gutiérrez Cortez	
SECRETARIO	IA. Francisco Javier Moreno López	
1er SUPLENTE	IA. Miriam Álvarez Velasco	
2do SUPLENTE	M. en T. A. Omar Reyes Martínez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).
 HHIA/pm



El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT: IT231511-3 "Nanopartículas en recubrimientos comestibles para la conservación de frutas frescas cortadas", de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la UNAM.



DEDICATORIAS

A mis padres:

Quienes me han dado la vida y me han dado lo mejor que se le puede dar a un hijo: AMOR.

Gracias por todo su cariño, comprensión, apoyo y consejos. Por todos los sacrificios y esfuerzos que han hecho por mí para educarme y formarme. Les agradezco aquellas palabras de aliento que me han dado para poder enfrentar cualquier adversidad.

Por esto y mucho más gracias.

A mi hermana:

Gracias hermanita por todo tu cariño, por todos aquellos momentos felices y tristes, por siempre estar conmigo. Eres para mi esencial en mi vida.

A todos ustedes muchas gracias por estar conmigo en todo momento, porque sin ustedes esto no habría sido posible. LOS QUIERO DEMASIADO.



AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido cumplir una meta más en la vida.

A la UNAM por abrirme sus puertas y permitirme continuar con mi formación profesional.

A mis asesoras de tesis, la Maestra Luz y a la Doctora Elsa, gracias por compartir sus conocimientos conmigo, por toda su ayuda y por guiarme en este último paso, para culminar mi carrera. MUCHAS GRACIAS.

Al Doctor David Quintanar por su apoyo y por permitirme trabajar en su laboratorio.

Un especial agradecimiento a Eri, Made y Tania mis compañeras y amigas desde primer semestre de la carrera, que me han hecho pasar ratos muy agradables, gracias por todo su apoyo y sobre todo por su amistad. Las quiero mucho.

A todos MUCHAS GRACIAS!

RESUMEN

La producción y el consumo de frutos frescos cortados han ido aumentando considerablemente en los últimos años, dada la necesidad de consumo de alimentos naturales. Sin embargo, los frutos durante el pelado y troceado tienen alteraciones como consecuencia de la ruptura celular del tejido, provocando la liberación de enzimas; las polifenoloxidasas que causan el oscurecimiento enzimático y las pectinmetilesterasas que inducen la pérdida de textura. Una reciente alternativa es el uso de recubrimientos a base de nanoemulsiones. Estos recubrimientos permiten distribuir mejor los nutrientes por su tamaño nanométrico, y ayudan a disminuir la actividad enzimática. En este trabajo se evaluó la influencia de recubrimientos aplicándolos en talla micrométrica y nanométrica. Dichos recubrimientos fueron elaborados a base de nanoemulsión-mucílago, nanoemulsión, emulsión y mucílago de nopal con dl- α - tocoferol, en manzanas frescas cortadas variedad *Red Delicious* para su conservación en almacenamiento refrigerado. Para reducir el tamaño de partícula se utilizó un homogeneizador de alta presión a una velocidad de cizalla de 10,000rpm. Posteriormente, las manzanas se cortaron y se sumergieron en los recubrimientos y se refrigeraron a una temperatura recomendada de 4 °C en vasos de poliestireno, durante 22 días. Se determinó a cada tratamiento su textura, actividad pectinmetilesterasa, color, actividad polifenoloxidasa, y pérdida de peso. Los recubrimientos con nanoemulsión y nanoemulsión-mucílago mostraron los mejores resultados respecto al tratamiento control. La actividad polifenoloxidasa en los recubrimientos con nanoemulsión se obtuvo un máximo de 112.23 U/mL al día 13 y de actividad pectinmetilesterasa de 6.58 UPE/mL al día 15, los cuales se relacionaron cualitativamente con la diferencia total de color (ΔE) y la textura. La reducción de la talla de partícula contribuyó a una mejor distribución del antioxidante y una mayor uniformidad del recubrimiento, causando un menor índice de oscurecimiento y una mejor textura, por lo que aumentó la vida útil de las manzanas cortadas.

Palabras clave: actividad enzimática, manzana, recubrimientos, nanoemulsión.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	ii
I. ANTECEDENTES	1
1.1 Generalidades de la manzana	1
1.1.1 Características de la manzana <i>Red Delicious</i>	1
1.1.2 Propiedades nutrimentales	2
1.1.3 Metabolismo de la manzana	5
1.1.4 Conservación de la manzana	5
1.2 Alimentos frescos cortados	7
1.2.1 Problemas en la vida útil en frutos frescos cortados	8
1.2.2 Daños en el fruto por corte o estrés	8
1.2.3 Respiración del fruto	9
1.2.4 Producción de etileno	9
1.2.5 Pérdida de agua	9
1.2.6 Cambios de calidad en frutos frescos cortados	10
1.2.6.1 Cambios de color	13
1.2.6.1.1 Oscurecimiento enzimático	13
1.2.6.1.2 Polifenoloxidasa (PFO)	14
1.2.6.1.3 Mecanismos de acción de la PFO	15
1.2.6.2 Pérdida de textura	17

1.2.6.2.1 Pared celular	18
1.2.6.2.2 Pectinmetilesterasa (PME)	20
1.3 Métodos preventivos	21
1.3.1 Recubrimientos comestibles	23
1.3.2 Propiedades de los recubrimientos comestibles	23
1.3.3 Importancia de los recubrimientos comestibles	24
1.3.4 Composición de los recubrimientos comestibles	25
1.3.4.1 Recubrimientos a base de polisacáridos	25
1.3.4.2 Recubrimientos a base de proteínas	28
1.3.4.3 Recubrimientos a base de lípidos y resinas	29
1.3.4.4 Mezclas de compuestos para recubrimientos	29
1.4 Nanotecnología	30
1.4.1 Nanoemulsión	30
1.4.2 Métodos de preparación de nanoemulsiones	31
1.4.2.1 Método de alta energía	31
1.4.2.2 Método de baja energía	32
1.4.3 Estabilidad de las nanoemulsiones	32
1.4.3.1 Distribución del tamaño de partícula	33
1.4.3.2 Potencial zeta	34
II. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	35
2.1 Problema	35
2.2 Objetivos	35

2.3 Selección de variables y justificación	36
2.4 Desarrollo experimental	38
2.4.1 Material biológico	38
2.4.2 Actividades del objetivo particular 1	39
2.4.2.1 Formación de los recubrimientos	39
2.4.2.2 Tamaño de partícula	41
2.4.2.3 Potencial zeta	41
2.4.3 Actividades del objetivo particular 2	46
2.4.3.1 Pérdida de peso	46
2.4.3.2 Textura	46
2.4.3.3 Determinación de pectinmetilesterasa	47
2.4.4 Actividades del objetivo particular 3	48
2.4.4.1 Color	48
2.4.4.2 Determinación de polifenoloxidasas	50
2.4.5 Tratamiento estadístico	51
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
3.1 Resultados del objetivo particular 1	52
3.1.1 Tamaño de partícula	52
3.1.2 Potencial zeta	53
3.2 Resultados del objetivo particular 2	54
3.2.1 Pérdida de peso	54
3.2.2 Determinación de la textura	57

3.2.3 Actividad pectinmetilesterasa	59
3.3 Resultados del objetivo particular 3	62
3.3.1 Determinación del color	62
3.3.2 Actividad polifenoloxidasasa	64
CONCLUSIONES	69
RECOMENDACIONES	70
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Manzana <i>Red Delicious</i>	2
2. Pérdida de textura y color en manzana <i>Red Delicious</i>	12
2 a. Manzana normal	12
2 b. Pérdida de textura	12
2 c. Oscurecimiento enzimático	12
2 d. Pérdida de textura y oscurecimiento enzimático	12
3. Mecanismo de acción de la polifenoloxidasas	16
4. Componentes de la pared celular vegetal	18
5. Microfibrilla de celulosa	19
6. Recubrimientos comestibles	21
6 a. Recubrimientos en frutas	21
6 b. Recubrimientos en quesos	21
6 c. Recubrimientos en vegetales	21
6 d. Recubrimientos en cárnicos	21
7. Distribución de tamaño de partícula	33
8. Potencial zeta	34
8 a. Iones negativos y positivos	34
8 b. Repulsión de partículas	34

9. Selección de manzana <i>Red Delicious</i>	38
10. a. Ultraturrax	40
10 b. Dispositivo utilizado	40
10 c. Nanoemulsión	40
10 d. Nanoemulsión con mucílago de nopal	40
11. Preparación de emulsión	41
12. Diagrama de bloques de la aplicación de recubrimientos	42
13. Almacenamiento en cámara de refrigeración	45
14. Texturómetro Instron 4411	47
15. Colorímetro Minolta CR-300	49
16. Espectrofotómetro CINTRA-10	51
17. Tamaño de partícula vs porcentaje de volumen	52
18. Pérdida de peso vs días de almacenamiento refrigerado a 4°C	55
19. Gráfica carga vs tiempo de almacenamiento	57
20. Actividad pectinmetilesterasa vs días de almacenamiento	59
21. Textura y Actividad PME vs tiempo	61
22. Color (ΔE) vs días de almacenamiento	63
23. Actividad polifenoloxidasas vs días de almacenamiento	65
24. Índice de oscurecimiento y Actividad PPO vs tiempo	67

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Composición de la manzana	2
2. Contenido de vitaminas en la manzana	3
3. Contenido de minerales en la manzana	4
4. Condiciones de almacenamiento para diferentes frutos	6
5. Principales problemas en frutos frescos cortados	10
6. Enzimas alterantes en los frutos frescos cortados	11
7. Tecnologías alternativas	22
8. Composición química del mucílago	27
9. Factores de variación	37
10. Potencial zeta	54

NOMENCLATURA

Abs	Absorbancia
a*	Coordenada cromática (rojo-verde)
b*	Coordenada cromática (azul-amarillo)
L*	Coordenada cromática (luminosidad)
GRAS	Generally Recognized as safe
HLB	Balance hidrofílico-lipofílico
HR	Humedad relativa
IO	Índice de oscurecimiento
mv	Milivolts
nm	Nanómetros
NE	Nanoemulsión
NE/mucílago	Nanoemulsión-mucílago de nopal
PME	Pectinmetilesterasa
PFO	Polifenoloxidasa
RL	Radicales libres
rpm	Revoluciones por minuto
U	Unidades
UPE	Unidades pectinmetilesterasa
ΔE	Diferencia total de color

INTRODUCCIÓN

El consumo de frutas en la dieta diaria tiene un efecto benéfico para la salud, ya que son una excelente fuente de vitaminas, minerales y fibra además de poseer un bajo contenido calórico. Frutos como la manzana contienen compuestos fenólicos y flavonoides con propiedades que ayudan a la prevención de enfermedades degenerativas (Rojas-Graü et al., 2009; Feliciano et al., 2010; Gonzáles-Portillo et al., 2008).

Los frutos frescos cortados son una buena alternativa para incrementar el consumo de frutas, debido a su consumo inmediato, a su apariencia fresca y a que mantienen sus propiedades naturales. Sin embargo, las operaciones que conllevan estos alimentos muchas veces alteran la integridad de las frutas dando efectos negativos, que causan la pérdida de calidad de estos productos, como el oscurecimiento enzimático y la pérdida de textura, que son resultado de numerosas enzimas principalmente hidrolíticas, como consecuencia al corte del tejido (Menéndez-Aguirre et al., 2006). El oscurecimiento enzimático es causado por la oxidación de compuestos fenólicos por la acción de enzimas polifenoloxidasas, que originan quinonas que a su vez reaccionan con otros compuestos formando melaninas, que causan pigmentos de color oscuro (Villegas-Ochoa et al., 2005; Lu et al., 2007; Pilar-Cano et al., 2010). Otro inconveniente es la pérdida de textura causada por la degradación de sustancias pécticas en la pared celular, catalizadas por enzimas pectinmetilesterasas. (Soliva-Fortuny et al., 2003; Rico et al., 2007)

La aplicación de técnicas que permitan controlar dichos factores alterantes (el oscurecimiento enzimático y la pérdida de textura) para mantener la calidad en frutas frescas cortadas, es actualmente objeto de muchas investigaciones en los que se han aplicado métodos de conservación, tales como; atmósferas modificadas, aplicación de altas temperaturas y recubrimientos comestibles en



unión con la aplicación de inhibidores químicos, los cuales consiguen inactivar los mecanismos no deseados de oxidación y pérdida de textura. En otros estudios se ha demostrado que sustancias como el ácido ascórbico en combinación con sales de calcio previenen el oscurecimiento enzimático y mantiene la firmeza de manzanas frescas cortadas (Rocha et al., 2001; Soliva-Fortuny et al., 2002; Yan et al., 2003), también se ha probado ácido cítrico y antioxidantes naturales como N-acetilcisteína o glutatión y acetato de alfa tocoferol (vitamina E), aplicados en recubrimientos comestibles, los cuales tienen efectos positivos en manzanas cortadas, que adicionalmente fueron almacenados por algún período a temperatura de refrigeración (Rojas-Graü et al., 2008; Mendoza, 2011).

La aplicación de recubrimientos comestibles sobre la superficie del tejido expuesto, es una buena alternativa ya que favorece el control de los procesos respiratorios propios del fruto, controla la deshidratación y permite el transporte de agentes antioxidantes que mejoran la calidad del producto. En general sus propiedades mecánicas de barrera dependen fuertemente de la composición de los recubrimientos, que pueden estar formados por lípidos, proteínas, hidrocoloides o mezclas de dos o más componentes (Olivas et al., 2006; Perez-Gago et al., 2006; Falcão- Rodríguez et al., 2007).

Actualmente, se investigado el uso de diferentes hidrocoloides como mucílagos para la elaboración de recubrimientos comestibles, (Rojas-Graü et al., 2008) Estos contienen ácido ascórbico (Guevara-Figueroa et al., 2010) y altas concentraciones de calcio (Contreras-Padilla et al., 2010) los cuales ayudan a inhibir el oscurecimiento enzimático. El uso del mucílago de nopal ayuda a integrar una gran gama de agentes espesantes; la acción de este polisacárido se debe a su compleja matriz que posee pectinas que confieren propiedades gelificantes (Sáenz et al., 2003). Aprovechando las ventajas de los recubrimientos con mucílagos se han implementado para la formación de emulsiones, ya que se obtienen sistemas más estables por la formación de gotas pequeñas de aceite, además que al



aplicarse un compuesto lipídico provee de una buena barrera al vapor de agua y mejoran sus propiedades (García et al., 2000; Yang et al., 2000;)

Silva et al. (2011) reportó que la industria alimentaria se ha beneficiando con la aplicación de nanotecnología en alimentos, ya que ofrece un alto potencial de mejorar la incorporación de ingredientes funcionales en recubrimientos comestibles. Por otro lado, las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, compuestos por dos líquidos inmiscibles, es por eso que al sistema se le aplica una alta energía para disminuir el tamaño de partícula y formar nanoemulsiones, con el fin de evitar la coalescencia y hacerlos más estables (Weiss et al., 2006; Qian et al., 2010; Quintanilla-Carvajal et al., 2010; Rao et al., 2010).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo es investigar el efecto que ejerce la disminución del tamaño de partícula en recubrimientos comestibles de nanoemulsión con *dl- α -tocoferol* y mucílago de nopal sobre la actividad enzimática de manzanas *Red Delicious* frescas cortadas y almacenadas en refrigeración, de manera que se logre preservar sus atributos originales y extender su vida útil.

I. ANTECEDENTES

1.1 Generalidades de la manzana

La manzana es una fruta crujiente, de pulpa blanca y piel que puede ser roja, amarilla o verde, según su variedad. Tiene un sabor dulce refrescante, con cierta acidez que puede ser más o menos intensa según la variedad de la manzana.

Pertenece a la familia de las Rosáceas, es uno de los frutos más consumidos y cosechados a nivel mundial. En México se cultiva en 23 estados, dentro de los que destaca por su producción la región norte-centro del país, principalmente en los estados de Chihuahua, Durango, Coahuila, Puebla y Zacatecas. Los cultivares principalmente son del tipo “*Delicious*”, como la manzana *Golden Delicious* y *Red Delicious* que son las variedades más cosechadas y consumidas en toda la República mexicana (González-Portillo et al., 2008).

Además, es un fruto que se puede encontrar casi todo el año en excelentes condiciones para su consumo y es recomendada por sus propiedades nutricionales, ya que ayuda a prevenir enfermedades cardiovasculares, crónico-degenerativas y cáncer (McCann et al., 2007).

1.1.1 Características de la manzana *Red Delicious*

Dentro de las numerosas variedades de manzanas podemos encontrar la variedad *Red Delicious*, la cual se muestra en la figura 1. Es un fruto que presenta forma ovoide alargada, de cáscara lisa y brillante de color rojo intenso, de pulpa jugosa, de sabor dulce ligeramente ácido y muy aromático, por lo general tiene una textura crujiente y firme. Su época de cosecha es generalmente en los meses de septiembre a noviembre.

Es un fruto que se conserva muy bien durante su almacenamiento en atmósferas controladas y en temperaturas de refrigeración bajo condiciones óptimas $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ (Mancera-López et al., 2007).

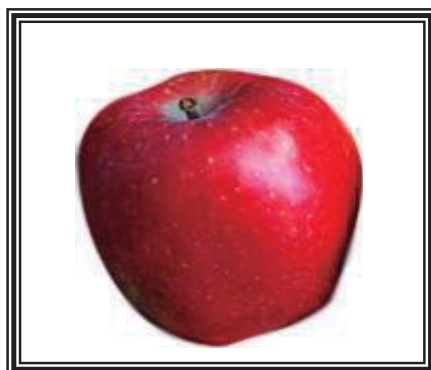


Figura 1. Manzana Red Delicious

1.1.2 Propiedades nutrimentales

Esta variedad de manzana se caracteriza por su alto contenido de antioxidantes, carbohidratos, vitaminas y minerales, además de contener una importante porción de fibra, pectina, fructosa y ácidos málico y tartárico.

En el cuadro 1 se presenta la composición química promedio para la manzana.

Cuadro 1. Composición de la manzana

	Contenido en porcentaje (%)
Humedad	84
Carbohidratos	15
Proteínas	0.3
Grasas	0.4
Fibra	0.3

(Fuente: Lozano, 2006)

En el cuadro se aprecia que la manzana tiene un alto contenido de agua, por lo que resulta ser una fruta muy refrescante. Su sabor dulce se debe al alto contenido de azúcares, la mayor parte lo conforma la fructosa que es seguido en menor cantidad por la glucosa y sacarosa (González-Portillo et al., 2008).

Tiene una buena fuente de fibra dietaria que ayuda al intestino a digerir alimentos. Su función se asocia con la capacidad de retención de agua, el intercambio iónico, la absorción de ácidos biliares, minerales y vitaminas y su interacción con la fibra microbiana. También disminuye los niveles de glucosa, de colesterol y la estabilización del movimiento gástrico (Feliciano et al., 2010).

El contenido de vitaminas presentes por manzana se muestra a continuación:

Cuadro 2. Contenido de vitaminas en la manzana

	Contenido en mg
Vitamina C	6.300
Vitamina B-16	0.057
Vitamina B-12	4.000
Vitamina E	0.250
Vitamina K	3.000
Tiamina	0.023
Riboflavina	0.036
Niacina	0.126

(Fuente: Lozano, 2006)

Como se puede observar en el cuadro 2, la manzana es una fruta muy completa y enriquecedora en la dieta, dentro de las vitaminas presentes destacan la vitamina C, en mayor proporción y la vitamina E en menor cantidad, que son antioxidantes naturales propios de la manzana. Sin embargo, la concentración en la pulpa de vitamina C no es lo suficientemente alta para evitar su oscurecimiento, cuando es retirada su piel o es cortado el fruto porque se expone al oxígeno del medio ambiente y como consecuencia se presentan cambios en la calidad del fruto, no deseables por el consumidor.



Además de las vitaminas, la manzana contiene compuestos fenólicos y flavonoides con propiedades anticancerígenas, antioxidantes, anti-alérgicas, anti-inflamatoria, anti-microbiana, anti-trombótico, cardioprotectivo y con efecto vasodilatador (Samman et al., 1998; Middleton et al., 2000; Puupponen-Pimiä et al., 2001; Manach et al., 2004). Estos efectos benéficos han sido atribuidos a su actividad antioxidante (Heim et al., 2002; Feliciano et al., 2010), que se debe a la habilidad para estabilizar o neutralizar radicales libres, donando átomos de hidrógeno o electrones, y previniendo así el daño oxidativo (Afanas'ev et al., 1989; Amarowicz et al., 2004).

Oboh et al. (2007) señala que los radicales libres (RL) son ya conocidos por que contribuyen a las enfermedades crónico-degenerativas. Los antioxidantes presentes en frutas y vegetales disminuyen el estrés oxidativo causado por los radicales libres y proporcionan así protección.

Adicionalmente, en el cuadro 3 se presenta el contenido promedio de minerales en la manzana.

Cuadro 3. Contenido de minerales en la manzana

	Contenido en (mg/100g)
Calcio	8.00
Hierro	0.17
Magnesio	7.00
Fosforo	15.0
Potasio	148
Sodio	1.00
Zinc	0.06

(Fuente: Lozano, 2006)

Nótese en el cuadro que el contenido de potasio es significativo, siendo un mineral necesario para la transmisión y generación de impulsos nerviosos, para la actividad muscular e interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula, para la acción de la bomba de sodio-potasio.

El contenido de calcio también representa una importante aportación en la dieta mediante el fruto.

1.1.3 Metabolismo de la manzana

Las manzanas están consideradas dentro del grupo de los frutos climatéricos con una actividad respiratoria baja y un pico de producción de etileno durante su maduración. Es por eso que se produce la maduración conforme pasa el tiempo, por lo que es necesario su almacenamiento, después de la recolección, durante el transporte y comercialización del fruto para conservar su vida útil (Villareal, 2009).

A medida que la maduración avanza, se produce un incremento en el contenido de azúcares, en especial fructosa y sacarosa, que es seguido por una disminución del contenido de ácido málico, variaciones de compuestos fenólicos, aminoácidos, así como, un aumento en compuestos volátiles. También se producen modificaciones en su estructura de los componentes de la pared celular por la acción de enzimas. Además de estos cambios ocurre el oscurecimiento de la manzana, producido por efectos enzimáticos (Mancera-López et al., 2007).

1.1.4 Conservación de la manzana

Los procedimientos utilizados para la conservación de manzana se basan en alargar la vida útil y en conservar sus características organolépticas. Las tecnologías que se usan se fundamentan en la disminución de la temperatura y en la modificación de su atmósfera interna (Guerra et al., 2005).

La maduración y el metabolismo que se produce después de su recolección se deben al efecto de la respiración que va teniendo la fruta, la cual depende tanto de la temperatura propia de la fruta como de la temperatura exterior, en la cual se almacena.

La temperatura tiene que ser la apropiada para reducir las reacciones metabólicas causadas por la respiración. Por un lado, si se almacenan a temperaturas muy bajas el producto puede dañarse, y se pueden presentar reacciones como colación incipiente, trayendo como consecuencia un escaldado superficial ablandamiento y oscurecimiento interno (Artés et al., 2003). En cambio, si la temperatura es alta aumenta su respiración y hay una pérdida de consistencia lo que hace que el producto no sea aceptable por el consumidor.

En el cuadro 4, se mencionan algunas de las condiciones de almacenamiento refrigerado recomendadas para diferentes productos, donde es posible resaltar que son diversos los factores que influyen, como la temperatura y las condiciones de humedad relativa a las que se debe almacenar un fruto.

Cuadro 4. Condiciones de almacenamiento para diferentes frutos

Fruta	Temperatura (°C)	Humedad relativa	Vida de anaquel (semanas)
Manzana	-1.0/4.0	90-95	5-52
Durazno	-0.5/0.0	90-95	1-3
Plátano	13/14	90-95	-----
Moras	2/4	90-95	1-5
Higo	-0.5/0.0	85-90	1-2
Uvas	10-15	85-90	6-8
Kiwi	-0.5/0.0	90-95	14-25
Naranja	3-9	85-90	8-12
Pera	-1.5/0.5	90-95	2-7
Piña	7/13	85-90	2-5
Ciruelas	-0.5/0.0	90-95	2-4

(Fuente: Lozano, 2006)

En el cuadro se muestran diferentes condiciones para cada material, tomando siempre en consideración la susceptibilidad al daño por frío que mucho tiene que ver con las condiciones en las que el fruto se desarrolló.

1.2 Alimentos frescos cortados

La producción de alimentos frescos cortados, ha aumentado su importancia y popularidad debido a la tendencia por consumir alimentos más sanos y listos para consumir (McHugh et al., 2000; Lee et al., 2003; Allende et al., 2006).

En la actualidad, el consumidor está demandando productos de alta calidad, que sean de consumo inmediato y que tengan propiedades naturales. En su respuesta a esta demanda las industrias alimentarias ofrecen varias alternativas (Villegas-Ochoa et al., 2005), una de ellas son los alimentos frescos cortados o mínimamente procesados, que bien pueden definirse como cualquier fruta fresca u hortalizas que han sido modificados físicamente de su forma original y han sido sometidos a diferentes procesos de pelado, lavado y cortado, sin alterar su estado fresco y con el fin de obtener productos comestibles que después son empaquetados y almacenados a condiciones específicas para después ser comercializados. A estos alimentos se les da un mayor valor por ser de escasa manipulación en su preparación, por emplear aditivos naturales o la ausencia de los mismos, por la conservación de las características sensoriales propias del alimento fresco y la conservación o potenciación de las propiedades nutricionales y los beneficios que estos tienen para la salud. Algunas de las frutas más empleadas para su procesamiento como alimentos frescos cortados, son: manzana, pera, melón, sandía, cerezas, uvas, kiwi, mango, fresas, naranjas, entre otras (Pilar-Cano et al., 2010; Salinas- Hernández et al., 2007).

Sin embargo, los frutos frescos cortados son sometidos a cambios fisiológicos ya que el cortado provoca que los componentes celulares queden expuestos. Esto causa una serie de reacciones metabólicas que resultan en cambios texturales, (acelerando la madurez, la senescencia y pérdida de agua). También cambios de sabor, color y otros efectos desagradables, dentro de los que se encuentra el riesgo por contaminación microbiológica (Rojas-Graü et al., 2008; Martín-Belloso

et al., 2011). Es por eso que se han utilizado diferentes métodos preventivos, para contrarrestar los efectos que causan los cambios fisiológicos, como son: tratamientos para inactivar enzimas (ejemplo: antioxidantes), atmósferas modificadas, el uso de recubrimientos comestibles y bajas temperaturas de almacenamiento con la finalidad de poder extender la vida útil y la calidad del producto (Soliva-Fortuny et al., 2003; Cortez-Vega et al., 2008).

1.2.1 Problemas en la vida útil en frutos frescos cortados

Los frutos frescos cortados son altamente perecederos y aún almacenados a temperaturas de refrigeración, estos productos se caracterizan por tener un metabolismo muy activo, que es determinante en la pérdida de la calidad (Salinas-Hernández et al., 2007). Los cambios fisiológicos que sufren van de la mano de un aumento en la tasa de respiración y producción de etileno. Se presenta la pérdida de agua, así como una disminución en las propiedades sensoriales, acelerándose los procesos de ablandamiento y oscurecimiento del tejido que conllevan a la disminución de la calidad del producto (Saftner et al., 2005; Oms-Oliu et al., 2008).

1.2.2 Daños en el fruto por corte o estrés

Los frutos frescos cortados tienden a ser más vulnerables debido al daño mecánico al que se someten, ya que sufren modificaciones en su tejido y en la pared celular. Esto produce señales que inducen a una amplia gama de genes cuyos productos están destinados a ayudar a reparar a el fruto, defendiéndolo de la muerte celular y a los cambios fisiológicos que conllevan debido al estrés del corte (Martín-Belloso et al., 2011). Uno de los cambios que se puede observar es el aumento de la respiración del fruto, la producción de etileno y la pérdida de agua ocasionada por el estrés que sufre la pared celular, lo cual conduce un rápido deterioro que determina la calidad del producto (Olivas et al., 2006).

1.2.3 Respiración del fruto

Lee et al. (2003) menciona que la respiración de un fruto es un factor importante, ya que es un indicador del deterioro del fruto durante su crecimiento activo. Los frutos suelen tener altas tasas de respiración, pero cuando estas están maduras sus tasas son relativamente bajas. La tasa de respiración en los frutos frescos cortados se incrementa de 1.2 a 7.0 veces más que uno sin procesar.

Este factor depende del tipo de producto, del estado de madurez y también depende de factores externos como: temperatura, concentración de etileno, daños producidos antes y después de la cosecha, en las operaciones de proceso y por patógenos. Por lo que a una alta tasa de respiración hay una menor vida útil en los productos frescos cortados (Embuscado et al., 2009).

1.2.4 Producción de etileno

El etileno participa activamente en los procesos de desarrollo, maduración, reblandecimiento y senescencia. La producción de etileno puede incrementarse con un cambio de temperatura, daños mecánicos, estrés hídrico y estado de maduración en la cosecha (Rojas Graü et al., 2008; Martín-Belloso et al., 2011). Estos procesos pueden contrarrestarse con una temperatura de almacenamiento adecuada. El etileno producido en un fruto puede inducir la síntesis de enzimas y sustratos que facilita e incrementa las reacciones enzimáticas, que están asociadas con el corte y exposición del tejido vegetal afectando los atributos principales del producto (Salinas-Hernández et al., 2007; Oms-Oliu et al., 2008).

1.2.5 Pérdida de agua

Un problema en los productos frescos cortados, es que tienden a ser más vulnerables a la pérdida de agua, debido a la eliminación de piel y tejidos dañados que favorecen la deshidratación de los frutos. La piel actúa como una barrera que

ayuda a evitar la pérdida de agua. Sin embargo, hay productos más susceptibles que otros, estos pueden deshidratarse o contraerse. Otros son más resistentes como lo son las peras y las manzanas, no obstante, también sufren el efecto de la pérdida de agua y consecuentemente de peso.

Este problema puede reducirse estableciendo las condiciones adecuadas de temperatura de almacenamiento y de humedad relativa (Embuscado et al., 2009).

1.2.6 Cambios de calidad en frutos frescos cortados

Los cambios de calidad se convierten en problemas que limitan la vida útil del fruto. En el cuadro 5 se presentan algunos de los principales.

Cuadro 5. Principales problemas en frutos frescos cortados

Problema	Atributo afectado
Incremento en la actividad metabólica	Sabor, color, vitaminas
Incremento en la actividad de agua	Sabor y textura
Incremento en la actividad enzimática	Color y sabor
Ablandamiento de los productos	Textura
Oxidación de vitamina C	Valor nutricional
Marchitamiento	Apariencia
Susceptibilidad al ataque microbiano	Apariencia
Susceptibilidad a lesiones mecánicas	Apariencia textura

(Fuente: Salinas-Hernández et al., 2007)

A estos cambios de calidad se les relaciona con el proceso de corte y exposición del tejido, que sufren los frutos mínimamente procesados.

La pérdida de nutrientes, como vitaminas, antioxidantes, ácidos grasos y carotenos, es consecuencia de los procesos y manipulación que llevan este tipo

de alimentos y que es afectada por diversos factores como: la luz, el oxígeno y la temperatura (Salinas-Hernández et al., 2007).

Durante el corte y el proceso de los frutos frescos ocurren cambios importantes a nivel enzimático, que hacen que disminuya su calidad y su aspecto no sea agradable para el consumidor, tal y como se muestra en el cuadro 6 en donde se detallan algunos efectos provocados por diferentes enzimas en este tipo de alimentos.

Cuadro 6. Enzimas alterantes en los frutos frescos cortados

Enzima	Efectos	Prevención/control
Cholofilasas Antocianinas	Pérdida de color original del fruto	Alta calidad de materias primas. Variedades adecuadas. Aplicación de procesos de envasado adecuado. Mantener temperaturas adecuadas de refrigeración. Adecuada utilización de agentes que eviten el oscurecimiento.
Polifenoloxidasas	-Oscurecimiento enzimático -Descenso del valor nutritivo -Pérdida de la calidad comercial	
Peroxidasas	-Alteración de sabores y aromas -Oscurecimiento	
Pectinmetilesterasa Poligalacturonasa	-Ablandamiento de tejidos, -Pérdida de firmeza	
Acidoascorbico-oxidasa	Destrucción de vitamina C	

(Fuente: Pérez, 2003)

Las características sensoriales determinan la decisión de compra de frutas mínimamente procesadas por el consumidor. Estos cambios son muy importantes, debido a que la aceptación está dada por las características propias del producto.

Dentro de estas características se ubica: aroma, sabor, textura y color. (Salinas-Hernández et al., 2007)

Algunos de los cambios que se observan en las manzanas frescas cortadas son: la pérdida de textura y oscurecimiento enzimático, (ver figura 2).



Figura 2. Pérdida de textura y color en manzana *Red Delicious*, 2 a) manzana normal, 2 b) pérdida de textura, 2c) oscurecimiento enzimático, 2d) pérdida de textura y oscurecimiento enzimático

1.2.6.1 Cambios de color

El color en los frutos frescos cortados es un factor importante, ya que determina la madurez y la pérdida de calidad del producto, este deterioro tiene un impacto visual que determina la aceptación del consumidor (Villegas-Ochoa et al., 2005).

El color en los frutos varía de acuerdo a diversos factores; en la etapa antes de la cosecha se ve influenciado por la nutrición del fruto, su estacionalidad, condiciones climáticas, humedad, temperatura, tiempo de almacenamiento, mientras que en la etapa después de la cosecha influye mucho la manipulación que se le ha dado a los diferentes frutos. Finalmente, estos cambios de color ocurren debido a un proceso de senescencia, ocasionado por el estrés mecánico que sufre la pared celular del fruto y por el manejo mecánico cuando es procesado como un alimento fresco cortado (Lu et al., 2007).

De igual manera otro factor importante en los cambios de color en las frutas es el oscurecimiento enzimático, siendo evidente su acción cuando el tejido vegetal sufre cortes, golpes, magulladuras u otros daños celulares (Albanese et al., 2007; Pilar-Cano et al., 2010; Flores-Lozano et al., 2010). Estas reacciones son ocasionadas por la acción de la enzima polifenoloxidasas que es la causante del color oscuro en ciertas frutas y vegetales como: peras, manzanas, plátanos, papas, lechuga y otros (Quevedo et al., 2009; Martín-Belloso et al., 2011)

1.2.6.1.1 Oscurecimiento enzimático

El oscurecimiento enzimático está relacionado con la oxidación de compuestos fenólicos (localizados en las vacuolas) en presencia de oxígeno y por acción de la enzima polifenoloxidasas (localizada en el citoplasma). Hay diferentes situaciones que originan el oscurecimiento enzimático: daños fisiológicos, durante la maduración, algunos desordenes durante el almacenamiento y procesos

tecnológicos como los daños ocasionados por cortes o lesiones en el tejido del fruto, lo cual permite que el oxígeno entre (Quevedo et al., 2009). Esto provoca el rompimiento de los compartimientos celulares de enzima-sustrato, por lo que se catalizan las reacciones y producen metabolitos secundarios no deseados en los frutos frescos cortados (Pérez, 2003).

Para que ocurra el oscurecimiento en algunas frutas es importante que estén presentes los siguientes factores: oxígeno, sustratos apropiados, polifenoloxidasas (enzima) y presencia de cobre.

Estos factores son de vital importancia, ya que determinan la velocidad en la que el fruto cambiará de color, que a su vez dependerá de la concentración y la actividad de la enzima polifenoloxidasas.

Algunas frutas sensibles a estos cambios son: las peras, manzanas, plátanos, aguacates y melocotones, dentro de los vegetales destacan los champiñones y papas. En el caso de los frutos cítricos no tienen la presencia de sustratos fenólicos y su actividad de la enzima polifenoloxidasas es insignificante, por lo cual no hay cambios de color en dichas frutas (Tomás-Barberón et al., 1997).

1.2.6.1.2 Polifenoloxidasas (PFO)

La enzima polifenoloxidasas también conocida como tirosinasa, fenolasa, catecoloxidasas, o-difenoloxidasas, monofenol oxidasas cresolasa, está catalogada dentro del grupo de las enzimas oxidoreductasas al igual que las peroxidasas y oxigenasas (Tomás-Barberón et al., 1997).

Su característica estructural más importante es la presencia en su centro activo de dos átomos de cobre, unidos a histidinas; alrededor de los cobres, se sitúan

aminoácidos hidrofóbicos, con anillos aromáticos que son importantes para la unión de los sustratos.

Los niveles de PFO varía dependiendo de la especie, el cultivar y estado de maduración. En los frutos intactos, las PFO y los sustratos fenólicos se encuentran en compartimientos separados en citoplasma y vacuolas respectivamente, por lo que no hay ninguna reacción, en cuanto estos son alterados se presenta una desorganización a nivel celular, que sucede de forma natural en los procesos de senescencia, pero sí los frutos son sometidos a daños mecánicos, es decir, cuando hay una ruptura celular, habrá contacto de PFO y fenoles dando lugar a reacción de oscurecimiento (García et al., 2006).

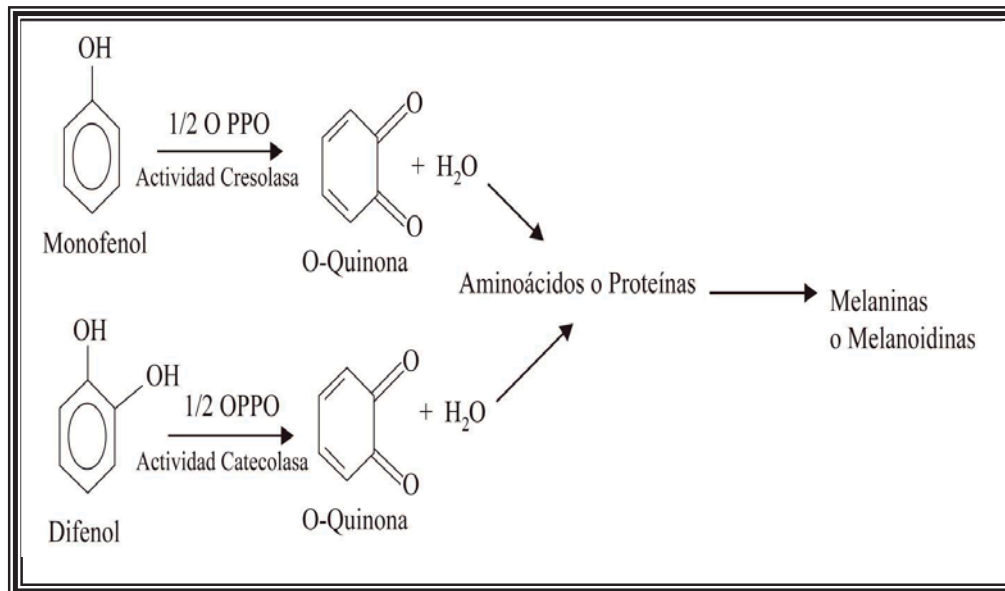
Guerrero (2009) menciona que las reacciones de oscurecimiento enzimático en vegetales y frutas, se llevan a cabo como defensa propia del fruto contra el desarrollo de microorganismos y patógenos.

1.2.6.1.3 Mecanismos de acción de la PFO

El mecanismo de reacción de la PFO (ver figura 3) se basa en la catálisis de dos etapas: oxidación de un monofenol a o-difenol y la subsiguiente oxidación de este a o-quinona, actividad cresolasa y catecolasa respectivamente. Seguido de un mecanismo ordenado, donde la enzima liga primero al oxígeno y después al monofenol. Se produce un cambio de valencia de los iones de cobre de Cu^{1+} a Cu^{2+} formándose un complejo que tiene un enlace O-O bien polarizado donde se produce la hidroxilación a o-difenilo.

En la segunda fase del oscurecimiento, que no es de carácter enzimático, presenta mayor complejidad, pues las o-quinonas son inestables y muy reactivas, pueden continuar oxidándose y polimerizándose, para dar compuestos finales que

son complejos y desembocan en la formación de pigmentos oscuros, llamados melaninas, que dan el aspecto desagradable a ciertos frutos (Pérez, 2003).



(Fuente: García et al., 2006)

Figura 3. Mecanismo de acción de la polifenoloxidasas

Reacciones:

- 1.- Actividad de la cresolasa: Hay una hidroxilación de monofenoles a posición orto para obtener o-difenoles
- 2.- Actividad de la catecolasa: Hay una oxidación de o-difenoles a quinonas

- **Compuestos fenólicos**

El estrés y el daño mecánico, causado por los procesos que conllevan los frutos enteros a mínimamente procesados, así como la presencia de etileno, estimulan el metabolismo de compuestos fenólicos en el tejido vegetal, provocando que haya cambios de coloraciones en su superficie.

El tipo de sustratos fenólicos determina la coloración de los compuestos formados en la reacción enzimática. Por lo que manzanas, albaricoques, melocotones y peras se oscurecen en tonos marrones y nunca negros, sin embargo los plátanos y papas llegan a tomar colores negros. Esto depende de la cantidad de oxígeno disponible y del contenido de los compuestos polifenoles presentes en los diferentes frutos (Tomás-Barberón et al., 1997).

1.2.6.2 Pérdida de textura

La textura es otro atributo que también determina la aceptabilidad en los frutos frescos. La manipulación y los procesos influyen mucho en la pérdida de textura, así como el estado de madurez, el contenido de agua en el fruto, la temperatura de almacenamiento y la humedad relativa son algunos factores.

Algunos cambios que ocurren en los frutos son el reblandecimiento del tejido, la pérdida de turgencia y el aumento de elasticidad, estos cambios reducen su valor comercial (Soliva-Fortuny et al., 2003; Varela et al., 2007).

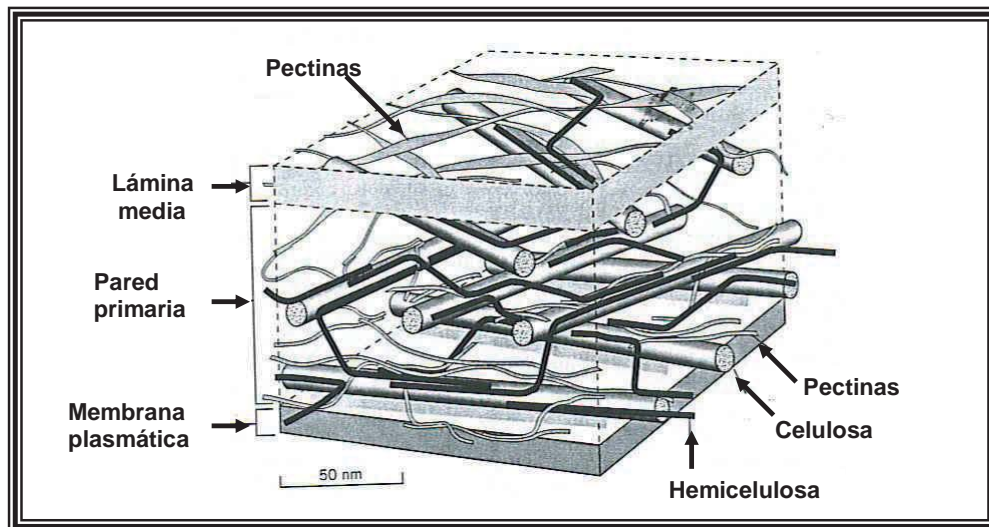
El tejido se puede dañar por operaciones mecánico-físicas antes y después de la cosecha o bien en su proceso o almacenamiento como frutos frescos, estos procesos pueden ser producidos por impactos, compresión, penetración y cortes.

El tejido que fue dañado incrementa otras reacciones como lo son la acción de algunas enzimas como: β -galactosidasa, poligalacturonasa, y pectinmetilesterasa que participan en las modificaciones de la pared celular y en la degradación de las pectinas presentes en las frutas (Martín-Belloso et al., 2011).

Quevedo et al. (2005) menciona que la pérdida de textura se ve influenciada por la estructura de la pared celular, espesor, rigidez, permeabilidad, composición química y el nivel con que se degrada la pectina.

1.2.6.2.1 Pared celular

La pared celular es una estructura que determina la forma de las células y las mantiene unidas, provee fuerza mecánica y rigidez, está formada por celulosa, hemicelulosa y pectinas (figura 4). En respuesta a su desarrollo y su medio ambiente cambia de composición y de propiedades fisicoquímicas, es por eso que desempeña un papel importante en la textura.



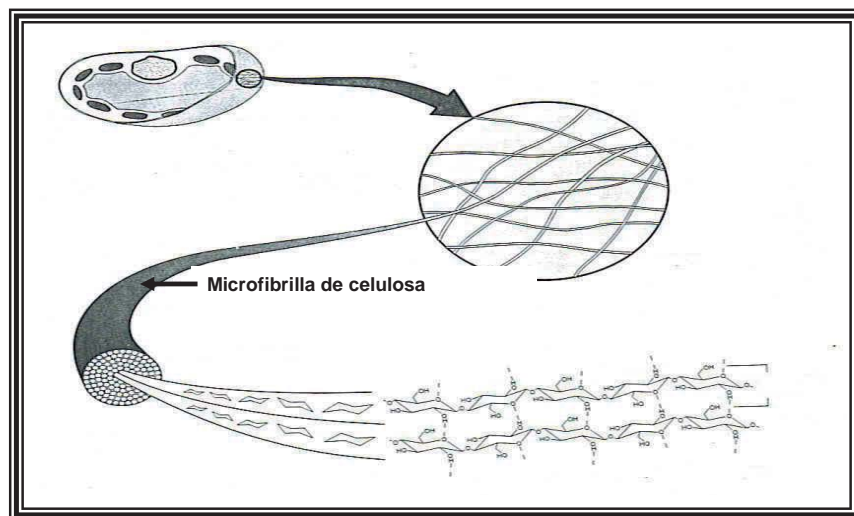
Fuente: Hopkins, 1999

Figura 4. Componentes de la pared celular vegetal

En la pared celular de las frutas se han identificado polisacáridos importantes como lo son: ramnogalacturonanos, xiloglucanos, galactoglucomanano, glucoroarabinoxilanos, hemicelulosa y celulosa (Knee, 2008).

Los espacios en la red de celulosa-matriz están rellenos por pectinas hidratadas las cuales forman otra red dentro de la pared al igual que las proteínas, así como se muestra en la figura 4 (Villareal, 2009).

Las células vegetales se encuentran rodeadas por una pared celular, que está constituida por una pared secundaria y una pared primaria, entre ambas se encuentra la laminilla media que tiene la función de mantenerlas adheridas. La pared primaria es la más delgada de 1 a 3 mm de espesor, contiene aproximadamente un 25 % de celulosa, y se encuentra formando largas microfibrillas entre 4.5 y 8.5 nm. Estas microfibrillas de celulosa están recubiertas y entrecruzadas por hemicelulosa, principalmente xiloglucanos, que se unen a la celulosa fuertemente con enlaces de hidrógeno (figura 5).



(Fuente: Hopkins, 1999)

Figura 5. Microfibrilla de celulosa

Las microfibrillas de celulosa se encuentran embebidas en una matriz de polisacáridos no celulósicos, pero principalmente hemicelulosa y pectina.

El primer cambio que sufren los frutos frescos cortados cuando empiezan a perder firmeza, es la disolución de la lámina media (ver fig. 4), que está compuesta de sustancias pécticas y tiene la función de unir a las células, y la disminución de la adhesión intracelular (célula a célula), que es seguido por la solubilización de la

pectina, que es cuando ocurre el ablandamiento y hay una pérdida de cohesividad (Varela et al., 2007). Las fibras de hemicelulosa y celulosa, en algunos casos se hinchan en la pared celular (Bayindirli, 2010).

1.2.6.2.2 Pectinmetilesterasa (PME)

La pectinmetilesterasa (PME) está dentro del grupo de enzimas pécticas, así como la poligalacturonasa. Esta enzima actúa sobre los compuestos pécticos que forman parte de la pared celular (Márquez, 2009). Interviene desmetilando los grupos carboximetil-COOCH₃ de las cadenas pécticas, produciendo ácido poligalacturónico y descendiendo el pH, ya que aumenta el número de grupos carboxilo-COOH libres. Esto genera la disminución de la solubilidad de la pectina presente en los frutos frescos cortados (Fernández, 2008).

Se ha documentado en muchas frutas que el efecto de la solubilización y despolimerización, cambia la integridad de la pared celular y por consiguiente la pérdida de textura. La despolimerización se debe a un descenso de la masa molecular por división de los ramnogalacturonanos y de las cadenas laterales de galactosa-arabinosa neutra. También puede indicar una desagregación de los polisacáridos pécticos unidos mediante enlaces covalentes.

Knee (2008) realizó estudios en diferentes frutos y vegetales, tales como; tomate, kiwi, ciruela, aguacate, mora, fresa, etc., sobre el grado de hinchamiento y la solubilización de la pectina que se produce durante el ablandamiento de los frutos. Él encontró que en frutos con textura semilíquida se presenta un mayor hinchamiento y una mayor solubilización de la pectina, que en frutos con textura no semilíquida que muestran un menor grado de hinchazón de la pared celular y cantidades mínimas de solubilización, como es el caso de las manzanas y peras.

1.3 Métodos preventivos

El uso de recubrimientos comestibles ha tomado gran auge, en la figura 6 se muestra la conservación de algunos alimentos, tales como; a) frutos, b) quesos, c) vegetales, d) carnes, por lo que en este estudio se utilizarán recubrimientos que ayuden a conservar las características propias del fruto reduciendo los procesos enzimáticos.



Figura 6. Recubrimientos comestibles 6 a) Recubrimientos en frutas, 6 b) Recubrimientos en quesos, 6 c) Recubrimientos en vegetales, 6 d) Recubrimientos en cárnicos

Actualmente se han desarrollado tecnologías que controlan el oscurecimiento enzimático y los cambios en la textura sin modificar sus propiedades nutricionales y de calidad. Algunas de las tecnologías se presentan en el cuadro 7 (Albanese et al., 2007; Pilar Cano et al., 2010).

Cuadro 7. Tecnologías alternativas

	Condiciones	Ventajas/Desventajas	Alimentos recomendados
PROCESOS TÉRMICOS	ESCALDADO Temperatura: 75 °C Tiempo: 1-10 min	Pérdidas de peso y calidad nutricional. Desnaturalización de proteínas.	Para alimentos que son destinados a congelación o alimentos de conserva.
BAJAS TEMPERATURAS	Temperatura: ±1°C HR: 85-95	Preserva la calidad de frutos y hortalizas. Disminuye las reacciones metabólicas. Incrementa la vida útil.	Para el procesamiento de frutas y hortalizas mínimamente procesadas.
ATMÓSFERAS MODIFICADAS	O ₂ : 2-8% CO ₂ : 5-15%	Prolonga la vida útil. Al disminuir la concentración de O ₂ se reducen las reacciones enzimáticas. Al aumentar la concentración de CO ₂ se inhibe la síntesis de reacciones metabólicas.	Para frutos y hortalizas mínimamente procesados y cárnicos.
RECUBRIMIENTOS COMESTIBLES	Condiciones de refrigeración	Estabiliza y extiende la vida útil. Controla el intercambio de gases y reduce la tasa respiratoria. Reduce la pérdida de nutrientes. Retrasa la producción de etileno.	Frutas y hortalizas mínimamente procesadas. Se han hecho estudios en peras, manzanas, patatas, zanahorias entre otros.

(Fuente: Pilar Cano et al., 2010)

1.3.1 Recubrimientos comestibles

En el proceso que conllevan los frutos frescos cortados se altera su integridad y son susceptibles a diversos efectos negativos. De ahí que los recubrimientos comestibles son una buena alternativa para conservar la frescura de este tipo de alimentos. Adicionalmente, extienden su vida útil y reducen los efectos de deterioro en las diferentes etapas del proceso (Perez-Gago et al., 2006; Albanese et al., 2007; Falcão-Rodríguez et al., 2007; Rojas Graü et al., 2009).

Quintero et al. (2010) define los recubrimientos comestibles como una matriz continua, delgada, que se estructura en la superficie de un alimento, en adición o reemplazo de la corteza natural, y que se comportan principalmente como barreras que reducen la difusión de gases (O_2 , CO_2 , vapor de agua). Generalmente se pueden aplicar mediante la inmersión o aspersion de una solución formadora. También pueden adquirir diversas propiedades funcionales dependiendo de las características de las sustancias formadoras o encapsuladas.

Los recubrimientos comestibles, aplicados en frutos frescos cortados, actúan creando una atmosfera modificada que protege al alimento, desde el momento en el que se aplica hasta su consumo final (Cerqueira et al., 2009).

1.3.2 Propiedades de los recubrimientos comestibles

Barrera al vapor de agua: Los recubrimientos comestibles mejoran la resistencia a la migración de vapor de agua, evitando la deshidratación superficial de los frutos frescos que traen como consecuencia la pérdida de peso y turgencia en el producto, con lo que se reduce la pérdida de calidad. Sin embargo, los recubrimientos forman una barrera, en donde también influyen las condiciones externas como la temperatura y humedad relativa (Embuscado et al., 2009).

- Barrera de gases: El uso de recubrimientos forman una protección en el alimento que modifica su atmósfera interna, regulando el intercambio de gases del interior del fruto a la atmosfera que lo rodea, lo cual produce una disminución en la tasa respiratoria evitando las condiciones anaeróbicas que ocasionan sabores y olores indeseables en el producto.
- Transporte de aditivos: El proceso que tienen los alimentos mínimamente procesados conlleva a diversos cambios en las propiedades físicas, químicas y texturales. La aplicación de aditivos como: antioxidantes, antimicrobianos, saborizantes y colorantes mejoran la apariencia de frutos y vegetales cortados. También contrarrestan los cambios surgidos y aportan un valor nutricional (Bósquez, 2003; Rojas-Graü et al., 2007).

1.3.3 Importancia de los recubrimientos comestibles

Los recubrimientos al aplicarlos sobre la superficie del alimento forman una barrera semipermeable que detiene la maduración, retrasando la transferencia de gases (CO_2 , O_2 y vapor de agua), la respiración de fruto y la producción de etileno (Sothornvit et al., 2008). También con la aplicación se reduce la pérdida de agua y solutos, retrasan los cambios de color y se mejora la apariencia del producto (Perez-Gago et al., 2006; Rojas-Graü et al., 2008).

Un factor importante a considerar en los recubrimientos es la afinidad que tengan estos con el material a recubrir, ya que se necesitan adherir a su superficie, cuando la adhesión es más fuerte hay una mayor durabilidad del recubrimiento en la superficie del alimento. Además, deben cumplir con una serie de requerimientos para poder ser empleados en frutas frescas cortadas, uno de los más importantes es estar constituidos por sustancias generalmente reconocidas como seguras (GRAS) y también deben aceptarse sensorialmente por el consumidor (Quintero et al., 2010; Martín-Belloso et al., 2011).

1.3.4 Composición de los recubrimientos comestibles

Los recubrimientos comestibles se elaboran a base de biopolímeros de alto peso molecular que forman una matriz macromolecular. Estos pueden formarse a base de polisacáridos, lípidos, proteínas y mezclas. También en su interior pueden contener aditivos como plastificantes, surfactantes, emulsificantes, agentes antimicrobianos, antioxidantes, colorantes, saborizantes, especies y nutrientes, para aumentar su valor comercial. En general dependiendo del tipo de componente con el que se forme la película o recubrimiento serán las propiedades que le den al alimento (Perez-Gago et al., 2006; Ponce et al., 2008).

1.3.4.1 Recubrimientos a base de polisacáridos

La aplicación de recubrimientos comestibles a base de polisacáridos en frutos cortados es una buena opción ya que se adhieren con facilidad a su superficie protegiéndola y dándole un buen aspecto. Además de estas características, proporciona una alta permeabilidad al CO₂ y O₂, reduce la pérdida de peso, el crecimiento de actividad microbiana, el oscurecimiento y la rancidez oxidativa. Este tipo de recubrimientos ayudan a retardar la maduración en algunos frutos, aumentando su vida útil (Cerqueira et al., 2009).

Una de las desventajas en la aplicación de este tipo de recubrimientos, es que no ofrecen una buena barrera contra la humedad, gracias a su naturaleza hidrofílica. Para contrarrestar esta desventaja muchas veces a este tipo de recubrimientos se les puede incorporar lípidos, que emulsificados en una solución sobre el producto, pueden ayudar a prevenir reacciones degradativas.

Dentro de los polisacáridos que se utilizan para la aplicación de recubrimientos en frutas frescas cortadas se incluye aquellos que se derivan de plantas (celulosa y derivados, pectinas, almidón), extractos de algas marinas (alginatos,

carrageninas), caparazón de crustáceos (quitosano), y algunos compuestos de mucílagos (Martín-Belloso et al., 2011).

Olivas et al. (2006) en estudios recientes demostró que el uso de polisacáridos como carrageninas en unión con ácido ascórbico, ácido cítrico, y ácido oxálico han prolongado la vida útil de manzanas frescas cortadas en rebanadas por 2 semanas cuando fueron almacenadas a una temperatura de 3 °C.

- Mucílagos utilizados en recubrimientos

Los mucílagos son los constituyentes normales de las plantas y su uso como recubrimientos para frutos frescos cortados no ha sido muy estudiado.

En general, se caracterizan por ser heteropolisacáridos formados por diferentes azúcares y ácidos urónicos y por formar disoluciones coloidales viscosas (geles en agua) (Quevedo et al., 2005).

En investigaciones recientes se ha demostrado que el gel que proviene de la sábila (*Aloe vera*) puede prolongar la conservación de productos frescos. Se forma un gel cristalino (mucílago) el cual está libre de aromas y sabores; dicho compuesto se ha llegado a aplicar en recubrimientos para uvas de mesa y se ha observado una extensión en la vida útil de esas frutas hasta de 35 días comparándolas con uvas sin recubrir. Por otro lado, también se estudió el efecto de aloe vera en recubrimientos para cereza, observándose una disminución en la pérdida de calidad, además se observaron excelentes propiedades sensoriales.

Otro mucílago recientemente empleado en la elaboración de recubrimientos comestibles es el extraído de cactus (*O. ficus indica*) y es empleado con el fin de extender la vida útil, ya que se comprobó que mantiene buenos resultados en el color y firmeza en frutos como la manzana (Aquino et al., 2009; Mendoza, 2011).

- Mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*)

Es un compuesto presente en los cladodios, piel y pulpa del nopal. Siendo un polisacárido de alto peso molecular, compuesto principalmente por L- arabinosa (24.6-42%), D- xilosa (22-22.2%), D-galactosa (21-40.1%), L-ramnosa (7-13.1%) y ácido galacturónico (8-12.7%) (Medina-Torres et al., 2000; León-Martínez et al., 2010).

A continuación se mostrará la composición química promedio que tiene el mucílago de nopal *Opuntia ficus*:

Cuadro 8. Composición química del mucílago

	g/100g muestra
Humedad	4.9±0.6
Proteína	7.9±1.5
Cenizas	36.2±2.3
Nitrógeno	1.3±0.2
Ca	109.2±0.7
K	1.6±0.2

Fuente Abraján, (2008)

El mucílago de nopal ha sido objeto de numerosos estudios para la aplicación en la industria alimenticia, ya que modifica la viscosidad, elasticidad, retención de agua y tiene un alto poder gelificante y emulsificante (Sáenz et al., 2003).

Se ha probado el uso del mucílago de nopal aplicado en recubrimientos de frutas como fresa, jícama y plátano (Hernández, 2009; Ruiz, 2009; Aquino et al., 2009), dando buenas características reológicas, lo que hace que el mucílago tenga el potencial para formar recubrimientos que conserven la vida útil de los frutos frescos cortados (Abraján, 2008; Mendoza, 2011).

A continuación se muestran algunas propiedades que tiene el mucílago de nopal usado en la aplicación de recubrimientos:

- Reduce la tensión superficial.
- Estabiliza emulsiones de tipo aceite en agua.
- Forma gotas pequeñas de aceite.
- Tiene la capacidad de formar geles.

Una de las ventajas que tiene el usar mucílago de nopal en recubrimientos es que provee de elementos nutritivos, como su alto contenido de fibra que proporciona beneficios para el ser humano como, el control de la producción de ácidos gástricos protegiendo la mucosa gastrointestinal, además de ayudar a eliminar toxinas y acelerar el paso de alimentos por el tracto digestivo, teniendo un efecto diurético (Díaz et al., 2007; Contreras-Padilla et al., 2010).

1.3.4.2 Recubrimientos a base de proteínas

Con el uso de proteínas en recubrimientos comestibles se presentan buenas propiedades mecánicas, pero son pobres como barrera contra la humedad, debido a su naturaleza hidrofílica. Generalmente este tipo de recubrimientos son susceptibles y quebradizos, es por eso que necesitan el uso de un plastificante que le de flexibilidad (Yan et al., 2003; Atarés et al., 2010).

Dentro de las proteínas que se pueden usar como recubrimientos, están aquellas derivadas de origen animal, como la caseína y el suero de proteína, y las de origen vegetal como el gluten de trigo, la zeína y la proteína de soya. Se han usado este tipo de recubrimientos en unión con polisacáridos y ceras, y se sabe que le dan un importante valor nutricional a los alimentos (Bósquez, 2003).

Olivas et al. (2006) demostró que el concentrado de proteína de suero de leche aplicado en un recubrimiento en manzanas cortadas en cubos daba como resultado la disminución del oscurecimiento enzimático y la pérdida de textura de estas muestras, así como también reducía la pérdida de humedad del fruto.

1.3.4.3 Recubrimientos a base de lípidos y resinas

Los recubrimientos a base de lípidos ayudan como barreras al vapor de agua debido a que son compuestos hidrofóbicos.

Los ingredientes que se pueden usar para la elaboración de estos recubrimientos son grasas, aceites, ceras, resinas naturales, aceites esenciales entre otros (Rojas-Graü et al., 2008; Embuscado, 2009).

Este tipo de recubrimientos se han experimentado en frutas y hortalizas enteras. Y se ha probado que el uso de cubiertas de resina, pueden generar condiciones anaeróbicas debido a su baja permeabilidad a los gases.

De entre los materiales lipídicos que se han empleado para la formulación de productos mínimamente procesados se encuentran: ceras de abeja, monoglicéridos acetilados, ácido esteárico, ácido láurico y ésteres de ácidos grasos (Bósquez, 2003).

1.3.4.4 Mezclas de compuestos para recubrimientos

Los recubrimientos con un solo componente presentan algunas desventajas, ya sea en propiedades mecánicas o en barrera de gases. Se han mejorado las propiedades funcionales de estos recubrimientos mediante el uso de mezclas entre dos o más compuestos, lo cual permite mejorar el intercambio gaseoso, adherencia y permeabilidad al vapor de agua (Aguilar, 2005)

1.4 Nanotecnología

Uno de los avances más importantes en la industria alimentaria es la incorporación de la nanotecnología, es decir, el uso de partículas diminutas de tamaño nanométrico (Weiss et al., 2006).

Esta tecnología se puede aplicar en varias áreas para la producción de alimentos como: en envases o en el mismo alimento, con el fin de incorporar nutrientes, para desarrollar alimentos funcionales y para hacer más estables a sistemas inmiscibles. En la industria alimentaria, se han hecho evidentes varias aplicaciones a la nanotecnología incluyendo el uso de nanopartículas, nanoemulsiones, nanocápsulas, entre otras. (Rojas-Graü et al., 2009).

Además, con la reducción del tamaño de partícula, la nanotecnología puede contribuir a mejorar las propiedades de los compuestos activos en ciertos alimentos, como el prolongar el tiempo de residencia en el tracto intestinal y la absorción eficiente a través de las células de compuestos como: omega 3 y omega 6, ácidos grasos, prebióticos, probióticos, vitaminas, minerales, etc.

1.4.1 Nanoemulsión

La estabilidad de una emulsión depende de la composición y del tamaño de las gotas en el sistema. El tamaño de partícula en una emulsión convencional es mayor a 1µm, haciendo que este tipo de partículas sean susceptibles a sedimentar por fuerza de gravedad. Es por eso que hay un mayor interés en la utilización de nanoemulsiones en la industria, cosmética, farmacéutica y alimenticia.

Las nanoemulsiones son un tipo de emulsiones que poseen un tamaño de partícula de 10- 100 nm, tienen baja polidispersidad que generalmente les confiere una alta estabilidad cinética y una apariencia translúcida. Estos sistemas

contienen dos fases líquidas inmiscibles, una fase está dispersa en otra y cuya estructura es estabilizada por un agente emulsionante (Qian et al., 2010).

Algunas ventajas que tienen las nanoemulsiones son las siguientes:

- Evita que los sistemas se sedimenten fácilmente debido a que reduce las fuerzas de gravedad.
- Previene la floculación y la coalescencia de las gotas.
- El tamaño nanométrico permite una mejor distribución de los componentes.
- Permite la incorporación de ingredientes activos y permite que se penetren con mayor facilidad y uniformidad.

1.4.2 Métodos de preparación de nanoemulsiones

Debido a que las nanoemulsiones son sistemas termodinámicamente inestables no pueden formarse fácilmente, por lo que se requiere de la aplicación de energía para su formación. Esta energía puede suministrarse por métodos de dispersión (alta energía) o métodos fisicoquímicos (baja energía) (Rao et al., 2010).

A continuación se presentan los métodos que ayudan a la formación de nanoemulsiones:

1.4.2.1 Método de alta energía

En los métodos de dispersión por alta energía, el tamaño y la polidispersidad de las partículas de las nanoemulsiones dependen de la energía aplicada durante su proceso y del tiempo durante el cual se aplica esta energía. Entre los métodos más eficaces para producir nanoemulsiones con el método de alta energía se encuentran: los homogenizadores de alta presión, la microfluidización y el método por ultrasonido (Hernández, 2004; Fernández et al., 2004; Silva et al., 2011).

Método de homogenización de alta presión: la mezcla se bombea a través de un sistema de válvulas y boquillas, que suministran suficiente energía de cizalla para romper las gotas de la emulsión y así formar gotas más pequeñas.

Método por ultrasonido: se aplica ondas sonoras de alta frecuencia que propagan movimientos turbulentos que inducen la fluctuación de la presión generada por un actuador que vibra en frecuencias específicas.

Método de microfluidización: se basa en pasar corrientes de fluidos a través de un sistema de micro-canales, en donde se aplica una fuerza de arrastre ejercida por los fluidos cuando se mueven en el sistema y el contacto entre sí provoca la ruptura de la emulsión en gotitas (Quintanilla-Carvajal et al., 2010).

1.4.2.2 Método de baja energía

Pasa de un sistema en equilibrio en el cual hay un cambio de variables (temperatura y composición), a un estado de desequilibrio con una energía mayor (Solé et al., 2009). Produce transiciones de fases que con el contenido de algún surfactante producen emulsiones con un tamaño de gota pequeño. Entre los métodos fisicoquímicos utilizados para obtener este tipo de emulsiones está la inversión de la emulsión por una disminución o aumento de temperatura, se produce forzando la transición de emulsiones de aceite en agua a bajas temperaturas y de agua en aceite a altas temperaturas (Fernández et al., 2004; García, 2011).

1.4.3 Estabilidad de las nanoemulsiones

El principal mecanismo de desestabilización es el aumento del tamaño de las gotas más grandes a expensas de las pequeñas. Este mecanismo es altamente

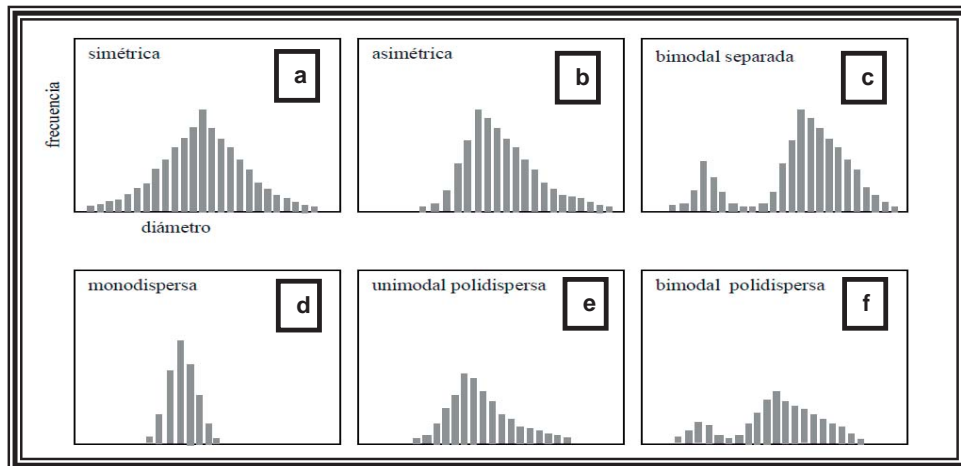
dependiente de las condiciones iniciales, es decir, del grado de polidispersión de las gotas y de las interacciones entre estas. (Schalbart et al., 2010).

Estudios efectuados sobre la estabilidad reportan que las gotas de las nanoemulsiones se comportan como esferas rígidas, bajo estas condiciones las gotas no se deforman lo suficiente, evitándose la coalescencia (Hernández, 2004).

1.4.3.1 Distribución del tamaño de partícula

Indica la estabilidad del sistema, es decir, que tanto se fragmenta el sistema en su fase dispersa. Es importante ya que predice el comportamiento de las partículas y señala la eficiencia del proceso de emulsificación. La forma de distribución y sus cambios, son informaciones valiosas del proceso de formación de una nanoemulsión.

En la figura 7 se muestran los diferentes tipos de distribución que pueden encontrarse en las nanoemulsiones.



(Fuente: Hernández, 2004)

Figura 7. Distribución de tamaño

En la figura a y d se aprecia un sistema monodisperso, la distribución de tamaño de partículas es simétrico, generalmente se produce cuando la agitación es homogénea, en cambio un mezclado incompleto o mal efectuado puede dar paso a una distribución polidispersa como lo muestran las figuras b y e que generan un amplio rango de tamaños de partículas. La distribución de tipo bimodal, como se aprecia en la figura c y f es producido por lo cual no es deseable porque la nanoemulsión se encuentra repartida en dos grupos de tamaños predominantes que le darán menor estabilidad, por lo que se puede observar dos poblaciones en ambas figuras (Bósquez, 2003).

1.4.3.2 Potencial zeta

El potencial zeta es una de las principales fuerzas que median las interacciones entre partículas, como se muestra en la figura 8 a) y 8 b).

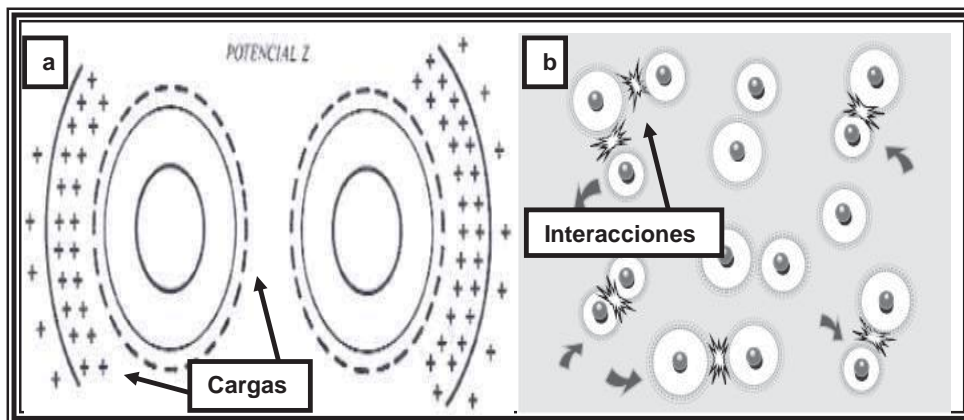


Figura 8. Potencial zeta a) Iones negativos y positivos; 8 b) Repulsión de partículas

Es una medida de estabilidad e indica el potencial que se requiere para penetrar la capa de iones circundante en la partícula para desestabilizarla. Por lo que representa la repulsión eléctrica de las partículas, como se puede observar en la figura 8, ya que a mayor potencial zeta menor será la agregación de partículas y será mayor la estabilidad en la solución (García, 2011).

II. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 PROBLEMA

Los frutos como las manzanas cambian considerablemente después de ser procesadas como frutas frescas cortadas, debido a la acción de enzimas pécticas y polifenoloxidasas que provocan cambios de textura y oscurecimiento enzimático. Sin embargo, es necesario recurrir a distintos métodos de conservación para lograr incrementar su vida útil y conservar su apariencia, por lo que la aplicación de un recubrimiento de nanoemulsión-mucílago de nopal con dl- α -tocoferol es una alternativa a considerar para disminuir la actividad enzimática e incrementar la vida útil de manzana fresca cortada.

Para resolver el problema en este trabajo se planteó un objetivo general que se desglosó en tres objetivos particulares.

2.2 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto de recubrimientos de mucílago de nopal con dl- α -tocoferol aplicándolos en talla micrométrica y nanométrica, mediante los cambios en la actividad enzimática pectinmetilesterasa y polifenoloxidasa en manzanas frescas cortadas variedad "*Red Delicious*" para su conservación en almacenamiento refrigerado.

OBJETIVOS PARTICULAR 1

Establecer las condiciones de preparación de nanoemulsión-mucílago de nopal y nanoemulsión con dl- α -tocoferol empleando el método de homogenización de alta

energía para obtener un sistema estable de talla nanométrica con tamaños de partícula menores a 500 nm.

OBJETIVOS PARTICULAR 2

Correlacionar la actividad pectinmetilesterasa (PME) con los cambios en la textura de manzana fresca cortada y refrigerada para comparar la efectividad de recubrimientos de mucílago de nopal y dl- α -tocoferol en talla micrométrica y nanométrica.

OBJETIVOS PARTICULAR 3

Determinar la actividad polifenoloxidasas (PFO) en manzana fresca cortada *Red Delicious* correlacionándola con la efectividad en la disminución del oscurecimiento en función a los recubrimientos utilizados.

2.3 SELECCIÓN DE VARIABLES Y JUSTIFICACIÓN

En el cuadro 9 se presenta el resumen de los factores y niveles de variación utilizados para determinar el efecto del tamaño de partícula sobre el oscurecimiento enzimático y degradación de la textura observada en manzana cortada variedad *Red Delicious* almacenada en refrigeración durante un periodo de 22 días. Así como las técnicas que se utilizaron para la evaluación de estos parámetros estudiados. Además, en la última columna se muestra el instrumento y/o equipo utilizado durante la experimentación.

Las actividades para el cumplimiento de objetivos se resumen en dicho cuadro y se proyecta de manera conjunta en la metodología experimental. Posteriormente, se explicó detalladamente cada uno de los experimentos realizados.

Cuadro 9. Factores de variación

Factores de variación	Niveles de variación	Replicas/ Repetición	Factor Dependientes	Factor Respuesta	Técnica/ Instrumento
Tipos de recubrimientos	Nanoemulsión con mucílago	3	Tamaño de partícula. Potencial Z. Índice de Polidispersión.	Estabilidad	Nano- sizer Z-sizer
	Nanoemulsión sin mucílago				
	Emulsión con mucílago				
	Mucílago				
Días de Almacenamiento	1, 6, 8, 13, 15, 20, 22	3	Variación de color	Disminución del oscurecimiento	Colorímetro
			Prueba de punción	Fuerza necesaria para su deformación.	Texturómetro (Instron 4411)
			Determinación de polifenoloxidasa	Oscurecimiento enzimático	Espectrofotometría UV Visible Jiménez et al., (2001)
			Determinación de pectinmetilesterasa	Pérdida de textura	Volumetría Aguirre et al., (2006)
			Pérdida de peso	Diferencia de peso	Balanza

2.4 DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.4.1 Material biológico

- **Manzana *Red Delicious*:**

Para el experimento se adquirió un lote de 20 kg de manzana de la variedad *Red Delicious* en un mercado local (ubicado en Cuautitlán Izcalli), seleccionándose con base en su aspecto, color, estado de madurez, tamaño y principalmente sin daños superficiales. En la figura 9 se muestra como se seleccionaron las manzanas. Estas se almacenaron en refrigeración a 4 °C durante un tiempo de 24 horas previo a su utilización.



Figura 9. Selección de manzana *Red Delicious*.

Algunas de las unidades experimentales eliminadas se muestran en la figura 9. Las manzanas señaladas en círculo son muestra de que se retiraron por magulladuras, deformidad, colores no uniformes, daños en la corteza y estado de

putrefacción. Aproximadamente se presenta una pérdida del 10% en una caja de 20 kg de producto adquirido.

- **Mucílago de nopal:**

El mucílago de nopal se obtuvo de nopales que se recolectaron en el rancho “Los Lores” ubicado en el estado de Guanajuato-México, cosecha primavera-verano del 2010. Posteriormente, se lavaron, desinfectaron, pelaron y descoronaron. La extracción de mucílago se realizó a partir de una molienda húmeda de nopal de 100 días de maduración (aprox. 400 g.). La pulpa de nopal se centrifugó en un equipo (DIDACTA Italia TAG1/d) para obtener la fracción soluble, la cual se precipitó con etanol de grado 96%, se filtró a vacío a 30 mmHg. Y finalmente se deshidrato a 40 °C. Las condiciones de extracción que fueron utilizadas son las reportadas por Paredes (2011).

2.4.2 Actividades del objetivo particular 1

2.4.2.1 Formación de los recubrimientos

Nanoemulsión:

Las nanoemulsiones independientemente de su composición se prepararon por el método de emulsificación convencional, utilizando para ello un sistema rotor/stator con las condiciones reportadas por Camacho (2010). Se consideró una temperatura de 40 °C y una velocidad de cizalla de 10,000 rpm con un dispositivo mezclador de alta velocidad, Ultra Turrax modelo T50 de IKA USA, como se muestra en la figura 10 a y el dispositivo en la figura 10 b, que corresponde a una propela de cizallamiento, en el cual se realizaron 3 ciclos de 5 minutos con 5 minutos de descanso. En la figura 10 c se presenta la nanoemulsión y en la figura 10 d se muestra la nanoemulsión con mucílago de nopal preparada al 1% de este polímero. Ambas nanoemulsiones, se prepararon de tal manera que se obtuviera

un HLB de 6.0 en función a la concentración de dl- α -tocoferol utilizando 2 g/L, como surfactantes se utilizaron Tween 80 y Span 80.

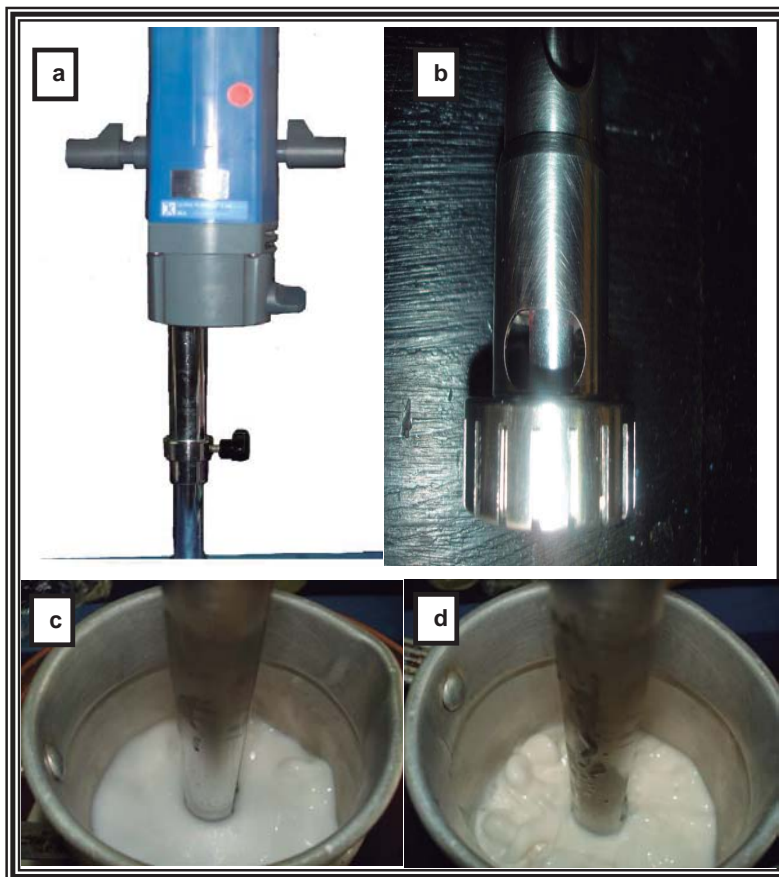


Figura 10. a) Ultra Turrax; 10 b) Dispositivo utilizado; 10 c) Nanoemulsión; 10 d) Nanoemulsión con mucílago de nopal

Emulsión:

Para la preparación de la emulsión, a la dispersión de mucílago se le adicionó 2% de vitamina dl- α -tocoferol y 1% de glicerol. Se mantuvo a una agitación constante

con la ayuda de un dispersor de propela a 2,000 rpm, realizándose 3 ciclos de 5 minutos y 5 minutos de descanso, manteniéndose una temperatura constante de 40 °C con una parrilla de calentamiento. La figura 11 muestra la preparación de la emulsión con mucílago de nopal.



Figura 11. Preparación de emulsión

2.4.2.2 Tamaño de partícula

A los 2 tipos de nanoemulsiones se les tomó una alícuota y se diluyó en agua destilada Milli-Q (Millipore®, USA-Bedford, MD). Para medir el tamaño de partícula y el índice de polidispersión se utilizó un Nano-Sizer® (marca COULTER y modelo N4 Plus), de dispersión láser.

2.4.2.3 Potencial zeta

Para la determinación del potencial zeta se utilizó un Z-sizer 4^a (Zetasizer Nano Series, Malvern Ltd, France). Se tomó una alícuota que se dispersó en agua destilada Milli-Q (Millipore®, USA-Bedford, MD). Las mediciones se realizaron a una temperatura de 25 °C por triplicado.

Acondicionamiento y aplicación de recubrimientos. Las condiciones se presentan en el diagrama de bloques de la figura 12.

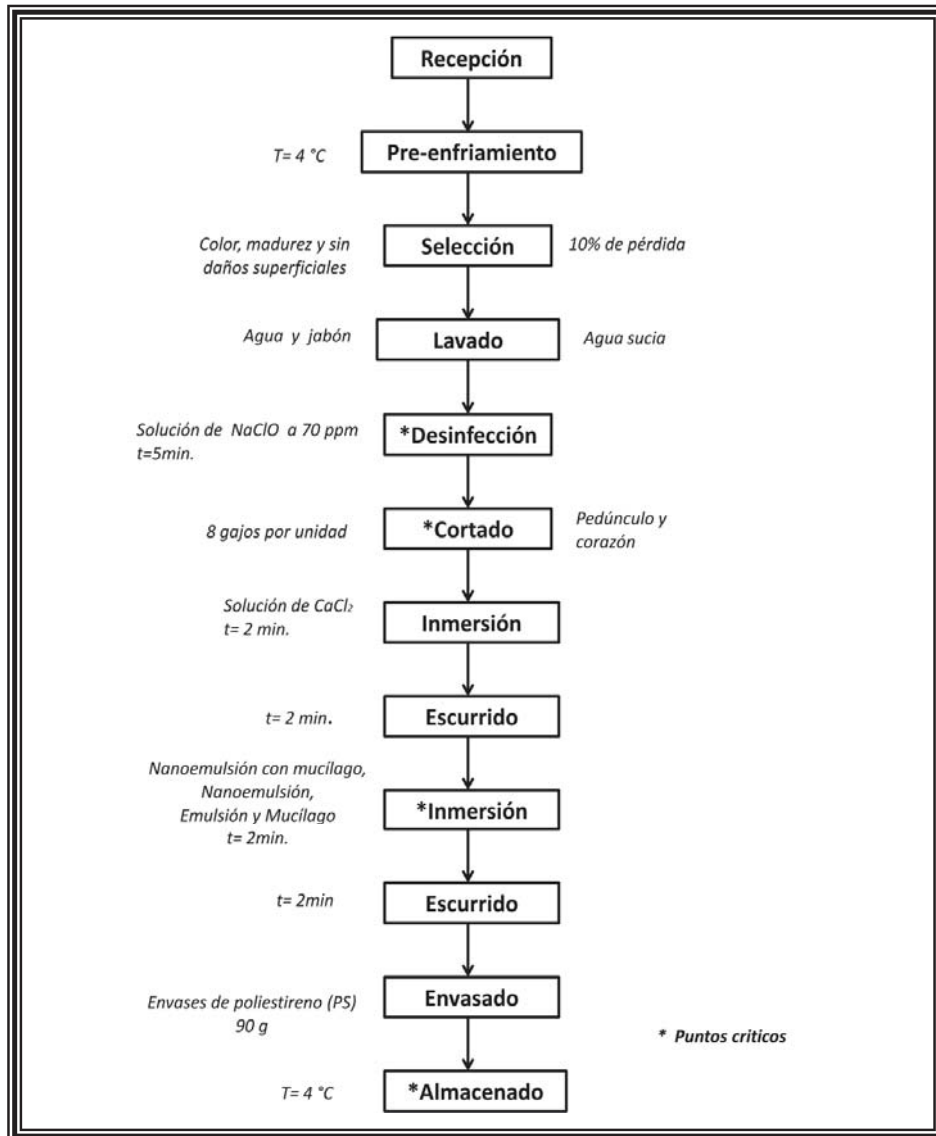


Figura 12. Diagrama de bloques de la aplicación de los recubrimientos

Descripción del diagrama de bloques:

- Recepción de materia prima

Se adquirió manzana *Red Delicious* en un mercado local, se seleccionaron visualmente por color, madurez, tamaño uniforme y sin daños superficiales.

- Pre-enfriamiento

En esta etapa se logra eliminar el calor que se genera durante el transporte de la materia prima a las instalaciones de la FESC UNAM (Nave 2000). Con el fin de disminuir la respiración del fruto. El producto se almacenó en una cámara de refrigeración a condiciones de 4 °C de temperatura.

- Selección de materia prima

Se eliminaron las manzanas que presentaron daños superficiales y se aceptaron aquellas que tuvieron mejor aspecto.

- Lavado

Con el objetivo de eliminar el exceso de tierra y materia extraña las manzanas se lavaron con agua corriente y jabón.

- Desinfección

Posteriormente se sumergieron las manzanas durante 5 minutos en una solución de hipoclorito de sodio a 70 ppm. Con la finalidad de reducir la carga microbiana de la superficie del producto y de evitar la contaminación durante el proceso se limpiaron utensilios y el material a emplear con cloruro de benzalconio a 150 ppm.

- Cortado

Con un instrumento punzo cortante de acero inoxidable se cortaron los casquetes correspondientes al pedúnculo y a la base de la manzana, usando un

descorazonador se obtuvieron 8 gajos de cada manzana. De estos gajos se descartaron los que presentaban algún daño o mostraban aspecto anómalo, como oscurecimiento interno, pulpa traslúcida, o algún otro tipo de desorden fisiológico.

Esta operación tiene una influencia determinante en la calidad del producto final y por lo tanto se cuidó en producir el menor daño posible al tejido, ya que la rotura de este por el corte supone un incremento de la respiración y transpiración que conducen a un rápido deterioro del producto.

- Inmersión

Los gajos de manzana obtenidos se sumergieron en una solución de cloruro de calcio a 1% durante 2 minutos. Esta solución ayuda a mantener la firmeza en las manzanas tratadas.

Es importante mencionar, que las muestras control solo fueron tratadas con cloruro de calcio, por lo que no se les aplicó ningún recubrimiento.

- Escurrido

Los gajos de manzana se dejaron escurrir durante 2 minutos evitando el exceso de solución de cloruro de calcio.

- Inmersión

Las manzanas cortadas se sumergieron en los diferentes recubrimientos (nanoemulsión con mucílago, nanoemulsión, emulsión y mucílago de nopal), para garantizar la formación del recubrimiento se dejaron reposar durante 2 minutos.

- Escurrido

Para eliminar el exceso de los recubrimientos se dejaron escurrir durante un periodo de 2 minutos.

- Envasado

Una vez secas las manzanas se envasaron en vasos de poliestireno (PS) con un contenido aproximado de 100 ± 10 g por cada muestra y se etiquetaron.

- Almacenamiento

Todas las muestras fueron almacenadas a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, para ello se utilizó una cámara de refrigeración localizada en la Nave 2000 (figura 13).



Figura 13. Almacenamiento en cámara de refrigeración

Métodos de análisis

Para cumplir con los objetivos de este proyecto fue importante realizar la determinación de los parámetros que indican la calidad de las manzanas frescas cortadas: como cambio de color, pérdida de textura y determinaciones enzimáticas. Las determinaciones se hicieron cada 3 días durante el tiempo de almacenamiento (22 días).

2.4.3 Actividades de objetivo particular 2

2.4.3.1 Pérdida de peso

La pérdida de peso se monitoreo con una balanza digital marca Ohaus Voyaver modelo VP613C, en la que se registró el peso inicial de la muestra y el peso final a los 22 días de almacenamiento. Las mediciones se hicieron por triplicado para cada tratamiento y los resultados se expresaron como el porcentaje de la pérdida inicial de peso mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100$$

2.4.3.2 Textura

Método

En muchos casos, cuando se estudian cambios en la textura durante el ablandamiento del tejido vegetal, se utiliza un método destructivo el cual mide la resistencia a la compresión, penetración o deformación mediante un ensayo de compresión uniaxial (Pérez, 2003).

Se realizó un ensayo, a temperatura ambiente, para ello se utilizó un texturómetro Instron modelo 4411 (USA) equipado con una célula de carga de 5kN, ver figura 14, en el cual se realizó un ensayo de punción donde se utilizó un embolo plano de 9 mm de diámetro. Se utilizó el software series IX de Instron para llevar a cabo el análisis de resultados. Esta prueba se realizó de igual forma por triplicado para cada tratamiento.



Figura 14. Texturómetro Instron 4411

2.4.3.3 Determinación de pectinmetilesterasa

Método

La actividad pectinmetilesterasa se determinó midiendo la velocidad de desmetilación de pectina por valoración de NaOH por una técnica volumétrica reportada por Aguirre et al. (2006).

Para la extracción enzimática se homogenizó 5 g de superficie recubierta en 25 mL de solución amortiguadora Tris-100 a 0.25 M, con 0.3 M de NaCl a pH 8, el homogenizado se agitó durante 10 minutos y se centrifugó durante 25 minutos a 2000 rpm, el sobrenadante fue el extracto enzimático.

Se determinó la velocidad de desmetilación de pectina por valoración con NaOH. Se utilizó 25 mL de sustrato (pectina comercial cítrica al 1 % (p/v) en NaCl 0.1M a

pH 7. Se ajustó el pH a 7.0 con NaOH 0.025 N o HCl 0.02 N. Y se valoró la solución con NaOH 0.025 N hasta alcanza pH 7.0 representando la cantidad de NaOH necesario para neutralizar los grupos carboxilo liberados. Los resultados se expresaron de la siguiente manera:

$$\frac{UPE}{mL} = \left(\frac{v * \frac{N}{1000}}{t * a} \right) 10^6$$

Donde:

UPE= unidades de pectinmetilesterasa

v= volumen gastado de NaOH

N= normalidad de NaOH empleado

t= tiempo de agitación

a= alícuota

2.4.4 Actividades del objetivo particular 3

2.4.4.1 Color

Método

Las medidas de color se realizaron en ambos lados de cada gajo, con tres replicas para cada tratamiento.

Se utilizó un colorímetro Minolta® modelo CR-300 (Konica Minolta® Tokio, Japón), como se muestra en la figura 15, para determinar las coordenadas CIE L*a*b*. Los valores "a" en abscisas se mueven desde los valores negativos para el verde a valores positivos para el rojo, los valores "b" en coordenadas van desde el azul hasta el amarillo y el parámetro "L" representa luminosidad de reflexión nula (L=0)

a reflexión difusa (L=100). El instrumento se estandarizó por medio de un plato blanco de cerámica de calibración (L*= 97.02, a*= +0.13, b*= +1.77).



Figura 15. Colorímetro Minolta CR-300

Se calculó:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2}$$

$$IO = \frac{100(x - 0.31)}{0.172}$$

$$x = \frac{a^* + 1.75 L^*}{5.645 L^* + a^* - 3.012 b^*}$$

Donde:

ΔE = diferencia total de color

Δa , Δb y Δc = representan las diferencias entre los parámetros de color de la muestra y los parámetros de color del blanco estándar

IO= índice de oscurecimiento

x=factor

2.4.4.2 Determinación de polifenoloxidasas

Método

La actividad enzimática fue determinada por la medición del incremento en la absorbancia, utilizando el método reportado por Jiménez et al (2001).

Para la obtención del extracto enzimático se obtuvieron 30 g de superficie recubierta que fue molida en una licuadora con una cantidad suficiente de (20 mL) de buffer de fosfato de sodio frío 0.2 M a pH de 7 con 1% (v/v) de Triton® X-100 por 30 segundos. El homogenizado fue filtrado a vacío con la finalidad de eliminar las partículas sólidas y centrifugado a 4000 rpm por 35 minutos. El sobrenadante consistió en el extracto enzimático.

La actividad polifenoloxidasas se determinó con un espectrofotómetro CINTRA-10 DOUBLE BEAM UV VISIBLE a 420 nm de absorbancia (Figura 16). La mezcla de reacción consistió en 0.2 mL de solución enzimática y 2.8 mL de 0.050 M de catecol en 0.1M citrato-fosfato buffer pH 6.5 a 25 °C, el blanco contenía únicamente 3.0 mL de solución de sustrato. Los cambios en la absorbancia fueron colectados cada minuto durante 15 minutos. Una unidad de actividad polifenoloxidasas se define como el cambio de 0.001 Abs por minuto, la velocidad de reacción inicial fue estimada de la porción lineal de la curva graficada. Las mediciones se realizaron por triplicado.

La actividad enzimática se determinó mediante la regresión lineal de la gráfica obtenida en el espectrofotómetro, la pendiente representa la tasa de velocidad en el cambio de catecol a o-benzoquinona por minuto y el coeficiente de correlación determina el grado de asociación lineal entre el tiempo y la absorbancia.



Figura 16. Espectrofotómetro CINTRA-10

2.4.5 Tratamiento estadístico

Se realizó un análisis de varianza de dos vías con $\alpha=0.05$ (tiempo de almacenamiento y tratamiento de las manzanas) y se evaluó el efecto de los diferentes tipos de recubrimientos.



III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Resultados del objetivo particular 1

3.1.1 Tamaño de partícula

El tamaño de partícula y la distribución de tamaño en una nanoemulsión es importante ya que indica su estabilidad y eficiencia. Cuando se obtienen tamaños de partículas entre 100 y 1000 nm, en un sistema mejora la distribución homogénea y evitan la agregación en las partículas, reduciendo la velocidad de sedimentación.

En la figura 17 se presenta el comportamiento de la nanoemulsión-mucílago a las 5 semanas de almacenamiento refrigerado.

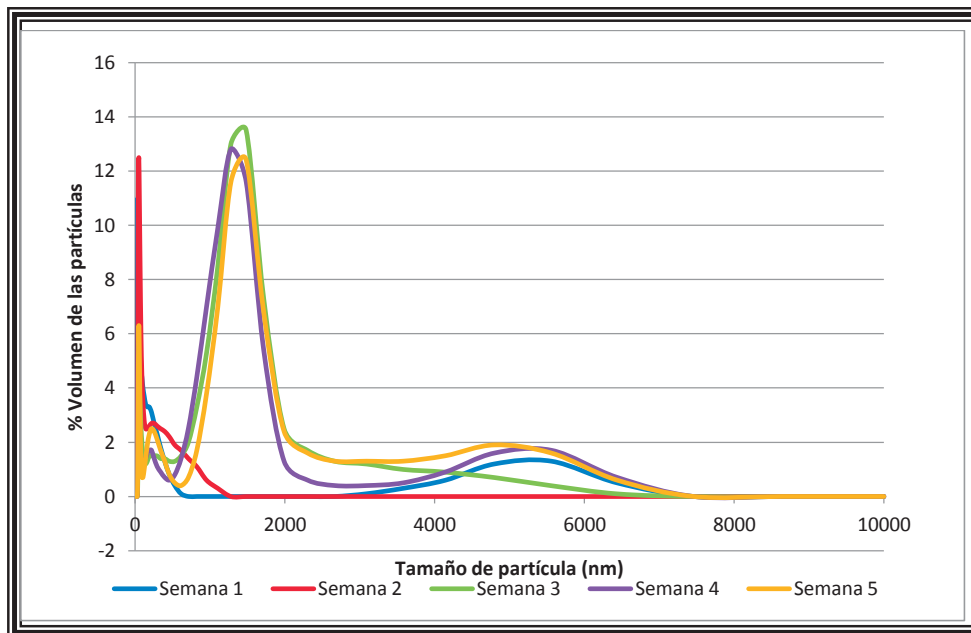


Figura 17. Tamaño de partícula vs porcentaje de volumen



De acuerdo a la figura 17 de % de volumen contra tamaño de partícula, el comportamiento de la nanoemulsión-mucílago presenta un aumento del porcentaje de volumen en las partículas conforme pasa el tiempo, así como también un incremento en el tamaño de partícula.

En la primera semana de almacenamiento refrigerado se percibe una curva bimodal con tamaños de partícula entre los 100 y 1000 nm. Sin embargo, a partir de la segunda semana aumenta considerablemente el tamaño de partícula en el sistema siendo mayor a 1000 nm. A partir de la cuarta semana se presenta un comportamiento bimodal notable, que influye en la estabilidad del sistema atribuido al mucílago de nopal, ya que tiende a formar agregados y como consecuencia hay un aumento en la talla de las partículas. Por otro lado se conserva una mejor estabilidad en la nanoemulsión sin mucílago ya que presentan tamaños de partícula menores a 200 nm de acuerdo a lo reportado por Galindo, (2011) y Sánchez, (2011).

Hernández (2004), logró demostrar que el principal mecanismo de desestabilización de las nanoemulsiones, es el crecimiento de las gotas más grandes a expensas de las más pequeñas.

3.1.2 Potencial zeta

La determinación del potencial zeta indica la estabilidad en sistemas coloidales, ya que a mayor potencial zeta menor será la agregación de las partículas durante el almacenamiento, debido a una mayor repulsión eléctrica de las partículas dispersas en el sistema (Rao et al., 2010).

Como se aprecia en el cuadro 10, los valores obtenidos de potencial zeta a las diferentes semanas de almacenamiento muestran la estabilidad de los recubrimientos con nanoemulsión y nanoemulsión-mucílago.



Cuadro 10. Potencial zeta

Potencial zeta (mv)		
	Nanoemulsión	Nanoemulsión-mucílago
1 semana	-53.96	-31.1
2 semana	-40.36	-24.2
3 semana	-41.33	-24
4 semana	-42.13	-25
5 semana	-46.5	-23.7

De acuerdo a los resultados obtenidos en la nanoemulsión mucílago se puede apreciar una estabilidad moderada, que va de -31 a -40 mv, en la primera semana de acuerdo a lo reportado por Schramm, (2005). Sin embargo, a partir de la segunda semana de almacenamiento pasa a una estabilidad ligera, lo contrario a la nanoemulsión sin mucílago que presentó una buena estabilidad (-41 a -50 mv) durante el tiempo de almacenamiento (Galindo, 2011), producido por la repulsión de partículas que evita que el sistema sedimente, floccule o coalesca.

3.2 Resultados del objetivo particular 2

3.2.1 Pérdida de peso

La rotura del tejido por el corte aplicado a los frutos provoca un incremento de la intensidad respiratoria y transpiración, causando con ello el deterioro del fruto. Estos problemas inducen la pérdida de peso y subsecuentemente alteraciones fisiológicas como disminución de textura que se ve afectada por la deshidratación del fruto, el ablandamiento y la flacidez, tal como lo reportan Márquez (2009) y Embuscado et al. (2009).

El agua en forma de vapor migra del interior del fruto a la superficie y siendo cortada la manzana, tiene una mayor área superficial expuesta, la cual es



susceptible a la difusión de agua, haciendo que se presente una mayor pérdida de peso conforme pase el tiempo (Bósquez, 2003).

En la figura 18 se observa la evolución de la pérdida de peso de las manzanas cortadas con los diferentes tratamientos respecto al tiempo de almacenamiento refrigerado a 4 °C.

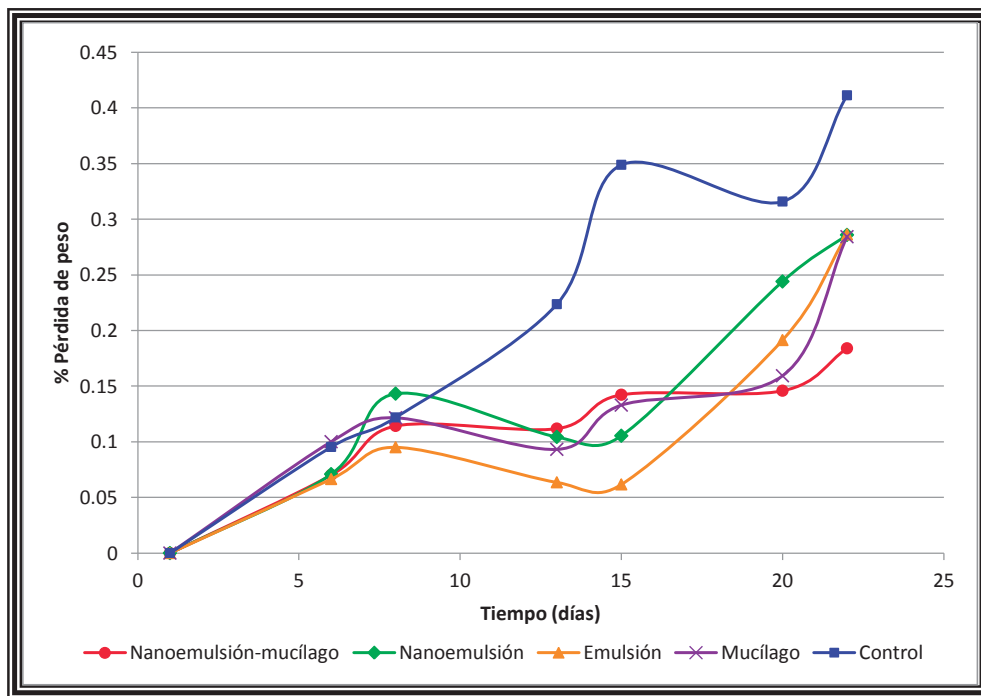


Figura 18. Pérdida de peso vs días de almacenamiento refrigerado a 4 °C

De acuerdo con el análisis de varianza con un nivel de significancia de 0.05 y lo que se aprecia en la figura 18, la pérdida de peso de las diferentes muestras tratadas no mostró diferencia estadísticamente significativa entre ellas. Las muestras control son las que presentaron un mayor porcentaje de pérdida de peso al día 22, mientras que los demás tratamientos presentaron un menor porcentaje. Esto se atribuye al empleo de envases de poliestileno que protegen los frutos



frescos cortados, ya que ayuda a limitar la migración de vapor de agua y controla el intercambio de gases, lo cual contribuye a mantener su humedad (Sánchez, 2011).

Sin embargo, a partir del día 7 se puede observar que todas las muestras que fueron recubiertas presentaron una menor pérdida de peso que la muestra control, que tuvo una disminución de 0.41% al día 22 por efecto de la deshidratación del fruto cortado. Esto coincide con lo reportado por Perez-Gago et al. (2006) que trabajó con manzana *Golden Delicious*. Por otro lado, Albanese et al. (2007) y Rojas-Graü et al. (2008) que trabajaron con recubrimientos a base de polisacáridos, reportaron que el empleo de un envase ayuda a disminuir la pérdida de peso como se presentaron en los resultados obtenidos, resaltando que el uso de recubrimientos en manzanas frescas cortadas ayuda a limitar el intercambio de vapor de agua del fruto al exterior, evitando su deterioro y alargando su vida útil.

Se mostró que las muestras tratadas con mucílago de nopal tienen una pérdida de peso al final del almacenamiento de 0.28%, debido a que el mucílago es un hidrocoloide que tiene la capacidad de captar y almacenar agua, por lo que conserva aún mejor la humedad en el interior del fruto (Abraján, 2008; Mendoza, 2011).

En los tratamientos de emulsión, es importante mencionar que a pesar de que presentan una menor pérdida de peso inicial, esta se incrementa en los últimos días de almacenamiento, debido a una deshidratación del fruto. Sin embargo, en los recubrimientos con nanoemulsión hay un incremento significativo de pérdida de peso a partir del día 15 alcanzando un valor máximo de 0.28%, mientras que los tratamientos de nanoemulsión-mucílago de nopal presentaron una pérdida de peso menor de 0.18% a los 22 días de almacenamiento refrigerado. Por consiguiente fue posible demostrar que el uso de sistemas de talla nanométrica contribuye a disminuir el intercambio de vapor de agua y por ende hay una menor



pérdida de peso, ya que logra distribuirse homogéneamente el recubrimiento en la superficie del fruto de acuerdo a lo reportado por Karbowiak et al. (2007).

3.2.2 Determinación de la textura

La pérdida de textura es uno de los cambios visuales más notables en frutos frescos cortados, ya que como consecuencia de las acciones de pelado y cortado, el fruto sufre lesiones y degradación de la pared celular, debido al estrés del tejido del que se desencadenan cambios metabólicos y la pérdida de agua en el producto (Olivas et al., 2006; Rojas-Graü et al., 2008).

En la figura 19 se presentan los cambios de firmeza, en función de la carga, conforme pasa el tiempo en manzanas frescas cortadas. Estos cambios están asociados con el tipo de tratamiento empleado y el tiempo de almacenamiento.

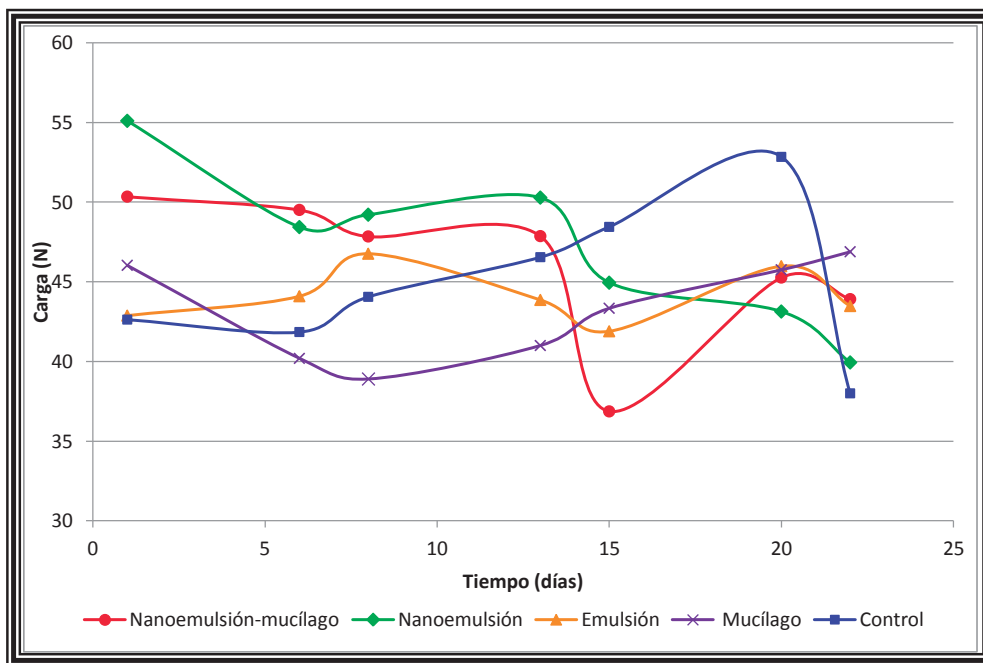


Figura 19. Gráfica carga vs tiempo de almacenamiento



En la muestra control se observa una pérdida progresiva de firmeza, generada por el ablandamiento del tejido, y asociado a la actividad de las enzimas pectinmetilesterasas, lo que implica que haya modificaciones en la resistencia mecánica que presenta el fruto en dicho tratamiento. Sin embargo, cabe resaltar que en el día 20 alcanza un valor máximo de 52 N y disminuye drásticamente en los últimos días de almacenamiento hasta 38 N, a estos resultados se les puede atribuir la deshidratación en la superficie del producto, probablemente por una menor migración de vapor de agua. También es importante mencionar que estos resultados se encuentran directamente relacionados con el aumento del porcentaje de pérdida de peso en el fruto.

Las manzanas recubiertas mostraron un mejor comportamiento en cuanto a textura de acuerdo a lo reportado por Olivas et al., 2006. En el caso del mucílago de nopal se puede observar un ablandamiento en el fruto en los primeros días de 46 N a 40 N en el sexto día de almacenamiento, hasta el día 15 donde aumenta a 43 N manteniéndose constante hasta el último día. Este comportamiento podría deberse a que el mucílago tiene la capacidad de absorber y retener agua como lo menciona Abraján (2008). No obstante los recubrimientos con emulsiones tienen la ventaja de tener compuestos hidrofóbicos que ayudan como barrera de vapor de agua por lo que contribuye a mantener la textura del fruto mostrando un comportamiento semiconstante y se puede observar que en el último día de almacenamiento se obtiene una carga de 43 N.

Los recubrimientos a base de nanoemulsión-mucílago y nanoemulsión, mantienen un comportamiento similar, siendo más evidente en los últimos días de almacenamiento. En el caso de la nanoemulsión-mucílago se puede observar un menor cambio en la textura, ya que al veintavo día alcanza un valor de 45 N, en cambio en el mismo día la nanoemulsión alcanza un valor de 43 N. En ambos tratamientos se ha observado que mantienen la textura del fruto, evitando el reblandecimiento del tejido y conservando mejor su calidad.



3.2.3 Actividad pectinmetilesterasa

La pérdida de firmeza se puede ocasionar por la acción de enzimas pectolíticas sobre los componentes de la pared celular, tal es el caso de la pectinmetilesterasa que gracias a la hidrólisis de las sustancias pécticas de la pared genera una disminución de la solubilidad de la pectina (Pérez, 2003; Rojas-Graü et al., 2009).

En la figura 20 se presenta el comportamiento de la actividad pectinmetilesterasa de las diferentes muestras durante su periodo de almacenamiento.

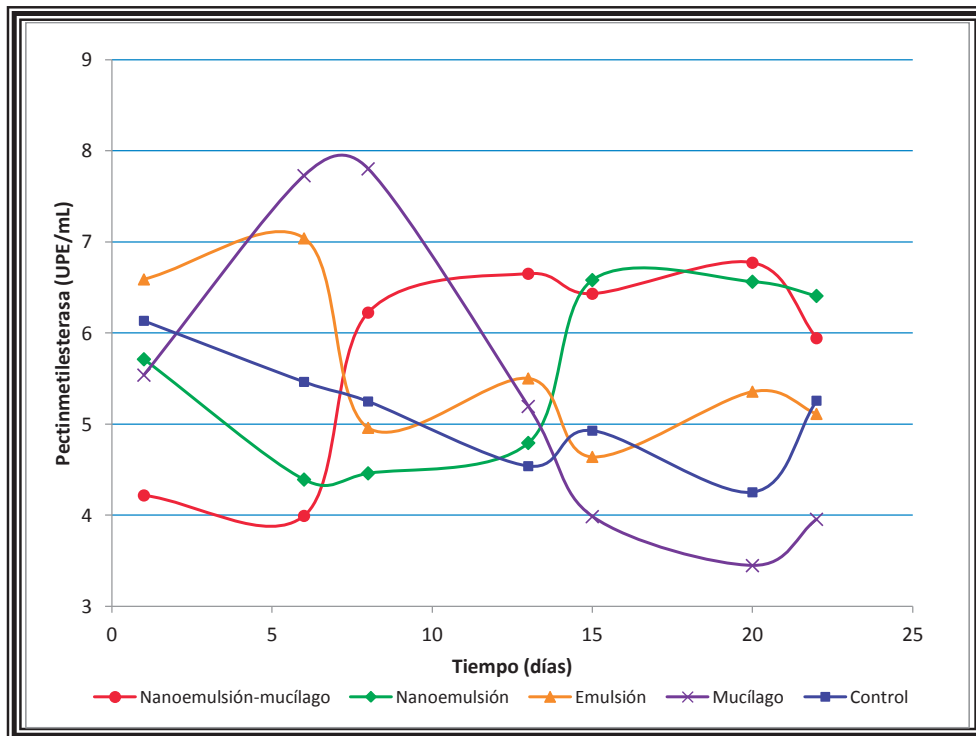


Figura 20. Actividad pectinmetilesterasa vs días de almacenamiento



Se puede apreciar que para las muestras mucílago y emulsión-mucílago la actividad inicial fue de 5.53 y 6.58 UPE/mL respectivamente, incrementando su actividad hasta alcanzar valores promedio de 7.3 en el día 6 para ambos casos. En el caso del mucílago de nopal su actividad se atribuye a que al mucílago obtenido para la preparación de los recubrimientos no se le consideró su inhibición de la actividad pectinmetilesterasa, por lo que su actividad enzimática en los primeros días es mayor. Sin embargo, en la emulsión hubo un incremento de actividad durante los 5 primeros días de almacenamiento, disminuyendo considerablemente después de transcurrido este tiempo y permaneciendo constante en el resto del almacenamiento.

Para los tratamientos con recubrimientos de nanoemulsión, la actividad PME permaneció constante durante los primeros 13 días y se incrementó considerablemente después de los 15 días con un valor inicial promedio de 4.5 a 6.5 UPE/mL. Por otro lado la nanoemulsión-mucílago muestra un incremento de la actividad a los 7 días de almacenamiento refrigerado y alcanzando valores de 6.5 UPE/mL similares a los mostrados en la nanoemulsión lo que implica que el empleo de este recubrimiento retarda aun más los cambios texturales en la manzana. Sin embargo, la reducción del tamaño de partícula contribuye a que el dl-alfa-tocoferol inhiba la presencia de oxígeno, por lo que al ser menor la talla de partícula hay una mejor distribución del antioxidante y permite que actúe más rápidamente en el fruto evitando la pérdida de textura (Ne Cheong et al., 2008).

En cambio para la muestra control, la actividad PME, tiene un efecto significativo ($\alpha=0.05$) respecto al tiempo de almacenamiento, ya que disminuye de forma constante, aumentando a partir del quinceavo día de almacenamiento. Por lo que se le atribuye un efecto negativo debido al corte del tejido, que genera una solubilización de la pared celular y por consiguiente la pérdida de la textura.

Sin embargo, se ha demostrado que el uso de sales de calcio, como un pre tratamiento en manzanas frescas cortadas, ayuda a mantener la firmeza (Soliva-



Fortuny et al., 2003; Rojas-Graü et al., 2009), ya que sirven como vínculo de unión de las sustancias pécticas en la pared celular y lámina media por lo que previene el ablandamiento del fruto.

Romero-Gomezcaña et al. (2006) encontró una correlación altamente significativa entre la actividad de la PME y la firmeza del fruto. Tal y como se muestra en la figura 21, en donde la pérdida de firmeza por el proceso de cortado en las manzanas, es atribuida a la acción de las enzimas pectinmetilesterasa, que están directamente relacionadas con la hidrólisis de las estructuras moleculares de la pared celular (Márquez, 2009).

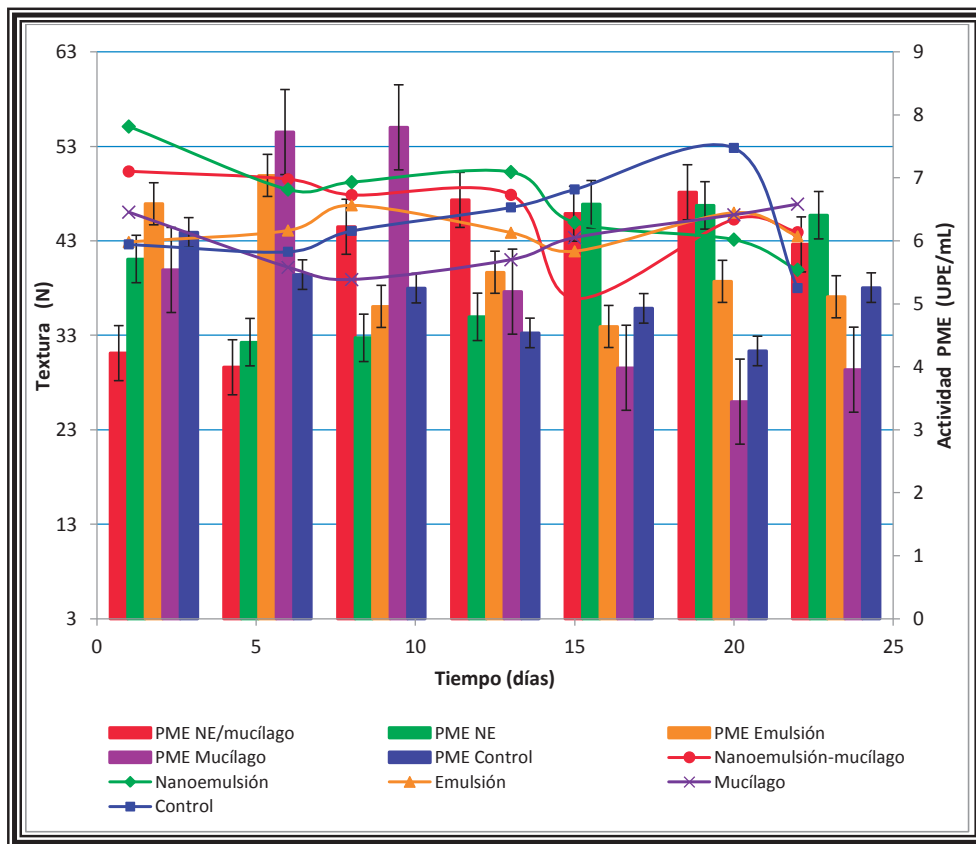


Figura 21. Textura y Actividad PME vs Tiempo



En la figura 21 se muestra notablemente el incremento de la actividad pectinmetilesterasa en el día 6 para el mucílago y la emulsión, debido a que no se consideró en el proceso la inhibición de las enzimas pectinolíticas en la obtención de mucílago de nopal. Sin embargo, para ambos tratamientos, se puede apreciar una pérdida de textura causada por el corte del tejido. En los tratamientos de nanoemulsión se evidencia una menor actividad en los primeros días de almacenamiento, lo que se ve influenciado en su textura, ya que esta se conserva hasta el día 13 de almacenamiento refrigerado.

Es importante resaltar que los tratamientos sin recubrimiento obtuvieron una mayor actividad enzimática y un ablandamiento, que fue seguido por un endurecimiento del tejido, como consecuencia de una deshidratación del tejido. Es decir la presencia de un recubrimiento ayuda a mantener la vida útil de productos frescos cortados.

3.3 Resultados del objetivo particular 3

3.3.1 Determinación del color

El color de un alimento es un indicador de calidad; cuando una fruta es cortada presenta reacciones químicas que modifican sus propiedades organolépticas; razón por la cual no es aceptado por el consumidor (Guerrero, 2009).

La diferencia total de color (ΔE) es un parámetro útil para describir la variación de color, entre una muestra estándar y la muestra a los diferentes días de almacenamiento, ya que refleja el cambio total en todos los parámetros (L^* , a^* y b^*) y determina el oscurecimiento en frutos, resultados que se encuentran fuertemente correlacionados con los valores de actividad polifenoloxidasas (Soliva-Fortuny et al., 2001).



En la figura 22 se aprecia la diferencia de color entre las muestras tratadas y las muestras control, aumentando significativamente con el tiempo de exposición para todos los tratamientos. Dado que ΔE es >1 , en todos los casos, los cambios ocurridos fueron perceptibles visualmente (Pérez, 2003). A continuación se muestran los resultados obtenidos de la diferencia total de color de los diferentes tratamientos a los 22 días de almacenamiento refrigerado a 4 °C.

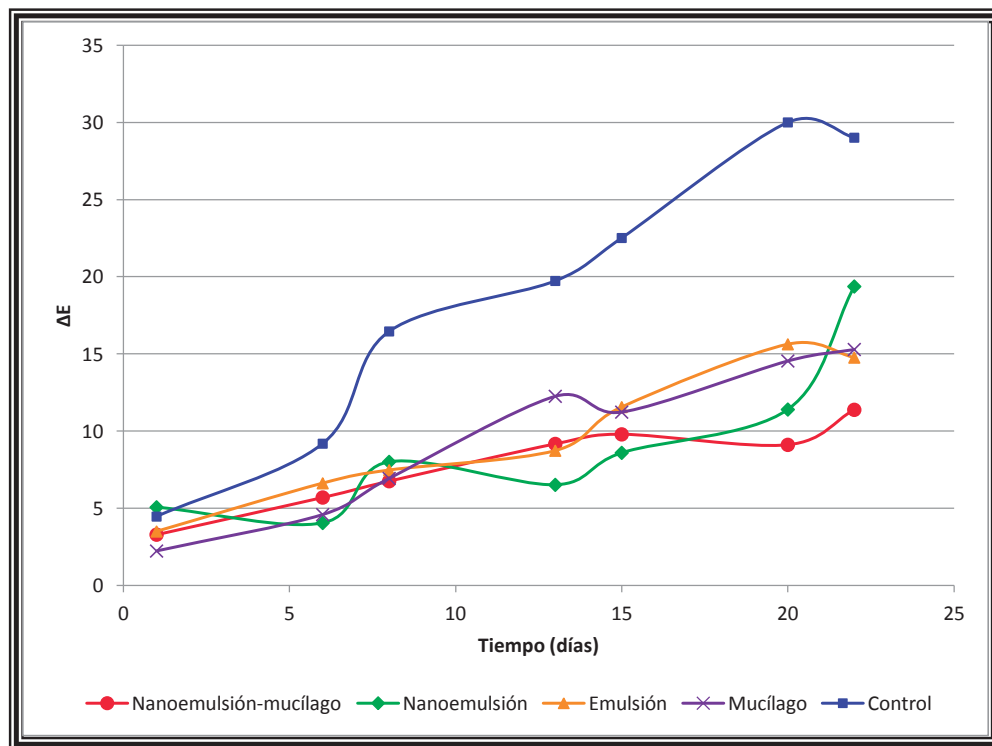


Figura 22. Color (ΔE) vs días de almacenamiento

En la figura se muestra una mayor ΔE con respecto al tiempo en las muestras control, con una diferencia estadística significativa ($\alpha=0.05$), lo que implica que fueron más oscuras, que para los tratamientos con recubrimientos, esto debido a que actúan como una membrana selectiva que disminuye la velocidad de



respiración por modificación en el intercambio gaseoso de O_2 y CO_2 en el tejido del fruto. Por otro lado se muestra la efectividad de los recubrimientos a base de nanoemulsión y nanoemulsión-mucílago, mostrando un ΔE de 9.79 y de 8.59 al día 15 respectivamente. Sin embargo, este tratamiento aumenta en su ΔE a partir del día 15 hasta el día 22 mostrando un valor de 19.37, por lo que se puede resaltar que se obtuvieron mejores resultados en los tratamientos con nanoemulsión-mucílago, atribuidos a un efecto sinérgico entre el hidrocoloide empleado y la disminución del tamaño de partícula, lo que permite una mejor distribución de las gotas de $d\text{-}\alpha\text{-tocoferol}$ en la superficie del producto y hace que se inhiba el oscurecimiento enzimático en las manzanas cortadas.

Por otro lado la emulsión y el mucílago aumentaron su diferencia total de color al día 13, mostrando resultados de 8.73 y 12.26 respectivamente lo que implica que exista una mayor velocidad de oscurecimiento.

3.3.2 Actividad polifenoloxidasasa

Un factor limitante en el tiempo de vida útil de manzana cortada es el oscurecimiento enzimático, causado por la acción de la enzima polifenoloxidasasa que en presencia de oxígeno, convierte los compuestos fenólicos en pigmentos oscuros, (Rojas-Graü et al., 2009; García, 2011).

Los niveles de actividad de polifenoloxidasasa se consideran como un índice de predicción de la susceptibilidad que tiene el fruto a presentar pigmentos oscuros sobre su superficie, lo cual es considerado como cambios indeseables en el producto (Rocha et al., 2001; Hun-Sik et al., 2008).

En la figura 23 se aprecia la actividad polifenoloxidasasa para los diferentes tratamientos respecto a los 22 días de almacenamiento refrigerado, mostrando una diferencia estadísticamente significativa ($\alpha=0.05$) con respecto al tiempo.

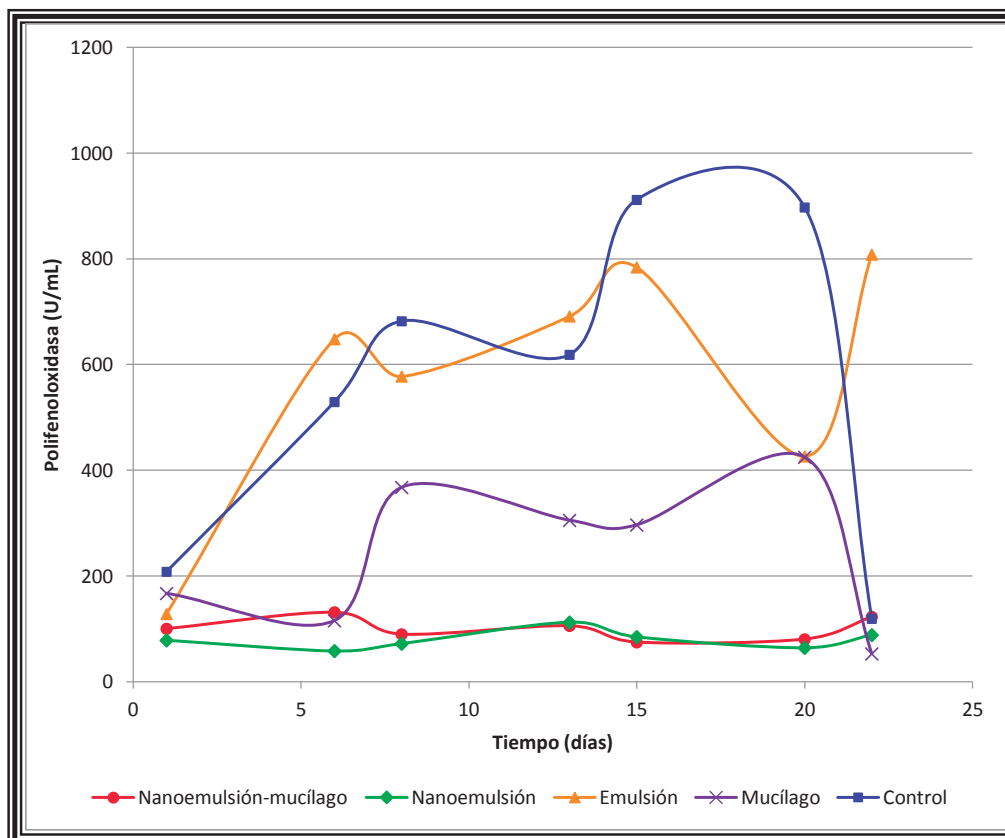


Figura 23. Actividad polifenoloxidasas vs días de almacenamiento

De acuerdo a lo que se presenta en la figura 23, en la muestra control se percibe que la actividad polifenoloxidasas comienza a incrementarse considerablemente a partir del sexto día hasta el quinceavo día de almacenamiento refrigerado alcanzando un valor máximo de 911.66 U/mL, esto se debe a que en la ausencia de un recubrimiento comestible, el tejido queda expuesto al oxígeno del medio ambiente lo que genera una reacción más rápida para la formación de quinonas y como consecuencia su oscurecimiento del producto.



En el caso del tratamiento con mucílago de nopal, es importante mencionar que mantiene un comportamiento constante con un valor promedio de 323.30 U/mL hasta el día 20, donde incrementa su actividad polifenoloxidasas con un valor de 424.83 U/mL. Sin embargo, al igual que el tratamiento control presenta una disminución de actividad al día 20 debido al agotamiento del sustrato de la enzima.

Se puede apreciar que el tratamiento a base de emulsión tiene valores de actividad muy altos, pero es en el último día de almacenamiento que alcanza un valor de 808.16 U/mL. Los tratamientos con nanoemulsión y nanoemulsión mucílago mostraron comportamientos muy similares, permaneciendo por debajo de 150 U/mL, por lo que se muestran mejores resultados a los observados en los tratamientos con un tamaño de partícula mayor. También es importante resaltar que los antioxidantes, en este caso el dl-alfa-tocoferol, previenen el oscurecimiento reaccionando con las quinonas productos de la primera etapa del oscurecimiento enzimático. Mientras que el tamaño de nanométrico, permite una mejor distribución del antioxidante, ya que logra abarcar una mayor área de contacto con el fruto cortado, por lo que se le atribuye una menor actividad polifenoloxidasas (Villegas-Ochoa et al., 2005).

Ne Cheong et al., (2008), logró demostrar que un tamaño en el orden de nano, mejora la absorción y biodisponibilidad de compuestos bioactivos. Por lo que se puede considerar que la disminución del tamaño de partícula modifica la acción de la polifenoloxidasas retardando el efecto de oscurecimiento en la manzana.

En la figura 24 se presenta la correlación entre el índice de oscurecimiento y actividad polifenoloxidasas en las manzanas frescas cortadas, en donde se aprecia que hay un incremento de actividad enzimática conforme pasa el tiempo de almacenamiento refrigerado en las diferentes muestras tratadas que repercute notablemente en el índice de oscurecimiento (Rocha et al., 2001).

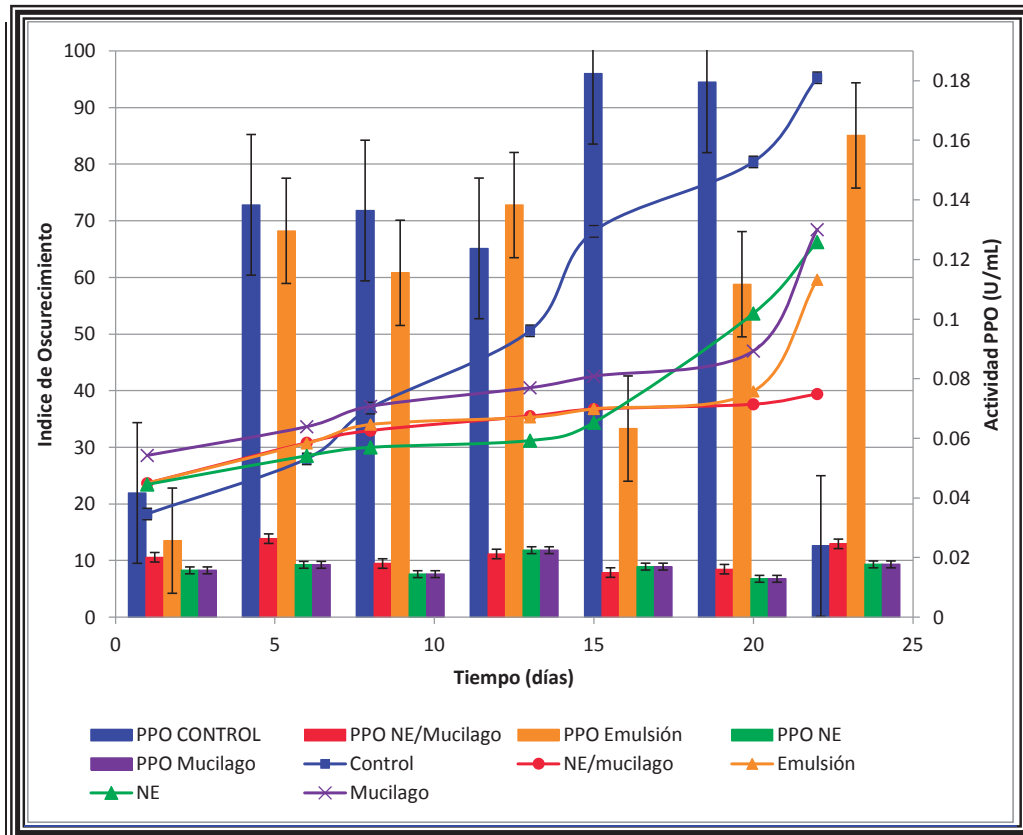


Figura 24. Índice de oscurecimiento y Actividad PPO vs Tiempo

En la figura 24 es evidente que el tratamiento control y la emulsión presentan un incremento considerable en la actividad polifenoloxidasas, a partir del día 6, lo cual desencadena la producción de compuestos oscuros; además se presenta en los últimos días de almacenamiento una alta actividad lo que conlleva a que haya un aumento en su índice de oscurecimiento.

Cabe mencionar que los recubrimientos con nanoemulsión y nanoemulsión-mucilago mostraron buenos resultados, se aprecia que el tratamiento nanoemulsión tiene menor actividad polifenoloxidasas en comparación de la



nanoemulsión-mucílago. Este comportamiento se debió a que no se consideró la inhibición enzimática del mucílago de nopal solo. Sin embargo, la nanoemulsión-mucílago tiene un menor índice de oscurecimiento en los últimos días de almacenamiento, mostrando frutas frescas cortadas menos oscuras y con mucho mejor aspecto.

CONCLUSIONES

- En este estudio fue posible obtener sistemas de talla submicrónica (nanoemulsión y nanoemulsión-mucílago), estables en almacenamiento, empleando un método de emulsificación por homogenización de alta energía.
- La disminución del tamaño de partícula muestra un efecto positivo en los recubrimientos comestibles, debido a una mejor distribución de los componentes, permitiendo que actúen rápidamente en el fruto evitando los cambios de color y pérdida de textura.
- Se demuestra la efectividad de los tratamientos con nanoemulsión y nanoemulsión-mucílago de nopal en el oscurecimiento enzimático producido por enzimas polifenoloxidasas y pérdida de textura provocada por enzimas pectinmetilesterasas. Estos tratamientos logran alargar la vida útil de manzanas frescas cortadas variedad *Red Delicious*.
- La aplicación de mucílago de nopal en los recubrimientos comestibles, ayuda a mantener la humedad propia del fruto, por lo que se ve beneficiada la disminución de la pérdida de peso y la conservación de la textura.

RECOMENDACIONES

En investigaciones futuras sobre el tema se recomienda:

- Estudiar el efecto de la actividad pectinmetilesterasa y polifenoloxidasa del mucílago de nopal.
- Considerar un método de inactivación enzimática del mucílago de nopal.
- Obtener la actividad pectinmetilesterasa mediante un método más exacto al utilizado en este proyecto, con la finalidad de obtener resultados más claros.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abraján, V. M. A. (2008). Efecto del método de extracción en las características químicas y físicas del mucílago del nopal (*Opuntia ficus-indica*) y estudio de su aplicación como recubrimiento comestible. Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Valencia.

Afanas'ev, I. B., Dorozhko, A. I., Brodskii, A. V., Kostyuk, V. A., Potapovitch, A. I. (1989). Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology*, **38**:1763–1769.

Aguilar, M. M. A. (2005). Propiedades físicas y mecánicas de películas biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional.

Aguirre, O. M., Lozano, S. E., Ocampo, M. A., Torres, K. B., Martínez, A.D.V., Aparicio, A. J. (2006). Changes in enzymatic activity of alfa-Amylase, pectinmethylesterase and polygalacturonase during ripening in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Var. *Flavicarpa* degener). *Interciencia*, **31** (10): 728-731.

Albanese, D., Cinquanta, L., Di Matteo, M. (2007). Effects of an innovative dipping treatment on the cold storage of minimally processed *Annurca* apples. *Food Chemistry*, **105**: 1054-1058.

Allende, A., Tomás-Barberán, F. A., Gil, M. I. (2006). Minimal processing for healthy traditional foods. *Food Science and Technology*. **17**: 513-519.



Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, **84**: 551–562.

Aquino, L. V., Rodríguez, J., Méndez, L. L., Torres, K. F. (2009). Inhibición del oscurecimiento con mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) en el secado de plátano Roatán, *Información tecnológica* **20**: 15-19.

Artés, F., Artés- Hernández, F. (2003). Daños por frío en la postrecolección de frutas y hortalizas. *Avances en Ciencias y Técnicas del Frío*, **1**: 1-5.

Artés Calero Francisco. (2006). El envasado en atmósfera modificada mejora la calidad de consumo de los productos hortofrutícolas intactos y mínimamente procesados en fresco. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, **7(2)**: 61-64.

Atarés, L., De Jesús, C., Talens, P., Chiralt, A. (2010). Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of Food Engineering*, **99**: 384-386.

Avella, M., Bruno, G., Errico M. E., Gentile, G., Piciocchi, N., Sorrentino, A., Volpe, M. G. (2007). Innovative Packaging for Minimally Processed Fruits. *Packaging Technology and Science*, **20**: 325-334.

Bayindirli, A. (2010). Enzymes in fruit and vegetable processing, Chemistry and Engineering Applications. CRC Press, USA, p.p: 20-26.

Bósquez, M. E. (2003). Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*Citrus latifolia Tanaka*). Tesis de doctorado. UAM.



Camacho, O. E. A. (2010). Evaluación del uso de nanopartículas lipídicas sólidas como modificadores de las propiedades de recubrimientos. Tesis de Licenciatura. FESC. UNAM.

Cerqueira, M. A., Lima, A. M., Teixeira, J. A., Moreira, R. A., Vicente, A. A. (2009). Suitability of novel galactomannans as edible coatings for tropical fruits. *Journal of Food Engineering*, **94**: 372-373.

Contreras-Padilla, M., Pérez-Torrero, E., Hernández-Urbiola, M., Hernández-Quevedo, G., Del real, L. A., Rivera-Muñoz, E. M., Rodríguez-García, M. E. (2011) Evaluation of oxalates and calcium in nopal pads (*Opuntia ficus-indica* var *redonda*) at different maturity stages. *Journal Food Compos Anal*, **24**: 38-43.

Cortez-Vega, W. R., Becerra-Prado, A. M., Marques, S. J., Graciano, F. G. (2008). Effect of L-ascorbic acid and sodium metabisulfite in the inhibition of enzymatic browning of minimally processed apple, *International Journal of Agricultural Research*, **3**: 196-201.

Díaz, M. E. M., Rodríguez, R. E. M., Díaz, R. C. (2007). Chemical characterization of *Opuntia dillenii* and *Opuntia ficus indica* fruits, *Food Chemistry*, **103**: 38-43.

Embuscado, M. E., Huber, K. C. (2009). *Edible Films and Coatings for Food Applications*. Springer. USA, p.p: 211-250.

Falcão- Rodrigues, M. M., Moldão-Martins, M., Beirão-da-Costa, M. L. (2007). DSC as tool to assess physiological evolution of apples preserved by edible coatings. *Food Chemistry*. **102**: 475-478.

Feliciano, R. P., Antunes, C., Ramos, A., Serra, A. T., Figueira, M. E., Duarte, C. M. M., de Carvalho, A., Bronze, M. R. (2010). Characterization of traditional and



exotic Apple varieties from Portugal. Part 1- Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. *Journal of Funcional Foods*, **2**: 35-45.

Fernández, P., André, V., Rieger, Jens., Kühnle, A. (2004). Nanoemulsion formation by emulsion phase inversión. *Colloids and surfaces*, **251**: 53-58.

Fernández, F. C. (2008). Caracterización reológica y optimización de la textura de purés de patata frescos y congelados. Efectos del proceso y adición de crioprotectores. Tesis doctorado. Universidad de Madrid.

Flores-Lozano, O. J., Alvarado-González, E., Aguilera-Ortíz, M., Reza-Vargas, M. C., Ramírez-Baca, P., Candelas-Cadillo, M. G. (2010). Inhibición del oscurecimiento enzimático y cambios texturales en la manzana *Red Delicious* tratada con jugo de naranja acida (*Citrus aurantium* L), empacada para almacenamiento en congelación, *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, **21**:1531-1538.

Galindo, P. M. J. (2011). Influencia del tamaño de partículas coloidales de α -tocoferol sobre la actividad polifenoloxidasas, aplicadas en manzana "*Red Delicious*" cortada-refrigerada. Tesis licenciatura. FESC. UNAM.

García, M. A., Martino, M. N., Zaritzky, N. E. (2000). Lipid addition to improve barrier properties of edible starch-based films and coatings, *Food Chemistry and Toxicology*, **65**: 941-947.

García, W. C. L., Giraldo, G. G. A., Hurtado, T. H., Mendivil, C. O. (2006). Cinética enzimática de la polifenoloxidasas del banano *Gros Michel* en diferentes estados de maduración, *Revista de la facultad de química farmacéutica*, **13**: 13-18.



García, B. C. I. (2011). Cambios en la concentración de polifenoles presentes en la guayaba (*Psidium Guajava*) variedad media china, recubierta con nanopartículas lipídicas sólidas y almacenada en refrigeración. Tesis Licenciatura. UNAM.

Guerra, M., Casquero, P. A. (2005). Evolución de la madurez de las variedades de manzana y pera en almacenamiento frigorífico conjunto con absorbedor de etileno. *Información Tecnológica*, **16**: 11-16.

Guerrero, E. C. A. (2009). Inhibición de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas extraída del banano (*Cavendish valery*) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. Tesis de maestría. Universidad Nacional de Colombia.

Guevara-Figueroa, T., Jiménez- Islas, H., Reyes-Escogido, M. L., Mortensen, A. G, Laurensen, B. B., We –Lin, L., De León-Rodríguez, A., Fomsgaard, S. I., Barba de la Rosa. (2010). Proximate composition, phenolic acid, and flavonoids characterization of comercial and wild nopal (*Opuntia* spp.) *Journal of Food composition and Analysis*, **23**: 525-532.

González-Portillo, M., Rocha-Guzmán, N. E., Simpson. J., Rodríguez-Guerra, R., Gallegos-Infante, J.A., Delgado, E., Gil-Vega, K. (2008). Determination of some apple (Starking and Golden Delicious) quality atributes in comparison with their mutants and their relationship with chillingunits. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, **6**(1): 27-28.

Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **13**: 572–584.



Hernández, M. C. (2004). Formación de nanoemulsiones O/W mediante el cambio en la composición-formulación por dilución con agua de sistemas próximos a la formulación óptima. Tesis licenciatura. Universidad de los Andes. Facultad de Ingeniería.

Hopkins, W.G. (1999). Introduction to plant physiology. Ed. The University of Western Ontario. P.p: 22-41.

Hun-Sik, C., Kwang-Deog, M. (2008). Browning characteristics of fresh-cut "Tsugaru" apples as affected by pre-slicing storage atmospheres, *Food Chemistry*, **114**:1433-1437.

Jiménez, M. E., Zambrano, M. L., Hernández, H., Aguilar, M. R. (2001). Effects of microwave energy on enzymatic browning of avocado paste. *Información Tecnológica*, **12** (6): 47-50.

Karbowiak, T., Debeaufort, F., Voilley, Andrée. (2007). Influence of thermal process on structure and functional properties of emulsion-based edible films. *Food Hydrocolloids*, **21**: 879-888.

Knee, M. (2008). Bases biológicas de la calidad de la fruta. Ed. Acribia, España, p.p: 122-143.

Lee, J. Y., Park, H. J., Lee, C. Y., Choi, W. Y. (2003). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *Society of Food Science and Technology*, **36**: 323-328.

León-Martínez, F. M., Méndez-Lagunas, L. L., Rodríguez-Ramírez, J. (2010). Spray drying of nopal mucilage (*Opuntia ficus-indica*): Effects on powder properties and characterization. *Carbohydrate Polymers*, **81**: 864-870.



Lozano, E. Jorge., (2006). Fruit manufacturing: Scientific Basis, Engineering properties, and deteriorative reactions of technological importance. Springer, USA, p.p: 213-238

Lu, S., Luo, Y., Turner, E., Feng, H. (2007). Efficacy of sodium chlorite as an inhibitor of enzymatic browning in apple slices, *Food Chemistry*, **104**: 824-829.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*, **79**: 727-747.

Mancera-López, M. M., Soto-Parra, J. M., Sánchez-Chávez, E., Yáñez-Muñoz, R. M., Montes-Domínguez, F., Balandrán-Quintana, R. R. (2007). Caracterización mineral de manzana “Red Delicious” y “Golden Delicious” de dos países productores. *Tecnociencia*, **1**: 6-8.

Márquez, C. C. J. (2009). Caracterización fisiológica, físico-química, reológica, nutraceútica, estructural y sensorial de la guanábana. Tesis de doctorado. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Facultad de ciencias agronómicas.

Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R. (2011). Advances in fresh-cut fruits and vegetables processing. CRC Press, USA, p.p: 190-280.

McCann, M. J., Gill, C. I. R., Brien, G. O., Rao, J. R., McRoberts, W. C., Hughes, P., McEntee, R., Rowland, I. R. (2007). Anti-cancer properties of phenolics from apple waste on colon carcinogenesis *in vitro*. *Food and Chemical Toxicology*, **45**: 1224-1230.



McHugh, T. H., Senesi, E. (2000). Apple Wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *Food Engineering and physical properties*. **65**: 480-484.

Medina-Torres, L., Brito-De la Fuente, E., Torrestiana-Sanchez, B., Katthain, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*), *Food Hydrocolloids*, **14**: 417-423.

Menéndez, A. O., Evangelista, L. S., Arenas, O. M., Bermúdez, T. K., del Villar, M. A., Jiménez, A. A. (2006). Cambios en la actividad de α -amilasa, pectinmetilesterasa y poligalacturonasa durante la maduración del maracuyá amarillo (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpa* degener). *Interciencia*, **31**: 728-732.

Mendoza, A. V. (2011). Nanoemulsión de mucílago de nopal *opuntia ficus* con dl- α -tocoferol, una nueva alternativa para preservar la manzana fresca cortada y conservada a bajas temperaturas. Tesis licenciatura. FESC. UNAM.

Middleton, E., Kandaswami, C., Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacological Reviews*. **52**: 673–751

Ne Cheong, Jean., Ping Tan, Chin., Che Man, Yaakob, B., Misni, Misran. (2008). α -Tocopherol nanodispersions: Preparation, characterization and stability evaluation. *Journal of Food Engineering*, **89**: 204-208.

Oboh, G., Puntel, R.L., Rocha, J. B. T. (2007). Hot pepper (*Capsicum annum*, *Tepin* and *Capsicum chinese*, *Habanero*) prevents Fe_2+ induced lipid peroxidation in brain: in vitro, *Food Chemistry*. **102**: 178–185.



Olivas, G. I., Mattinson, D. S., Barbosa-Cánovas, G. V. (2006). Alginate coatings for preservation of minimally processed “Gala” apples. *Postharvest Biology and Technology*, **45**: 89-95.

Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest Biology and Technology*. **50**:87-94.

Paredes, M. E. (2011). Establecimiento de las condiciones de centrifugación para la obtención de mucilago de nopal deshidratado. Tesis UNAM.

Pérez, C. L. E. (2003). Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera (*variedad Blanquilla*) mínimamente procesada. Tesis de doctorado. Universidad Politécnica de Valencia.

Perez-Gago, M. B., Serra, M., del Río, M. A. (2006). Color changes of fresh-cut apples coated with whey protein concentrate-based edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, **39**: 84-90.

Pilar-Cano, M., de Ancos, B., Sanchez-Moreno, C. (2010). Altas Presiones, Una nueva alternativa para la mejora de la calidad y seguridad en vegetales frescos cortados. *Mundo Alimentario*, **3**: 6-12.

Ponce, A. G., Roura, S. I., del Valle, C. E., Moreira, M. R. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *In vitro* and *in vivo* studies. *Postharvest Biology and Technology*, **49**: 294-296.

Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A. (2001) Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, **90**: 494–507.



Quevedo, P. K. L., Villegas, O. M. A., Gonzáles, R. H., Rodríguez, F. A. (2005). Calidad de nopal verdura mínimamente procesada. Efecto de temperatura e inhibidores del oscurecimiento. *Revista Fitotecnia Mexicana*. **28**: 261-270.

Quevedo, R., Díaz, O., Ronceros, B., Pedreschi, F., Aguilera, J. M. (2009). Description of the kinetic enzymatic browning in banana (*Musa cavendish*) slices using non-uniform color information from digital images. *Food Research International*, **42**: 1309-1314.

Qian, C., McClements, D.J. (2010). Formation of nanoemulsions stabilized by model food-grade emulsifiers using high-pressure homogenization: Factors affecting particle size, *Food Hydrocolloids*. **23**: 1-9.

Quintanilla-Carvajal, M. X., Camacho-Díaz, B. H., Meraz-Torres, L. S., Chanona-Pérez, J. J., Alamilla-Beltrán, L., Jiménez-Aparicio, A., Gutierrez-López, G. F. (2010). Nanoencapsulation: A new trend in food engineering processing, *Food Engineering*, **2**: 39-50.

Quintero, C. Juan., Falguera, Victor., Muñoz, H. Aldemar. (2010). Films and edible coatings: importance, and recent trends in fruit and vegetable value chain. *Revista Tumbaga*.**5**: 2-24.

Rao, Jiajia, McClements, D. J. (2010). Stabilization of phase inversion temperature nanoemulsions by Surfactant Displacement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**: 7059-7062.

Rocha, A. M., y Morais, A. M. (2001). Poyphenoxidase activity and total phenolic content as related to browning of minimally processed "Jonagred" apple. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82**: 120-126.



Rojas-Graü, M. A., Raybaudi-Massilia, R. M., Soliva-Fortuny, R. C., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., Martín-Belloso, O. (2007). Apple puree-alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, **45**: 254-264.

Rojas-Graü, Maria, A., Tapia, Maria, S., Martín-Belloso, Olga. (2008). Using polysaccharide-based edible coatings to maintain quality of fresh-cut Fuji apples. *LWT*. **41**: 139-145.

Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O. (2009). Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review. *Food Science and Technology*, **20**:438-442.

Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, **18**: 373-385.

Romero-Gomezcaña, N. R., Sánchez-García, P., Rodríguez-Alcázar, J., Saucedo-Veloz, C. (2006). Aplicación foliar de calcio y su relación con la calidad en frutos de mango cv. Hadden. *Agricultura Técnica*. **32**: 5-15.

Ruiz Hernández, F. (2009) Aplicación de películas comestibles a base de quitosano y mucílago de nopal en fresa (*Fragaria ananassa*) almacenada en refrigeración. Tesis Licenciatura. Universidad de las Américas Puebla.

Sáenz, C., Sepúlveda, E., Matsuhira, B. (2003). Opuntia spp mucilage's: a functional component with industrial perspectives, *Journal of Arid Environments*, **57**:275-290.



Saftner, R. A., Abbott, J. A., Bhagwat, A. A., Vinyard, B. T. (2005). Quality Measurement of Intact and Fresh-cut slices of Fuji, Granny Smith, Pink Lady, and GoldRush Apples. *Journal of Food Science*, **70**: 317-324.

Salinas- Hernández, R. M., González-Aguilar, G. A., Pirovani, M. E., Ulín-Montejo, F. (2007). Modelación del deterioro de productos vegetales frescos cortados. *Universidad y Ciencia*, **23**: 183-193.

Samman, S., Lyons Wall, P. M., Cook, N. C. (1998). Flavonoids and coronary heart disease: Dietary perspectives. In C. A. Rice-Evans & L. Packer (Eds.), *Flavonoids in health and disease* New York: Marcel Dekker. 469–482.

Sánchez, R. V. (2011). Efecto del recubrimiento a base de nanocápsulas de vitamina E, sobre el índice de oscurecimiento de rebanadas de manzana variedad Red Delicious. Tesis Licenciatura. FESC. UNAM.

Schalbart, P., Kawaji, M., Fumoto, K. (2010). Formation of tetradecene nanoemulsion by low energy emulsification methods. *International Journal of Refrigeration*. **30**: 1-13.

Schramm, Laurier. L. (2005). *Emulsions, foams, and suspensions fundamentals and Applications*. Wiley-VCH Alemania, pp. 448-453.

Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Bartolomeu, W. S. S., Clara, R., Avides, M. C., Quintas, M. A. C., Coimbra, J. S. R., Carneiro-da-Cunha, M. G., Vicente, A. A. (2011). Nanoemulsions of β -carotene using a high-energy emulsification-evaporation technique. *Journal of Food Engineering*, **42**:130-133.

Solé, I., Pey, C. M., Maestro, A., Gonzáles, C., Porrás, M., Solans, C., Gutiérrez, J. M. (2009). Nano-emulsions prepared by the phase inversión composition method:



Preparation variables and scale up. *Journal of Colloid and Interface Science*, **344**: 417-423.

Soliva-Fortuny, R. C., Grigelmo-Miguel, N., Odriozola-Serrano, I., Gorinstein, S., Martín-Belloso, O. (2001). Browning Evaluation of Ready-to-eat-apples as affected by modified atmosphere packaging, *Journal of Agricultural Food Chemistry* **49**: 3685-3690.

Soliva-Fortuny, R. C., Oms-Oliu, G., Martín-Belloso, O. (2002). Effects of ripeness stages on the storage atmosphere, color and textural properties of minimally processed apple slice. *Journal of Food Science*, **67**: 1958-1962.

Soliva-Fortuny, R. C., Lluch, M. A., Quiles, N., Grigelmo-Miguel, Martín-Belloso, O. (2003). Evaluation of Textural Properties and Microstructure During Storage of Minimally Processed Apples. *Journal of Food Science*, **68**: 312-316.

Sothornvit, R y Rodsamran, P. (2008). Effect of a mango film on quality of whole and minimally processed mangoes. *Postharvest Biology and Technology*, **47**:407-408.

Tomás-Barberón, F. A yRobins, R. J. (1997). Phytochemistry fruit and vegetables. Oxford Science Publicatios, p.p: 274-289.

Varela, P., Salvador, A., Fiszman, S. (2007). Changes in Apple tissue with storage time: Rheological, textural and microstructural analyses. *Journal of Food Engineering*. **78**: 622-627.

Villegas-Ochoa, M., Ayala-Zavala, J. F., Cruz Valenzuela, R., Hernández, J., González-Aguilar, G. A. (2005). Efecto antioxidante de extractos naturales en



manzana "Red Delicious". *Symposium: "Nuevas tecnologías de conservación y envasado de frutas y hortalizas. Vegetales frescos cortados"*, 25-30.

Villareal, M. N. (2009). Caracterización de la expresión poligalacturonasa durante la maduración de variedades de frutillas con diferente velocidad de ablandamiento. Tesis de Doctorado. Instituto de Investigaciones Biotecnológicas- Instituto Tecnológico de Chascomús.

Weiss, J., Takhistov, P., McClements, D. J. (2006). Functional Materials in Food Nanotechnology. *Journal of Food Science*, **71**: 107-115.

Yang, L., Paulson, A. T. (2000). Effects of lipids on mechanical and moisture barrier properties of edible gellan film. *Food Research International*, **33**: 571-578.

Yan, M., Zhao, Y. (2003). Barrier and Mechanical Properties of Milk Protein-Based Edible Films Containing Nutraceuticals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**: 1914-1918.