



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**EFFECTO DE UN RECUBRIMIENTO  
DE NANOPARTÍCULAS CON  $\alpha$ -TOCOFEROL  
SOBRE LA ACTIVIDAD DE FENILALANIN AMONIO-LIASA  
COMO INDICADOR DEL OSCURECIMIENTO  
EN MANZANA FRESCA CORTADA.**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**INGENIERA EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**SAMANTHA ALEJANDRA REAL SANDOVAL**

ASESORES:

Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza

Dr. David Quintanar Guerrero

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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



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

U.N.A.M.  
**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 un recubrimiento de nanopartículas con  $\alpha$ -tocoferol sobre la actividad de fenilalanina amonio-liasa como indicador del oscurecimiento en manzana fresca cortada

Que presenta la pasante: Samantha Alejandra Real Sandoval  
Con número de cuenta: 40705341-8 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 30 de enero de 2013.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

|                     | NOMBRE                                   | FIRMA |
|---------------------|--|-------|
| <b>PRESIDENTE</b>   | Dr. Juan Manuel Aceves Hernández         |       |
| <b>VOCAL</b>        | Dr. José Francisco Montiel Sosa          |       |
| <b>SECRETARIO</b>   | M. en C. Ma. De la Luz Zambrano Zaragoza |       |
| <b>1er SUPLENTE</b> | M. en C. Araceli Ulloa Saavedra          |       |
| <b>2do SUPLENTE</b> | M. en C. Juana Gutiérrez Bautista        |       |

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

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

***Ponerse en movimiento es importante,  
pero lo más importante es mantener el entusiasmo inicial,  
persistir y no rendirse a pesar de las dificultades.***

***Porque vamos a tener tropiezos.***

***La clave no está en no caerse  
sino en saber levantarse y continuar.***

*Paulo Coelho*

## AGRADECIMIENTOS

### ***A Dios...***

Por estar en todo tiempo conmigo guiándome, dándome la sabiduría y la fortaleza para concluir esta etapa. Gracias porque lo que has escrito acerca de mi es MARAVILLOSO!!! No me alcanzarían las palabras para agradecer todas tus bondades y amor.

### ***A mis padres...***

Les agradezco infinitamente todo el apoyo que me han brindado, los consejos, cuidados y regaños; definitivamente esto no habría sido posible sin ustedes.

Papá, eres todo un ejemplo de trabajo y esfuerzo, muchísimas gracias por la paciencia y el cariño que me has mostrado pero sobre todo, por confiar siempre en mí.

Mamá, gracias por impulsarme, por estar siempre pendiente de mí, por tus palabras de aliento, consejos, recomendaciones y por todo tu cariño. Gracias por apoyarme y escucharme en todo tiempo.

### ***A mi hermano...***

Por enseñarme que siempre es posible ir más lejos y superar las expectativas de quienes te rodean. Tú me alientas a soñar..

### ***A Ismael...***

Por apoyarme siempre, por animarme en los momentos difíciles, por ser incondicional, por soportarme y por quererme, muchísimas gracias.

### ***A Elisa y Rocío...***

Porque el paso por la Universidad fue mucho mejor con ustedes, por todos los momentos que pasamos juntas, por las desveladas y malpasadas que se hicieron menos con ustedes a lado, por todo lo que me enseñaron y por la amistad que me brindaron. Gracias.

### ***A mis amigos...***

Porque siempre logran poner una sonrisa en mí, porque simplemente han hecho mi vida muchísimo mejor.

### ***A mis asesores...***

Dra. Luz Zambrano y Dr. David Quintanar, por todo el apoyo y las facilidades que me proporcionaron para el desarrollo de este proyecto. Dra. Luz muchísimas gracias por la paciencia y los consejos. De igual forma agradezco el apoyo y orientación por parte de la Dra. Elsa Cortes y el Ing. Alfredo Álvarez.

Finalmente, agradezco a mi querida **Universidad Nacional Autónoma de México** por ser la institución que hizo toda esta experiencia posible: una institución pública de primer nivel, como deberían existir muchas y de la que estoy profundamente orgullosa.

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| RESUMEN .....   | i  |
| INTRODUCCIÓN .....  | ii |
| I. MARCO TEÓRICO .....  | 1  |
| 1.1. Generalidades de la manzana .....                                    | 1  |
| 1.1.1 Producción de manzana en México.....                                | 2  |
| 1.2 Alimentos frescos cortados.....                                       | 4  |
| 1.2.1 Cambios fisiológicos y bioquímicos .....                            | 10 |
| 1.2.2 Aumento de la velocidad de respiración.....                         | 17 |
| 1.3 Recubrimientos comestibles .....                                      | 20 |
| 1.4 Nanopartículas.....   | 22 |
| 1.4.1 Definición y clasificación.....                                     | 23 |
| 1.4.2 Aplicación de nanopartículas en la conservación de alimentos.....   | 24 |
| 1.5 Antioxidantes .....   | 27 |
| 1.5.1 Vitamina E .....  | 28 |
| II. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL.....                        | 31 |
| 2.1 Problema.....   | 31 |
| 2.2 Objetivo General .....  | 31 |
| 2.2.1 Objetivos Particulares.....   | 31 |
| 2.3 Selección y justificación de variables.....                           | 32 |
| 2.4 Diseño Experimental.....  | 33 |
| 2.4.1 Preparación de los sistemas nanopartículados .....                  | 33 |
| 2.5 Estabilizantes.....   | 33 |
| 2.5.1 Selección y control de la materia prima.....                        | 35 |
| 2.5.2 Acondicionamiento de la manzana fresca cortada .....                | 36 |
| 2.5.3 Almacenamiento.....   | 37 |
| 2.5.4 Determinación de pérdida de peso.....                               | 38 |
| 2.5.5 Determinación de actividad de la enzima fenilalanin amonio-liasa... | 38 |
| 2.5.6 Determinación de Respiración.....                                   | 39 |
| 2.5.7 Determinación de color.....   | 39 |
| 2.5.8 Tratamiento estadístico .....                                       | 40 |

|   |    |
|---|----|
| III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....                        | 42 |
| 3.1    Actividades Previas.....                                     | 42 |
| 3.1.1    Caracterización del equipo de refrigeración .....          | 42 |
| 3.1.2    Curva Patrón .....   | 42 |
| 3.1.3    Medición de la estabilidad de las nanopartículas .....     | 43 |
| 3.1.4    Microscopia electrónica de barrido .....                   | 44 |
| 3.2    Determinación de pérdida de peso .....                       | 45 |
| 3.3    Determinación de actividad de fenilalanin amonio-liasas..... | 47 |
| 3.4    Determinación de color .....                                 | 49 |
| 3.4.1    Parámetros de color CIE L*, a* y b* .....                  | 49 |
| 3.4.2    Índices de color .....                                     | 53 |
| 3.5    Determinación de respiración .....                           | 56 |
| IV. CONCLUSIONES .....  | 59 |
| V. BIBLIOGRAFÍA.....  | 60 |



## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1. Esquema general de preparación de fruta fresca cortada .....   | 6  |
| Figura 2. Daño a nivel celular originado por la operación de corte .....   | 12 |
| Figura 3. Esquema de las principales rutas y las enzimas involucradas en la biosíntesis de compuestos fenólicos.....       | 15 |
| Figura 4. Nanoesfera .....   | 23 |
| Figura 5. Nanocápsula.....   | 24 |
| Figura 6. Aplicación de la nanotecnología en la ciencia de los alimentos.....  | 26 |
| Figura 7. Estructura química de $\alpha$ -tocoferol vitamina E.....  | 29 |
| Figura 8. Preparación de sistemas nanoparticulados .....   | 34 |
| Figura 9. Penetrómetro manual.....   | 35 |
| Figura 10. Refractómetro manual.....   | 36 |
| Figura 11. Caracterización equipo de refrigeración.....  | 37 |
| Figura 12. Balanza .....   | 38 |
| Figura 13. Espectrofotómetro.....  | 39 |
| Figura 14. Analizador de O <sub>2</sub> .....  | 39 |
| Figura 15. Caja negra para el análisis de color.....   | 40 |
| Figura 16. Curva estándar de ácido trans cinámico a 290 nm.....  | 43 |
| Figura 17. Micrografías de los recubrimientos aplicados sobre manzana fresca cortada .....                                 | 45 |
| Figura 18. Pérdida de peso en la manzana fresca cortada.....   | 46 |
| Figura 19. Actividad de fenilalanin amonio-liasa (FAL) en manzana fresca cortada.....                                      | 47 |
| Figura 20. Luminosidad de la manzana fresca cortada durante el almacenamiento.....   | 51 |
| Figura 21. Parámetro a* de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.....   | 52 |
| Figura 22. Parámetro b* de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.....   | 52 |
| Figura 23. Índice de oscurecimiento de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.....                               | 54 |
| Figura 24. Manzana fresca cortada recubierta con diferentes sistemas nanoparticulados, en el día 15 de almacenamiento..... | 54 |
| Figura 25. Ángulo de Hue de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.....  | 55 |

Figura 26. Concentración de oxígeno en el espacio de cabeza de manzana fresca cortada. .... 56

Figura 27. Velocidad de respiración  $O_2$   $ml\ kg^{-1}\ h^{-1}$  de manzana fresca cortada .... 57

## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| Tabla 1. Composición química de la manzana .....                                 | 2  |
| Tabla 2. Producción agrícola de manzana a nivel nacional .....                   | 3  |
| Tabla 3. Requisitos importantes en el procesado de frutas frescas cortadas ..... | 8  |
| Tabla 4. Presentaciones de fruta fresca cortada comunmente comercializadas . . . | 9  |
| Tabla 5. Selección de variables. ....  | 32 |
| Tabla 6. Temperatura del refrigerador a diferentes valores del termostato.....   | 42 |
| Tabla 7. Caracterización de los sistemas nanoparticulados. ....                  | 43 |

## RESUMEN

Los vegetales frescos cortados se deterioran más rápido que los productos intactos como resultado directo de las heridas asociadas al procesamiento. Una respuesta inicial de las heridas (y muchas otras tensiones bióticas y abióticas) es la síntesis de “*novo*” y aumento de la actividad de fenilalanin amonio-liasas E.C. 4.3.1.5 (FAL), la primera enzima involucrada en la ruta de fenilpropanoides, produciendo el oscurecimiento superficial y por lo tanto, la disminución en la vida útil y la calidad visual del producto. Sin embargo, la aplicación de un recubrimiento que limite el suministro de oxígeno afecta la síntesis de la FAL y por consiguiente las modificaciones en el color. Por lo tanto el objetivo de esta investigación fue establecer el efecto de recubrimientos de talla submicrónica sobre la conservación de manzana *Red Delicious* fresca cortada, siguiendo la actividad de la FAL y la velocidad de respiración con el fin de tener una prueba del mecanismo de reducción del índice de oscurecimiento. Para cumplir con el objetivo en una primera etapa, se llevó a cabo la preparación de los sistemas de talla submicrónica, a fin de garantizar su estabilidad con base en el tamaño de partícula y potencial zeta, en la segunda etapa se establecieron las condiciones óptimas de almacenamiento y en la tercera y última etapa se llevó a cabo el estudio de la actividad de la FAL en el que el control alcanzó 30 unidades de actividad mientras que las manzanas recubiertas no superaron las 6 unidades, de igual forma se realizó el seguimiento de los de los parámetros e índices de color encontrando que el índice de oscurecimiento (IO) presentó cambios significativos ( $p < 0.05$ ) entre el control y las manzanas recubiertas y finalmente se evaluó la velocidad de respiración de las manzanas frescas cortadas. Es importante destacar que la aplicación de nanopartículas reguló la actividad de la FAL y en consecuencia disminuyó el oscurecimiento de las manzanas frescas cortadas, además el empleo de vitamina E en las nanocápsulas mostró una notable eficacia permitiendo que la calidad visual del producto se mantuviera a lo largo del periodo de almacenamiento.

## INTRODUCCIÓN

La manzana es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial, debido fundamentalmente a su facilidad de adaptación a diferentes climas y suelos, a su valor alimenticio y terapéutico y principalmente a la calidad y diversidad de productos que se pueden obtener.

Por lo que su transformación y aprovechamiento representa una buena opción para la industria de alimentos frescos. Es importante considerar que la presentación más aceptada por consumidores son las rodajas de manzana como aperitivo (Saftner y col., 2005).

El estilo de vida de los consumidores modernos unido al deseo de adquirir productos naturales y con beneficios para la salud ha hecho que la producción y consumo de frutas con proceso mínimo, como es el caso de las frutas cortadas, se haya visto incrementado en los últimos años (Rojas-Graü, 2006).

Las frutas frescas cortadas se definen como frutas y hortalizas procesadas para aumentar su funcionalidad sin cambiar de forma apreciable sus propiedades originales. Generalmente se especifican como hortalizas y frutas frescas limpias, troceadas y envasadas, que mantienen sus propiedades naturales y que están listas para ser consumidas(Contreras-Salmeron, 2010).

El procesamiento para la obtención de frutas frescas cortadas incluye la clasificación, lavado, selección, pelado, corte, picado, y finalmente el embalaje. Entre las operaciones unitarias, el pelado y troceado constituyen etapas críticas que tienen una influencia determinante en la calidad del producto final y que por lo tanto deben llevarse a cabo produciendo el mínimo daño posible al tejido, ya que la rotura de éste por el corte supone un incremento de la respiración y transpiración que conducen a un rápido deterioro del producto, con la consecuente pérdida de sus características sensoriales y nutricionales originales además de aumentar la superficie de tejido susceptible a alteraciones microbianas (Rojas-Graü M. A., 2006).

El propósito de los alimentos vegetales frescos cortados es proporcionar al consumidor un producto fresco, con una vida útil prolongada y, al mismo tiempo garantizar la inocuidad de los mismos, manteniendo una alta calidad nutritiva y sensorial por lo que la aplicación de técnicas que permitan controlar los factores alterantes en frutas y hortalizas frescas cortadas es actualmente el objetivo principal de muchas investigaciones en el campo de la ciencia y tecnología de los alimentos (Pérez-Cabrera, 2003; Watada & Qi, 1999).

Los síntomas de deterioro de productos frescos cortados incluyen cambios en la textura (flácido debido a pérdida de agua en los tejidos); en el color, especialmente atribuido a oscurecimiento enzimático en las superficies cortadas y riesgos de contaminaciones microbiológicas. Todos estos cambios van en detrimento de la vida útil de estos productos (Solvía-Fortuny & Martín-Belloso, 2003).

El color es uno de los principales atributos que caracteriza la frescura de los vegetales. El oscurecimiento en la fruta fresca modifica sus características organolépticas reduciendo su calidad y limitando su vida útil y comercialización (Toivonen & Brummell, 2008).

Las heridas (p.e. cortado, rebanado o picado) en los tejidos de las frutas producen una cicatriz que migra a través de estos y genera la síntesis de enzimas en la ruta metabólica responsable para aumentar la producción de compuestos fenólicos y el oscurecimiento (Choi y col., 2005).

Una respuesta inicial a las heridas (y muchas otras tensiones bióticas y abióticas) es la síntesis de “*novo*” y el aumento de la actividad de la fenilalanin amonio-liasa E.C. 4.3.1.5 (FAL), la primer enzima involucrada en la ruta de fenilpropanoides. Por esta razón cuando la manzana se corta, la sección cortada por lo general se oscurece debido a la biosíntesis de “*novo*” de polifenoles. La biosíntesis es considerada un factor limitante para el oscurecimiento enzimático (Hisaminato, Murata, & Seiichi, 2001).

La tecnología de recubrimientos comestibles es un método prometedor para preservar la calidad de los frutos frescos cortados. La investigación y los esfuerzos de desarrollo están dando lugar a una mejora de las características funcionales de

los recubrimientos, que dependen de las propiedades de la fruta que se conserva o mejora.

Tradicionalmente, los recubrimientos comestibles se han utilizado como una barrera para reducir al mínimo la pérdida de agua y retrasar el envejecimiento natural de los frutos recubiertos través de permeabilidad selectiva a los gases. Sin embargo, la nueva generación de recubrimientos comestibles está especialmente diseñada para permitir la incorporación de antioxidantes, vitaminas productos nutracéuticos por medio de la aplicación de tecnologías prometedoras como la nanoencapsulación (Vargas y col., 2008).

Las nuevas tendencias se han centrado en la gran funcionalidad de recubrimientos nanoparticulados (Zambrano-Zaragoza y col., 2010), que se desarrollan mediante el uso de técnicas que, en la actualidad, casi no se ha aplicado en los sistemas alimentarios (Vargas y col., 2008); lo que representa un gran campo de investigación.

En este trabajo se pretende establecer el efecto de un recubrimiento de talla submicrónica sobre la conservación de manzana *Red Delicious* fresca cortada, siguiendo la actividad de la fenilalanin amonio-liasa y en función a esto, tener una prueba del mecanismo de reducción del índice de oscurecimiento bajo diferentes sistemas nanoparticulados con  $\alpha$ -tocoferol.

## I. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Generalidades de la manzana

La manzana es una de las frutas de mayor consumo y una excelente fuente de vitaminas (C, E) y minerales, especialmente potasio. La amplia variedad de manzanas disponible en el mercado permite que pueda ser consumida durante todo el año(Contreras, 2006).

La manzana es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial, debido fundamentalmente a su facilidad de adaptación a diferentes climas y suelos a su valor alimenticio y terapéutico y principalmente a la calidad y diversidad de productos que se pueden obtener (Infoagro, 2010).

Es un pomo, de tejido poroso debido a la presencia de espacios intercelulares que se mantienen conectados entre sí y que llegan a ocupar el 25-30% del volumen total de este, de color variable (rojo, amarillo, verde) y de forma entre esférica achatada y troncocónica de pulpa blanca, aromática y con sabor agradable. El corazón posee de 4 a 8 semillas pequeñas, de cubiertas marrón oscuro y brillantes. Las variedades de manzana se clasifican de acuerdo con el color de su epidermis y dentro de ellas por su porosidad y características de la coloración(Contreras-Salmeron, 2010).

Entre las variedades existentes, se encuentra la *Red Delicious*; de origen estadounidense que proporciona frutos grandes y alargados, color de piel rojo brillante con un punteado amarillo. Su carne es jugosa, blanda, de sabor dulce, ligeramente ácida y muy aromática.

Esta variedad tiene crecimiento vertical y con tendencia a dar ángulos agudos en la inserción de las ramas. Es autoestéril y de floración semi-tardía. Es sensible al moteado, araña roja y pulgón lanífero. Fruto de excelente conservación (Infoagro, 2010).

Desde el punto de vista nutritivo la manzana es una de las frutas más completas y enriquecedoras en la dieta. Un 86% de su composición es agua. Los azúcares, la



mayor parte fructosa (azúcar de la fruta) y en menor proporción, glucosa y sacarosa, de rápida asimilación en el organismo, son los nutrientes más abundantes después del agua. Es fuente discreta de vitamina E o tocoferol y aporta una escasa cantidad de vitamina C. Es rica en fibra y entre su contenido mineral sobresale el potasio(Consumer, 2010).

Tabla 1. Composición química de la manzana (Moreiras y col., 2006)

| Componente               | Valor por 100 g.<br>de porción comestible |
|--------------------------|---|
| <b>Humedad (g)</b>       | 85.7                                      |
| <b>Carbohidratos (g)</b> | 12  |
| <b>Fibra (g)</b>         | 2   |
| <b>Proteína (g)</b>      | 0.3                                       |
| <b>Lípidos (g)</b>       | 0   |
| <b>Potasio (mg)</b>      | 120                                       |
| <b>Calcio (mg)</b>       | 5   |
| <b>Magnesio (mg)</b>     | 5   |
| <b>Vitamina C (mg)</b>   | 10  |
| <b>Vitamina E (µg)</b>   | 200                                       |
| <b>Carotenos (µg)</b>    | 30  |

### 1.1.1 Producción de manzana en México

En México la superficie sembrada de manzana *Red Delicious* asciende a 18,626.48 hectáreas, las cuales aportan una producción 188,806.66 toneladas al año; esto la coloca en el segundo lugar de producción agrícola a nivel nacional después de la *Golden Delicious* (Tabla 2). Por lo que su transformación y

aprovechamiento representa una buena opción para la industria de alimentos frescos.

Tabla 2. Producción agrícola de manzana a nivel nacional (SAGARPA, Servicio de información agroalimentaria y pesquera, 2010).

| Variedad                  | Superficie sembrada (Ha) | Superficie cosechada (Ha) | Producción (Ton) | Rendimiento (Ton/Ha) | Valor producción (Miles de pesos) |
|---------------------------|--------------------------|---------------------------|------------------|----------------------|-----------------------------------|
| <b>Criolla</b>            | 7,494.50                 | 7386.00                   | 28,818.87        | 3.90                 | 80,919.03                         |
| <b>Golden Delicious</b>   | 25,731.09                | 23,350.12                 | 280,105.19       | 12.00                | 1,191,533.66                      |
| <b>Red Delicious</b>      | 18,626.48                | 18,174.83                 | 188,808.66       | 10.39                | 825,935.71                        |
| <b>Rome Beauty</b>        | 2,879.75                 | 2630.75                   | 29,856.88        | 11.35                | 98,142.78                         |
| <b>Starking</b>           | 2,373.10                 | 2,367.10                  | 10,808.40        | 4.57                 | 70,347.60                         |
| <b>Starking Delicious</b> | 71.00                    | 71.00                     | 249.40           | 3.51                 | 1,273.85                          |

Recientemente las manzanas frescas cortadas han surgido como un bocadillo popular en establecimientos de servicio de alimentos, programas de almuerzo escolar, y para el consumo familiar; por lo que se prevé que el mercado de las manzanas frescas cortadas siga creciendo a medida que los consumidores demanden bocadillos frescos, útiles y nutritivos. Sin embargo, la industria de la fruta fresca cortada aún esta obstaculizada por el deterioro en la calidad del producto causado por desórdenes fisiológicos, microbiológicos y sensoriales. Cuando las manzanas se cortan, la superficie cortada se oscurece, esto reduce no sólo la calidad visual, también da lugar a cambios indeseables en el sabor y la pérdida de nutrientes, lo que representa un gran problema en la industria alimentaria, pues en el mercado se reduce el valor del producto y en algunos

casos se da la exclusión total del producto alimenticio de algunos mercados. El control del oscurecimiento en la superficie cortada es crítica para mantener la calidad y seguridad del producto fresco cortado (Quevedo y col., 2009).

## 1.2 Alimentos frescos cortados

El estilo de vida de los consumidores modernos unido al deseo de adquirir productos naturales y beneficiosos para la salud ha hecho que la producción y consumo de frutas con proceso mínimo, como es el caso de las frutas cortadas, se haya visto incrementado en los últimos años (Rojas-Graü, 2006).

Existen numerosos términos para referirse a esta clase de productos como: dispuestos para consumir o utilizar, pre-cortados, mínimamente procesados, de IV gamma, entre otros, dependiendo del país o área en que se elaboren (Montiel-Rosales, 2009), sin embargo en el presente trabajo se referirá a ellos como frescos cortados.

Este tipo de productos se pueden definir como frutas y hortalizas procesadas para aumentar su funcionalidad sin cambiar de forma apreciable sus propiedades originales. Generalmente se especifican como hortalizas y frutas frescas limpias, troceadas y envasadas, que mantienen sus propiedades naturales y que están listas para ser consumidas. Este tipo de productos se envasan generalmente en atmósferas modificadas cuya composición depende de las características del producto, además requieren ser conservados a bajas temperaturas (2-4°C), mostrando una vida útil entre 7 y 10 días (Rojas-Graü, 2006).

La Asociación Internacional de Productos Frescos Cortados (IFPA por sus siglas en inglés) define a estos productos como frutas o vegetales que han sido pelados y/o cortadas para generar un producto 100% aprovechable que es embolsado o pre-empaquetado para ofrecer al consumidor nutrición, comodidad y sabor mientras mantiene su frescura (Rico y col., 2007).

El procesamiento para la obtención de frutas frescas cortadas incluye la clasificación, lavado, selección, pelado, corte, picado, y finalmente el embalaje.

Debido a que el procesamiento mínimo genera deterioro en la calidad asociada con pérdida de agua, ablandamiento por rotura de tejidos, posible contaminación microbiana, aumento de la velocidad de respiración con la consecuente producción de etileno, y oscurecimiento en la superficie cortada, los productos mínimamente procesados se vuelven más perecederos (Lee y col., 2003), pues los cambios fisiológicos son responsables de cambios bioquímicos que conllevan la degradación de las propiedades sensoriales de la fruta fresca cortada, aunque son numerosos los factores que influyen en los procesos de deterioro. Factores como variedad, estado de madurez en la recolección, manipulación post-cosecha, acondicionamiento de la materia prima, así como las condiciones de almacenamiento del producto terminado, intervienen directamente en la calidad final de los productos frescos cortados(Oms-Oliu, 2008).

En la Figura 1 se observa el esquema general de preparación de frutas frescas cortadas. No obstante, según el tipo de fruta que se elabore, se deberá aplicar un tratamiento específico para las distintas operaciones y métodos de conservación.

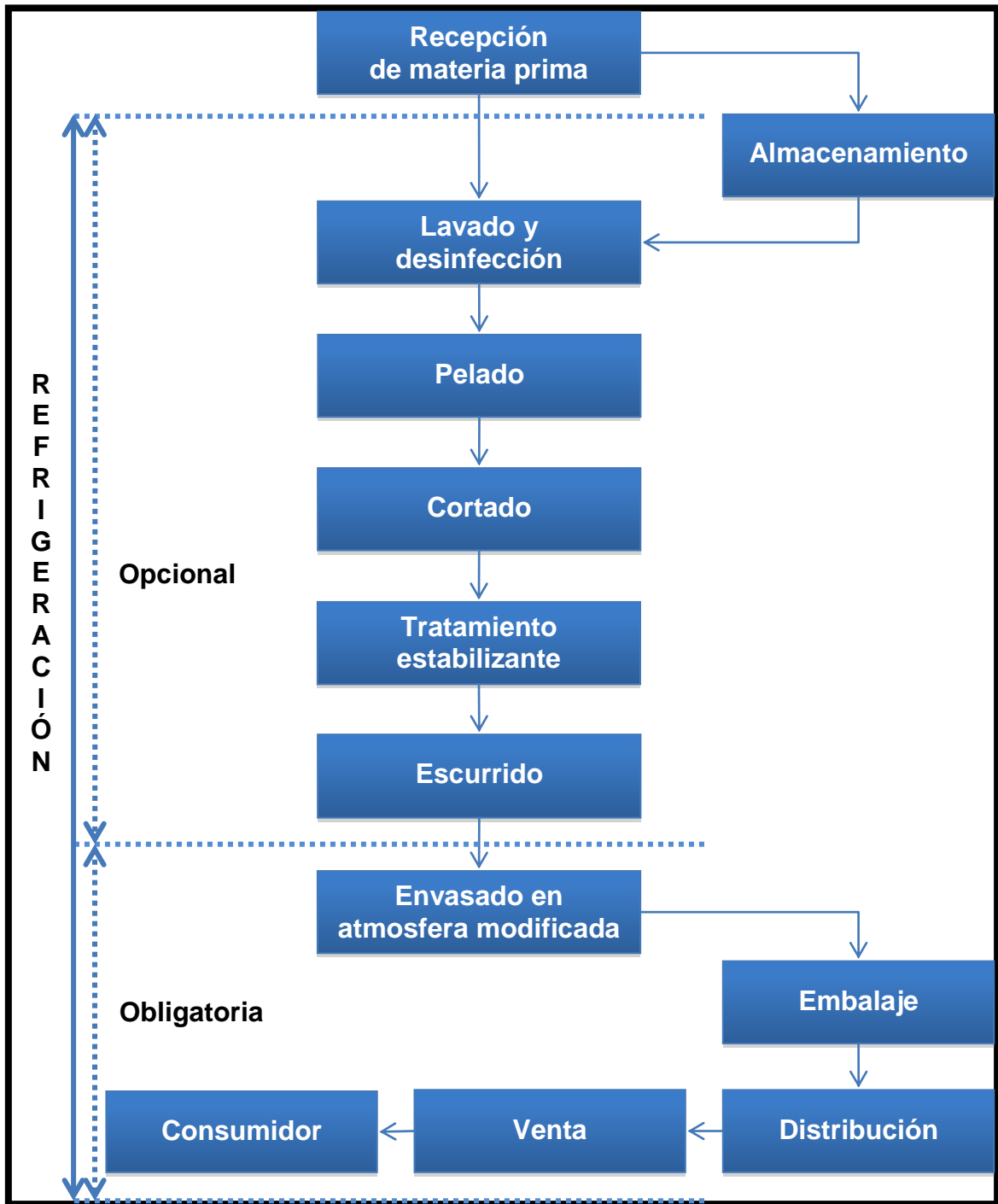


Figura 1. Esquema general de preparación de fruta fresca cortada (Oms-Oliu, 2008).

La elaboración de productos vegetales frescos cortados comienza por una buena selección de la materia prima. La misma debe recolectarse cuidadosamente, en

óptimas condiciones higiénicas y con el adecuado grado de madurez. Este último es uno de los factores más importantes a tener en cuenta tanto en el momento de la recolección como del procesado, ya que tiene una gran influencia sobre la calidad del producto final. Un estado de madurez avanzado del fruto favorece la pérdida de textura y el oscurecimiento enzimático del producto cortado. En cambio, un estado intermedio de madurez podría minimizar y retardar el desarrollo de los procesos fermentativos que limitan la vida útil de manzana fresca cortada, además de mantener las características sensoriales propias de la fruta (Soliva-Fortuny y col., 2004).

Entre las operaciones unitarias, el pelado y troceado constituyen etapas críticas que tienen una influencia determinante en la calidad del producto final y que por lo tanto deben llevarse a cabo produciendo el mínimo daño posible al tejido, ya que la rotura de éste por el corte supone un incremento de la respiración y transpiración que conducen a un rápido deterioro del producto, con la consecuente pérdida de sus características sensoriales y nutricionales originales. El corte también aumenta la superficie de tejido susceptible de alteraciones microbianas (Rojas-Graü, 2006).

La aplicación de técnicas que permitan controlar los factores alterantes en frutas y hortalizas frescas cortadas es actualmente el objetivo principal de muchas investigaciones en el campo de la ciencia y tecnología de los alimentos. Por lo que deben aplicarse técnicas de conservación, que combinadas o no, puedan mantener o mejorar las características originales del producto, alargando su vida útil sin que se pierdan las características sensoriales y nutricionales, asegurando además su estabilidad microbiológica. En este sentido es importante mencionar que la elaboración, distribución y comercio de productos frescos cortados requiere el mantenimiento ininterrumpido de la cadena de refrigeración, desde la producción hasta el punto de venta. Un adecuado control a través de la cadena de frío reduce la proliferación microbiana aunque los microorganismos psicrótrofos podrían crecer lentamente e incluso producir la alteración y la consiguiente reducción de la vida útil del producto. De este modo, para prevenir el crecimiento

de microorganismos y el desarrollo de alteraciones microbiológicas en el producto, y así alargar la vida útil del producto final, se debe llevar a cabo un control de la microflora mediante una higiene muy estricta durante la manipulación de la fruta y el almacenamiento en refrigeración (Oms-Oliu, 2008).

El propósito de los alimentos vegetales frescos cortados es proporcionar al consumidor un producto fresco, con una vida útil prolongada y, al mismo tiempo garantizar la inocuidad de los mismos, manteniendo una alta calidad nutritiva y sensorial. La calidad de las frutas mínimamente procesadas es función de la de los frutos enteros de su grado de madurez cuando se cortan o trocean, del método de preparación y de las condiciones posteriores de manipulación y por último de las posibilidades del mantenimiento de esta calidad hasta el momento del consumo. La Tabla 3 resume algunos de los requisitos fundamentales para el mantenimiento de la calidad durante el procesamiento de frutas y hortalizas frescas cortadas.

Tabla 3. Requisitos importantes en el procesado de frutas frescas cortadas (adaptado de Ahvenainen, 1996).

| Etapa                           | Requisitos  |
|---------------------------------|---|
| <b>Materias primas</b>          | Alta calidad de las materias primas: elección apropiada de la variedad, adecuadas prácticas de cultivo y condiciones adecuadas de cosecha y almacenamiento.<br>Lavado y/o limpieza antes del procesamiento.   |
| <b>Durante el procesamiento</b> | Temperaturas en el procesado (<10°C), locales climatizados.<br>Operaciones de pelado, corte, o troceado con instrumentos afilados de acero inoxidable (evitando el aporte de iones metálicos).<br>Aplicación estricta de las buenas prácticas de manufactura e higiene, uso de análisis de Hazard y principios de control de puntos críticos.<br>Uso de aditivos para desinfectar o en la prevención del oscurecimiento |
| <b>Producto terminado</b>       | Materiales y métodos de envasado adecuados.<br>Mantener durante la distribución y entrega temperatura y humedad correctas.  |

Se percibe que la industria de fruta fresca cortada en los próximos años tendrá un crecimiento sin precedentes; por esta razón, muchos de los principales fabricantes de ensaladas frescas se han dirigido al desarrollo de fruta fresca cortada como parte sus planes de negocio a largo plazo (Sandhya, 2010). En la Tabla 4 que se muestra a continuación se exhiben algunos ejemplos de frutas frescas comercializadas actualmente.

Tabla 4. Presentaciones de fruta fresca cortada comunmente comercializadas (Perez-Cabrera, 2003).

| Presentación            | Frutas  | Geometría                              | Peso (g) | Vida útil (días) | Punto de venta <sup>1</sup>                |
|-------------------------|---|--|----------|------------------|--|
| <b>Una sola fruta</b>   | Piña, Melón, Papaya<br><i>Var. Maradol</i>        | Cubos                                  | 650-680  | 1                | Supermercados:<br>Marca libre              |
|                         | Naranja   | Rodajas                                | 120      | 1                | Servicios de catering y restaurantes       |
|                         | Bayas:<br>Frambuesas, Arándanos, Grosellas, Moras | Enteras                                | 200-300  | 5                | Supermercados:<br>Marca libre              |
|                         | Pera, Manzana, Kiwi, Mango, Piña, Papaya          | Rodajas, cubos, láminas                | 175      | 5                | Supermercados:<br>Marca registrada         |
| <b>Coctel de frutas</b> | Manzana, piña, Naranja, Uvas.                     | Cubos, prisma rectangular, trapezoides | 280      | 6                | Supermercados:<br>Marca libre y registrada |

<sup>1</sup> Temperatura de almacén y venta 0 a 5 °C.



### 1.2.1 Cambios fisiológicos y bioquímicos

Los vegetales frescos cortados se deterioran mucho más rápidamente que los productos intactos como resultado directo de las heridas asociadas al procesamiento, el cual conduce a un número de cambios físicos y fisiológicos que afectan la calidad del alimento (Saltveit, 1997). Los síntomas de deterioro de productos frescos cortados incluyen cambios en la textura (flácido debido a pérdida de agua en los tejidos); en el color, especialmente atribuido a oscurecimiento enzimático en las superficies cortadas y riesgos de contaminaciones microbiológicas. Todos estos cambios van en detrimento de la vida útil de estos productos (Rojas-Graü, 2006). La respuesta fisiológica debido a las heridas usualmente es en corto tiempo (Pereyra L., 2005).

La intensidad de la respuesta al procesado mínimo se ve afectada por un gran número de factores, entre los más importantes se encuentran la especie y variedad del fruto, las concentraciones de  $O_2$  y  $CO_2$ , la presión de vapor de agua y la presencia de inhibidores. Para conseguir productos frescos de calidad las alteraciones fisiológicas debidas a las heridas en el tejido del fruto deben reducirse al mínimo (Robert y col., 2003).

Operaciones, como el pelado, cortado y/o rebanado son fundamentales para delimitar la vida útil de los productos de las frutas frescas cortadas.

El impacto de la herida se refleja en la activación metabólica, cada vez más evidente con el aumento en la velocidad de respiración y, en algunos casos, la producción de etileno.

El contenido de compuestos fenólicos en la fruta fresca cortada tiene importancia por su contribución a las propiedades antioxidantes de la misma y por su participación como sustratos del oscurecimiento enzimático. El pelado y cortado de la fruta provoca una descompartimentación de las enzimas y sustratos favoreciendo su interacción.

La degradación de compuestos antioxidantes en fruta fresca cortada se puede ver favorecida durante el procesado debido a la exposición al oxígeno ( $O_2$ ) y la luz.

Varios estudios sobre la evaluación de la capacidad antioxidante en frutos han revelado aspectos interesantes en relación al comportamiento de los constituyentes antioxidantes.

Otro cambio muy evidente es la pérdida de firmeza debida principalmente a la acción de enzimas proteolíticas y pectolíticas sobre los componentes de la pared celular. Durante las operaciones de procesado y, especialmente, tras el cortado, los tejidos vegetales sufren una pérdida de firmeza debido a la hidrólisis enzimática de las sustancias pépticas que forman parte de la pared celular. Enzimas como la pectino-metil-esterasa (PME) y poligalacturonasa (PG) juegan un papel importante en el ablandamiento de los tejidos. La PME produce la hidrólisis de la pectina, formando metanol y ácido péctico, el cual puede ser despolimerizado por la PG, desestabilizando las estructuras celulares. No obstante, la actividad enzimática de los tejidos cortados puede depender del estado fisiológico del fruto entero.

El estrés que sufren los tejidos durante las operaciones de pelado y cortado podría aumentar la permeabilización de las membranas y así el intercambio celular de fluidos con la consecuente inundación de los espacios intercelulares. Este daño celular provoca una descompartimentalización de enzimas y sustratos, causando un aumento de la actividad enzimática y pérdida de fluidos Figura 2.

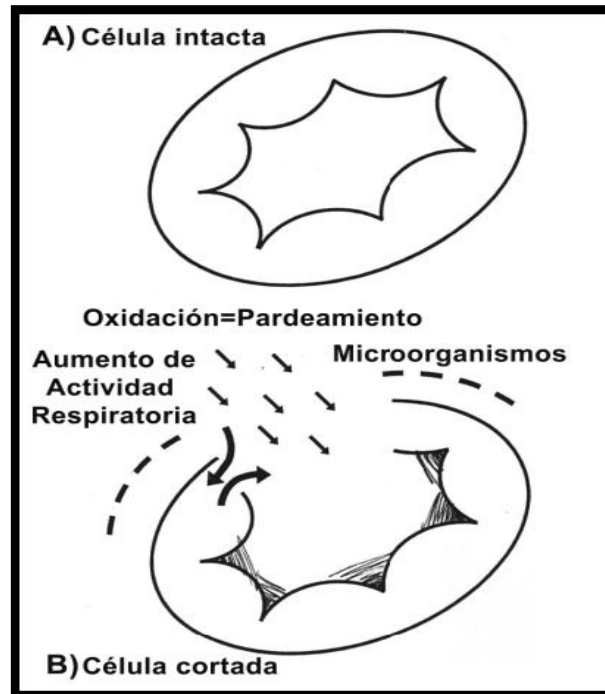


Figura 2. Daño a nivel celular originado por la operación de corte (Perez-Cabrera, 2003).

### 1.2.1.1 *Oscurecimiento enzimático*

El color es uno de los principales atributos que caracteriza la frescura de los vegetales. El oscurecimiento en la fruta fresca modifica sus características organolépticas reduciendo su calidad y limitando su vida útil y comercialización. Las heridas que se producen en las frutas y vegetales por efecto del manejo, cortado o rebanado modifican la actividad metabólica y enzimática de esta, provocando un aumento en la producción de compuestos fenólicos y con ello sustrato disponible para las polifenoloxidasas, responsables del oscurecimiento en frutos.

Es importante destacar que los compuestos fenólicos desempeñan funciones importantes en los vegetales, tales como proteger frente a radiación ultravioleta (estilbenos), actuar como agentes antimicrobianos (ácido salicílico), al igual que sellar las heridas por lignificación (ligninas)(Vermerris & Nicholson, 2006). De igual forma contribuyen a la calidad sensorial, color, astringencia, amargor y aroma de frutas y hortalizas (Tomás-Barberán y Espín, 2001).

Los compuestos fenólicos son sintetizados por varias rutas diferentes. Las dos vías básicas son la ruta del ácido shikimico y la del ácido malónico. La primera participa en la biosíntesis de compuestos fenólicos en la mayoría de las plantas. Mientras que la vía del ácido malónico es de menos importancia en las plantas superiores (Galindo, 2011).

Las clases más abundantes de compuestos fenólicos son derivados de la fenilalanina a través de ácido cinámico, la fenilalanina amonio-liasa (FAL) cataliza la reacción de liberación de la molécula de amoníaco, además, forma una doble ligadura entre carbono y carbono. Se encuentra en un punto entre el metabolito primario y secundario; debido a esto la reacción que cataliza es un paso importante en la regulación de la formación de muchos compuestos fenólicos (Saltveit y col., 2010) es decir, es la enzima limitante de los fenilpropanoides, ruta que se activa principalmente por factores ambientales como bajos niveles de nutrientes, infección fúngica y daños en los tejidos (Hiromi & Homma, 2001; Choi y col., 2005).

Se han llevado a cabo numerosas investigaciones enfocadas a controlar el oscurecimiento enzimático, en el caso de la lechuga existen estudios realizados sobre la actividad de la FAL por la importancia que representa. Sin embargo, otras enzimas como la peroxidasa (POD) y polifenol oxidasa (PFO) están involucradas también en el oscurecimiento enzimático; llevando a cabo la oxidación de polifenoles. Los compuestos fenólicos de la fruta son oxidados hasta quinonas mediante reacciones catalizadas por la PFO. Durante el procesado mínimo de fruta se daña la integridad del tejido vegetal y se produce un incremento de las actividades metabólicas y una descompartimentación de enzimas y substratos que al entrar en contacto reaccionan formando compuestos activos. Estos últimos, a su vez experimentan procesos de polimerización que dan lugar a compuestos coloreados denominados melaninas, produciendo el oscurecimiento superficial del producto y disminuyendo así su calidad visual. El grado de oscurecimiento que sufren las frutas puede depender de la concentración y tipo de compuestos fenólicos presentes en los frutos, actividad de la PFO, estado de madurez,

presencia de oxígeno (O<sub>2</sub>) y compartimentación de los enzimas y sustratos (Oms-Oliu, 2008; Rojas-Graü, 2006).

Al hacer la comparación entre frutas y hortalizas heridas, existe un tiempo de retraso para la aparición del oscurecimiento en el caso de las hortalizas. Esto puede ser explicado debido a la biosíntesis de “*novo*” de polifenoles. En el caso de las manzanas estas contienen una suficiente cantidad de polifenoles que causan un rápido oscurecimiento enzimático, mientras que la lechuga por ejemplo contiene una menor cantidad de esos compuestos; cuando la manzana es cortada, la sección cortada generalmente se torna café dentro de aproximadamente una hora, en tanto que para la lechuga esto puede tomar días (Hiromi & Homma, 2001).

#### 1.2.1.1.1 Actividad de la fenilalanin amonio-liasa

Una respuesta inicial a las heridas (y muchas otras tensiones bióticas y abióticas) es la síntesis de “*novo*” y el aumento de la actividad de la fenilalanin amonio-liasa (FAL), la primer enzima involucrada en la ruta de fenilpropanoides.

El primer paso en la ruta de fenilpropanoides es la conversión del aminoácido L-fenilalanin a ácido trans cinámico por la FAL Figura 3. Las reacciones posteriores producen muchos nuevos componentes que han sido relacionados con el oscurecimiento en la sección cortada.

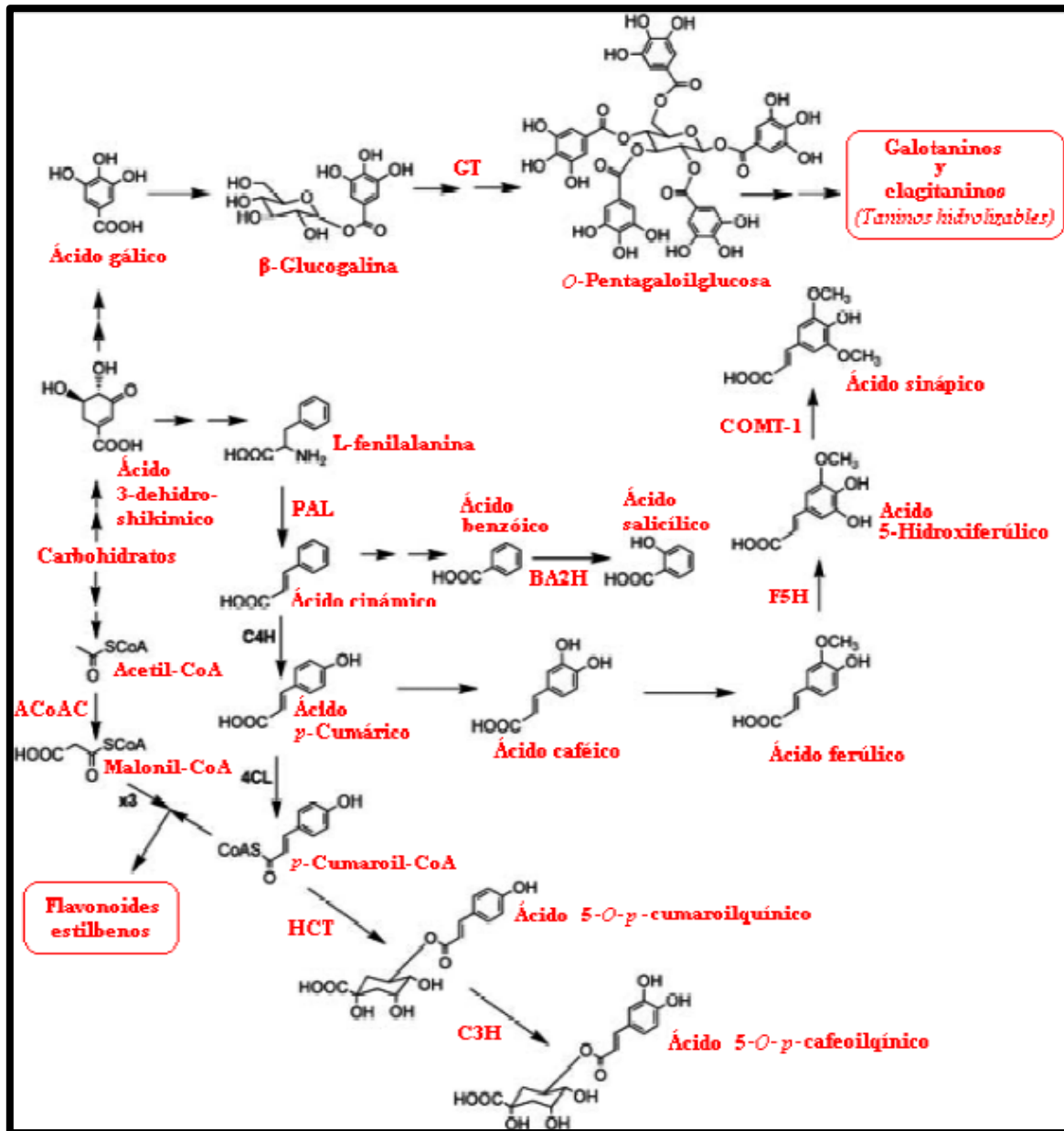


Figura 3. Esquema de las principales rutas y las enzimas involucradas en la biosíntesis de compuestos fenólicos. Las abreviaturas de las enzimas: PAL (Fenilalanin amonioliasa), BHA2H (Ácido benzoico 2-hidroxilasa), C4H (Cinamato 4-hidroxilasa), COMT-1 (Ácido cafeico/ácido 5-hidroxiferulico O-metiltransferasa), 4CL (*p*-cumarato: CoA ligasa), F5H (ferulato 5-hidroxilasa), GT (Galoiltransferasa), ACoAC (acetilCoA carboxilasa) (Galindo Perez, 2011).

Los compuestos fenólicos solubles producidos por el aumento de la actividad de la FAL son retenidos en vacuolas y sólo participan en las reacciones de oscurecimiento cuando la alteración de las membranas permite a los sustratos y a las enzimas mezclarse, produciendo el oscurecimiento superficial (Choi y col., 2005).

Las heridas y la exposición a la hormona vegetal etileno estimulan la ruta de fenilpropanoides generando nueva actividad enzimática, que conduce a una mayor producción de los principales compuestos fenólicos y la síntesis de nuevos componentes (Roura y col., 2008).

Las heridas generan altos niveles de la actividad de la (FAL) no sólo en las células cercanas a la herida, sino también en las células que se encuentran hasta 2.5 cm de distancia del sitio de la herida. Esto indica que la cicatrización en el tejido por la producción de FAL debido a las heridas, es transmitida del tejido herido al que no lo está (Pereyra L., 2005).

La actividad de la FAL no sólo es producida por lesiones y/o exposición al etileno, sino también por otras alteraciones como temperatura e infecciones de hongos.

El aumento en la actividad de la FAL ha sido correlacionado con una disminución en la vida útil y la calidad visual en conjunto de vegetales frescos cortados (López-Galvéz y col., 1996).

Para la biosíntesis es necesaria la presencia de cuatro factores: O<sub>2</sub>, PFO, cobre y compuestos fenólicos (Perez-Cabrera, 2003).

De acuerdo con las investigaciones realizadas por (Aquino-Bolaños y col., 2000), sobre jícama fresca cortada se ha observado que existe un incremento en la actividad FAL previo al desarrollo de oscurecimiento enzimático en productos frescos cortados. Un incremento en la actividad de la FAL fue observado antes de la aparición del oscurecimiento en este fruto mínimamente procesado.

De aquí que cuando los alimentos son sometidos a un proceso de cortado con un tratamiento como un recubrimiento, es necesario evaluar la actividad FAL puesto

que con ello será posible predecir la evolución del oscurecimiento enzimático por la relación existente (Hisaminato y col., 2001).

### 1.2.2 Aumento de la velocidad de respiración

Las frutas frescas cortadas son tejidos vivos incluso después del procesamiento. Los daños al tejido por las simples operaciones de corte o pelado, estimulan la actividad respiratoria y la producción de etileno, lo que induce la biosíntesis de enzimas asociadas a un incremento en la velocidad de los procesos metabólicos y de otras reacciones bioquímicas responsables del cambio de color, aroma, textura y valor nutritivo que conducen a la senescencia de los tejidos vegetales (Perez-Cabrera, 2003). La respiración es uno de los factores principales en la aceleración de la pérdida de calidad de los productos frescos cortados, ya que los sustratos respiratorios, tales como los azúcares y los ácidos son consumidos en este proceso (Iqbal y col., 2008).

Todos los organismos vivos requieren un aporte continuo de energía, necesaria para llevar a cabo todas las reacciones metabólicas y mantener la organización celular. La respiración es el principal proceso de producción de energía de las células aerobias. Consiste en la degradación oxidativa, enzimática y exotérmica de sustancias orgánicas almacenadas en las células, ricas en potencial, para transformarlas en sustancias más simples con desprendimiento de energía en formas utilizables.

En presencia de oxígeno molecular la respiración es aerobia y los productos finales de la oxidación de la glucosa son dióxido de carbono, agua y energía (la mayor parte en forma de calor). La respiración es un proceso que incluye la absorción de  $O_2$ , la transformación de hidratos de carbono, la liberación de  $CO_2$  y de energía, la formación de productos intermedios usados por las células en reacciones de síntesis y que desempeñan diferentes funciones en el metabolismo y finalmente la pérdida de peso como resultado de la oxidación.



En ausencia de oxígeno la respiración es anaerobia, se puede transformar en un proceso fermentativo, es mucho menos eficiente como productora de energía (un 4 %) y sus productos son etanol y  $\text{CO}_2$ .

La intensidad respiratoria (cantidad de  $\text{O}_2$  absorbida o de  $\text{CO}_2$  desprendido por un órgano vegetal de un peso determinado durante un tiempo definido) de un producto, es un buen indicador de la actividad metabólica de los tejidos y por tanto de su vida en la postcosecha y de su potencial de almacenamiento. Así, la experiencia práctica ha demostrado que los tejidos con altas tasas respiratorias y/o bajas reservas energéticas tienen vidas post-cosecha más cortas.

Las modificaciones de la composición atmosférica en la que se almacena el producto generalmente se realiza para disminuir la velocidad de respiración, el metabolismo y maduración del producto, así como pérdidas en frescura, peso y materia seca.

La reducción en  $\text{O}_2$  y el enriquecimiento en  $\text{CO}_2$  son consecuencias naturales del desarrollo de la respiración cuando las frutas y hortalizas frescas se almacenan en un envase o contenedor herméticamente cerrado. Estas modificaciones en la composición de la atmósfera provocan un descenso en la intensidad de respiración del material vegetal (Ospina-Meneses & Cartagena-Valenzuela, 2008). Si el producto está encerrado en una película impermeable, los niveles de oxígeno en el interior del paquete, podrían descender a concentraciones muy bajas en las que se podría iniciar la respiración anaerobia. La anaerobiosis, con acumulación de etanol, acetaldehído y ácidos orgánicos normalmente se asocia con olores y sabores y con una marcada degradación en calidad del producto. Además, existe un riesgo de crecimiento de organismos patógenos anaerobios, como *Clostridium Botulinum*. Por lo tanto se recomienda un mínimo del 2-3%  $\text{O}_2$ , para asegurar que no se crean condiciones potencialmente peligrosas (Vargas ycol., 2010).

A la inversa, si las frutas y hortalizas se encierran en un film con excesiva permeabilidad se producirá poca o ninguna modificación de la atmósfera en el interior del envase. Además, las pérdidas de humedad podrían provocar el marchitamiento y pérdida indeseable de la frescura, y por lo tanto los "films"

totalmente permeables son inadecuados para el envasado de los productos frescos.

Sin embargo, si se selecciona un film de adecuada permeabilidad intermedia, se establece una adecuada atmósfera modificada de equilibrio cuando las intensidades de transmisión de  $O_2$  y  $CO_2$  a través del paquete son iguales a la intensidad de respiración del producto. La atmósfera modificada de equilibrio exactamente alcanzada dependerá necesariamente de la actividad respiratoria intrínseca del producto, pero podría estar fuertemente influenciada por diferentes factores extrínsecos.

Es necesario optimizar estos factores para cada producto de modo que se puedan alcanzar completamente los beneficios del envasado en atmósfera modificada.

Las atmósferas modificadas se pueden crear tanto pasivamente por el propio producto o intencionadamente por empaquetado activo.

Las atmósferas modificadas pueden desarrollarse pasivamente en el interior de un envase herméticamente cerrado como resultado de la respiración del producto, es decir, consumo de  $O_2$  y producción de  $CO_2$ . Si las características de respiración de un producto están adecuadamente ajustadas a los valores de permeabilidad del recubrimiento, se puede crear pasivamente una beneficiosa atmósfera modificada en el interior del envase.

Si se elige un film de una adecuada permeabilidad intermedia, se establecerá una atmósfera modificada de equilibrio cuando las intensidades de transmisión del  $O_2$  y del  $CO_2$  a través del envase sean iguales a la intensidad de respiración del producto (Ospina-Meneses & Cartagena-Valenzuela, 2008).

Un enfoque práctico para evaluar la velocidad de respiración al comparar muestras similares pueden llevarse a cabo mediante el monitoreo de la composición del espacio de cabeza en los paquetes.

La concentración de oxígeno y dióxido de carbono en el interior del espacio de cabeza está relacionado con el estado metabólico de las muestras. Los niveles de oxígeno pueden tener otros efectos en la calidad, por ejemplo inactivación de las

reacciones enzimáticas pues la PFO requiere  $O_2$  para producir cambios de color en la superficie de cortada (Rico y col., 2007).

### 1.3 Recubrimientos comestibles

Un recubrimiento comestible es definido como una capa delgada de material comestible formado directamente sobre un alimento, éstos son aplicados en forma de líquido sobre el alimento por inmersión, aspersion o goteo (Hernández Quiroz, 2006).

La aplicación de recubrimientos comestibles es uno de los métodos más innovadores para extender la vida útil comercial de frutas actuando como una barrera contra el transporte de gas y teniendo un efecto similar sobre el almacenamiento bajo atmosferas controladas o modificadas. Entre las ventajas de esta tecnología se encuentran la reducción de envases y la incorporación de ingredientes funcionales (Vargas y col., 2008).

Como se ha señalado anteriormente los recubrimientos comestibles tienen que seguir ciertos requisitos funcionales, los cuales dependen del tipo de producto recubierto y sus vías metabólicas, tales como:

- Propiedades sensoriales: Los recubrimientos comestibles deben ser transparentes, insípidos e inodoros.
- Propiedades de barrera: Los recubrimientos debe tener una adecuada permeabilidad al vapor de agua y solutos y una permeabilidad selectiva a compuestos volátiles.

En general las películas o recubrimientos comestibles tienen la capacidad de actuar como barrera a la migración de humedad,  $O_2$ ,  $CO_2$ , aromas, sabores, y lípidos; poseen la capacidad de mejorar la integridad estructural de productos frágiles o las propiedades de manejo mecánico del alimento, es por ello que pueden servir como empaque, sí dichas propiedades son adecuadas y las condiciones de sanidad prevalecen durante su almacenamiento, transportación y comercialización. Ayudan a mantener la calidad de los alimentos después de que

su empaque es abierto, pues estas sirven para estabilizar los gradientes de actividad de agua, protegiéndolo contra la pérdida o ganancia de humedad y pérdida de aromas.

Igualmente, sirven como vehículos de otros ingredientes que llevan a cabo una función específica diferente a la de la cubierta, es decir se incorporan diferentes componentes como agentes antimicrobianos, sabores, antioxidantes y pigmentos al momento de su formulación (McHugh & Senesi, 2000).

Por otra parte, las formulaciones de los recubrimientos comestibles deben contener sustancias seguras, grado alimenticio y el costo de la tecnología y materias primas con los cuales se producen deben ser relativamente bajos.

La tecnología de recubrimientos comestibles es un método prometedor para preservar la calidad de los frutos frescos cortados. La investigación y los esfuerzos de desarrollo están dando lugar a una mejora de las características funcionales de los recubrimientos, que dependen de las propiedades de la fruta que se conserva o mejora (Vargas y col., 2008).

Los recubrimientos comestibles pueden influir en la calidad de las frutas recubiertas de diferentes maneras, ya que hay muchos mecanismos involucrados. Estos mecanismos incluyen la transferencia de humedad controlada entre la fruta y el medio ambiente alrededor, la liberación controlada de agentes químicos como sustancias antimicrobianas, saborizantes y antioxidantes, la reducción del oxígeno interno con una disminución en el metabolismo de la fruta.

Por lo tanto, algunos de los efectos que se pueden observar en los frutos recubiertos durante el almacenamiento son: reducción en la velocidad de respiración, disminución de la pérdida de peso, retraso en la aparición de oscurecimiento enzimático y, en general, un aumento significativo de la vida útil en las frutas (McHugh & Senesi, 2000).

La funcionalidad de los recubrimientos comestibles se puede mejorar mediante la incorporación de agentes antimicrobianos (conservantes químicos o compuestos antimicrobianos obtenidos de fuentes naturales), antioxidantes, e ingredientes funcionales, tales como minerales y vitaminas. Los antioxidantes se añaden a los

recubrimientos comestibles para proteger las frutas contra la oxidación, la degradación y cambio de color.

Recubrimientos con antimicrobianos y antioxidantes tienen ventajas sobre la aplicación directa de estos compuestos porque pueden ser diseñadas para retrasar la difusión del compuesto activo en la superficie del producto recubierto. Al hacer más lenta su difusión en los alimentos recubiertos, la actividad del conservador en la superficie de los alimentos se mantiene por más tiempo.

Los nutraceuticos (Productos aislados o purificados a partir de los alimentos que se venden generalmente en formas medicinales, tienen la capacidad de generar beneficios fisiológicos y proporcionar protección contra enfermedades crónicas) pueden ser incorporados en la formulación de recubrimientos comestibles, proporcionando una alternativa para fortalecer a las frutas frescas, y fomentar su consumo. (Vargas y col., 2008).

Tradicionalmente, los recubrimientos comestibles se han utilizado como una barrera para reducir al mínimo la pérdida de agua y retrasar el envejecimiento natural de los frutos recubiertos través de permeabilidad selectiva a los gases. Sin embargo, la nueva generación de recubrimientos comestibles está especialmente diseñada para permitir la incorporación de antioxidantes, vitaminas productos nutraceuticos por medio de la aplicación de tecnologías prometedoras como la nanoencapsulación.

Debido a las propiedades que presentan los sistemas de talla submicrónica, las nuevas tendencias se han centrado en la gran funcionalidad de recubrimientos nanoestructurados y la nanotecnología ofrece diversas posibilidades de aplicación en el área de alimentos. (Weiss y col., 2006; Quintanilla-Carvajal y col., 2009; Zambrano-Zaragoza y col., 2010).

#### 1.4 Nanopartículas

La nanotecnología se enfoca en la caracterización, fabricación, y la manipulación de estructuras biológicas y no biológicas a escala nanométrica ( $1 \cdot 10^{-9} \text{m}$ ).

Se ha demostrado que estructuras en esta escala tiene propiedades funcionales únicas y novedosas.

En consecuencia, los intereses y actividades en esta área de investigación han aumentado considerablemente en los últimos años.

Según la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (2006), "La nanotecnología es la comprensión y el control de la materia en dimensiones a escala nanométrica, donde los fenómenos únicos permiten nuevas aplicaciones. Abarcando la ciencia a nanoescala, la ingeniería y la tecnología; la nanotecnología consiste en la proyección de imagen, de medida, modelización y manipulación de la materia a esta escala de longitud" (Weiss y col., 2006).

#### 1.4.1 Definición y clasificación

Las nanopartículas se definen como partículas coloidales, preparadas a partir de polímeros biodegradables o no, las cuales contienen un agente activo y pueden ser producidos por métodos químicos o mecánicos. La talla de partícula generalmente varía entre 1 a 500 nm (Quintanar-Guerrero y col., 1998; Mora-Huertas, 2010).

Las nanopartículas pueden clasificarse de acuerdo a su morfología y arquitectura en nanoesferas o nanocápsulas.

*Nanoesfera*: Sistema matricial en el que el principio activo esta uniformemente distribuido en el polímero del cual está hecha la nanopartícula Figura 4.



Figura 4. Nanoesfera(Martínez Pérez, 2010).

*Nanocápsulas*: Sistemas con una cavidad, están compuestas por un centro oleoso o acuoso el cual puede ser la sustancia que se desee liberar cubierto con una membrana polimérica Figura 5.



Figura 5. Nanocápsula(Martínez Pérez, 2010).

#### 1.4.2 Aplicación de nanopartículas en la conservación de alimentos

Los beneficios potenciales de la nanotecnología han sido reconocidos por muchas industrias, como la microelectrónica, aeroespacial y farmacéutica en las que productos comerciales ya están siendo manufacturados. En contraste, las aplicaciones de la nanotecnología dentro de la industria alimentaria son más bien limitadas. Sin embargo, logros y descubrimientos de la nanotecnología están empezando a impactar la industria alimentaria e industrias asociadas, lo que afecta aspectos importantes de inocuidad de los alimentos, síntesis molecular de nuevos productos alimenticios e ingredientes (Chen y col., 2006).

El hecho de que los sistemas con características estructurales a escala nanométrica tengan propiedades físicas, químicas y biológicas muy diferentes de sus contrapartes macroscópicas está cambiando la comprensión de los fenómenos biológicos y físicos en los sistemas alimentarios (Weiss y col., 2006).

La nanotecnología tiene el potencial de afectar muchos aspectos de los sistemas alimentarios y agrícolas. La seguridad alimentaria, nuevas herramientas de biología molecular y celular, nuevos materiales para la detección de patógenos y la protección del medio ambiente son ejemplos de los importantes vínculos de la nanotecnología a la ciencia y la ingeniería de sistemas agrícolas y alimentarios.

De acuerdo con Weiss y col., 2006 algunos ejemplos de la nanotecnología como una herramienta para lograr nuevos avances en la industria alimentaria son los siguientes:

- Mayor seguridad de la fabricación, procesamiento y transporte de productos alimenticios a través de sensores para la detección de patógenos y contaminantes.

- Dispositivos para mantener los registros históricos ambientales de un producto en particular y el seguimiento de los envíos individuales.
- Sistemas que provean la integración de sensores para la localización, presentación de informes y control remoto de los productos alimenticios, sistemas inteligentes que pueden aumentar la eficacia y seguridad del procesamiento y transporte de alimentos.
- Encapsulación y sistemas de liberación que llevan, protegen, y liberan los ingredientes de alimentos funcionales a su sitio de acción específico.

La mayoría de la investigación nanotecnológica se centra en el desarrollo de aplicaciones en las ciencias biológicas y de ingeniería. Las estrategias para aplicar la nanociencia a la industria alimentaria son muy diferentes a las aplicaciones más tradicionales de la nanotecnología, pues el procesamiento de alimentos es una industria multitecnológica que abarca una amplia variedad de materias primas, elevadas exigencias en bioseguridad y procesos tecnológicos bien regulados.

Cuatro áreas principales en la producción de alimentos pueden beneficiarse de la nanotecnología: el desarrollo de nuevos materiales funcionales, el procesamiento en micro y nanoescala, el desarrollo de productos y el diseño de métodos e instrumentos para mejorar la inocuidad alimentaria y su bioseguridad. La Figura 6 muestra las posibles aplicaciones de la nanotecnología en la industria alimentaria.



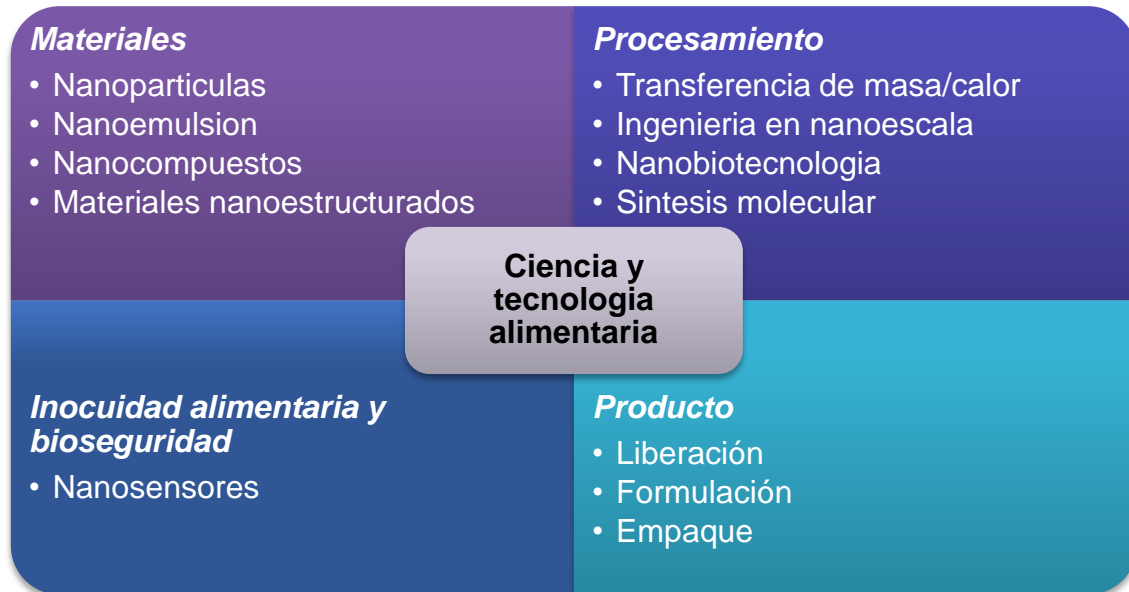


Figura 6. Aplicación de la nanotecnología en la ciencia de los alimentos (adaptado de Weiss y col., 2006).

Los métodos de micro y nanoencapsulación representan una técnica prometedora con amplias expectativas en la incorporación de ingredientes funcionales y antimicrobianos en recubrimientos comestibles para frutas.

La micro y nanoencapsulación es definida como una tecnología para empaquetar sólidos, líquidos o sustancias gaseosas en miniatura (micro y nanoescala), son cápsulas selladas que pueden liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas.

Esta técnica se está aplicando cada vez más en la industria alimentaria ya que los materiales encapsulados pueden ser protegidos de la humedad, el calor, u otras condiciones extremas, aumentando así su estabilidad y manteniendo la viabilidad. Esta técnica es especialmente adecuada para la incorporación de ingredientes que añaden valor al producto alimenticio, como las enzimas, los probióticos (Microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas benefician la salud del huésped) y prebióticos (Ingredientes alimentarios no digeribles que afectan beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon, que pueden mejorar la salud del huésped), así como ingredientes funcionales o

para enmascarar los olores y sabores. Por otra parte, los sistemas de encapsulación a micro y nanoescala parecen permitir una mejor encapsulación y eficiencia en la liberación que los sistemas de encapsulación tradicionales (Vargas y col., 2008).

En conclusión, existe un gran número de aplicaciones potenciales de la nanotecnología en la industria alimentaria

### **1.5 Antioxidantes**

Aunque los antioxidantes se agregan a menudo a los alimentos para estabilizarlos y prevenir el desarrollo de propiedades organolépticas indeseables, actualmente se les considera de gran interés por su potencial función como agentes terapéuticos.

La FDA (Food and Drug Administration) define los antioxidantes como las sustancias utilizadas para conservar los alimentos ya que retardan la alteración por enranciamiento o la decoloración debida a la oxidación. En los alimentos, los antioxidantes se presentan como constituyentes endógenos o son incorporados para mejorar la calidad del producto controlando oxidaciones y sus consecuencias adversas.

La seguridad alimentaria de ciertos antioxidantes sintéticos ha sido cuestionada debido a un potencial poder cancerígeno, por lo que está siendo de interés tanto para la industria como para los consumidores, remplazar estos componentes sintéticos por alternativas naturales.

Los antioxidantes naturales son un grupo de vitaminas y otros compuestos vegetales y enzimas que bloquean el efecto prejudicial de los denominados radicales libres (Contreras-Salmeron, 2010).

El procesado mínimo (pelado y cortado) de la fruta puede afectar al contenido, composición, actividad y biodisponibilidad de los antioxidantes (Oms-Oliu, 2008).

### *Propiedades de los antioxidantes*

Los antioxidantes son compuestos exógenos (naturales o sintéticos) y endógenos que actúan por diversos mecanismos, pueden actuar donando electrones, eliminando a la especie oxidante o a sus precursores, inhibiendo la formación de las especies reactivas, etc.

Los antioxidantes frenan la reacción de oxidación, pero a costa de destruirse ellos mismos. Es resultado en la utilización de antioxidantes es retrasar la alteración oxidativa del alimento, pero no la evita de una forma definitiva.

#### **1.5.1 Vitamina E**

La vitamina E tiene una función fundamental en el metabolismo normal de todas las células. Tiene actividad biológica antioxidante capaz de poner fin a las reacciones en cadena y químicamente puede prevenir la oxidación lipídica (Byun y col., 2011) evitando, junto con otras sustancias, la formación de radicales libres a partir de la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Yiu, Handbook of food science, technology, and engineering , 2006).

##### **1.5.1.1 Propiedades**

Un aceite de color amarillento, lábil para el calor, insoluble en agua pero soluble al alcohol, peso molecular 430.7 mol/g, estable en soluciones ácidas. Máximo de absorción: 292 nm (en solución alcalina).

La vitamina E se valora de acuerdo a su actividad en UI (Unidades Internacionales).

##### **1.5.1.2 Tipos de vitamina E**

Existen ocho formas isoméricas de la vitamina E. Los tocofenoles y tocotrienoles son compuestos monofenólicos y lipofílicos, la forma tradicional en que se presenta es como isómero alfa, beta, gamma y delta. Dependiendo del número y posición del grupo metilo. El más activo como vitamina es el alfa- pero también el gamma- tiene cierto valor. En la Figura 7 que se presenta a continuación se puede observar la estructura química de  $\alpha$ -tocoferol.

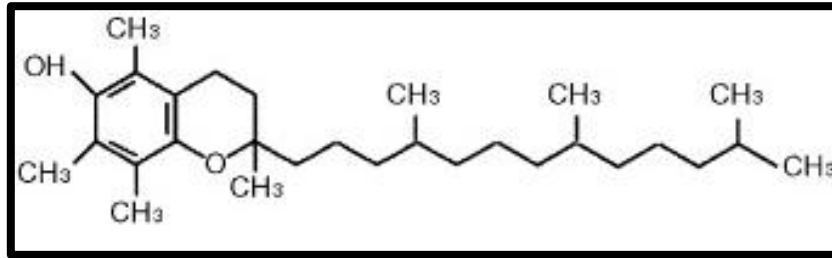


Figura 7. Estructura química de  $\alpha$ -tocoferol vitamina E.

Pueden obtenerse de dos maneras:

- Por extracción de aceites naturales, que correspondería al E-306 (extracto rico en tocoferol). Abundan más en aceite de germen de trigo, arroz, maíz o soja.
- Por síntesis química. Tiene una acción vitamínica algo menor que los naturales.

Cabe señalar que también la vitamina E es un fenol, con varios sustituyentes en el anillo bencénico. Es de suponer que su acción como antioxidante sea muy similar a la del Butil-Hidroxi-Tolueno (BHT) que es uno de los antioxidantes sintéticos más utilizados en alimentos (Contreras-Salmeron, 2010).

#### Acción de la vitamina E

La acción antioxidante de los tocoferoles va ligada a un mecanismo de eliminación del oxígeno del medio por la formación de tocoquinonas. Este hecho no tiene lugar con los antioxidantes de tipo fenólico.

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado en capacidad de aparearse por lo que son muy reactivos; los oxidantes se forman por la reacción con otros radicales por fotoexcitación, metabolismo, irradiación, catálisis metálica, o el calor siendo los principales inductores de estrés oxidativo en los seres vivos.

Los radicales libres atacan los dobles enlaces de los ácidos grasos poliinsaturados para formar por división homolítica de enlaces covalentes un radical peróxido del ácido graso altamente reactivo. Éste puede atacar a otros ácidos grasos, alterando la estructura de la membrana y la integridad celular. El  $\alpha$ -tocoferol actúa como

“basurero” de los radicales peróxido de los ácidos grasos debido a que puede ceder el protón del grupo hidroxilo del anillo de 6-hidroxicromona para estabilizar radicales libres transformándose en el radical  $\alpha$ -tocoferoxilo, que es relativamente estable. Este radical puede ser regenerado otra vez a la forma nativa mediante el concurso de otros antioxidantes (vitamina A y C) (Contreras-Salmeron, 2010).

#### *Requerimientos mínimos de la vitamina E*

El uso de tocoferoles como antioxidantes en un alimento no autoriza a indicar en su publicidad que ha sido enriquecido con dicha vitamina. La cantidad de estas sustancias ingeridas como un componente natural de los alimentos es en general mucho mayor que la que se ingiere por su uso como aditivo alimentario ya que se utiliza a concentraciones muy bajas.

Estudios recientes evidencian el papel de la vitamina E en la reducción de riesgos de desarrollar enfermedades degenerativas: Debido a que previene la formación de radicales libres disminuyendo el daño a los tejidos (por ejemplo, lípidos celulares, proteínas o ADN) (Yiu y col., 2006).

## II. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

### 2.1 Problema

El oscurecimiento enzimático depende de la cantidad de polifenoles presentes en el momento en que la fruta es cortada, sin embargo existe una síntesis de “*novo*” que contribuye a la formación de fenoles que mantiene activo a la polifenoloxidasas, en este proceso se encuentra involucrada la fenilalanin amonio-liasa.

En este trabajo se pretende establecer el efecto de un recubrimiento de talla submicrónica sobre la conservación de manzana *Red Delicious* fresca cortada, siguiendo la actividad de la fenilalanin amonio-liasa y en función a esto, tener una prueba del mecanismo de reducción del índice de oscurecimiento bajo diferentes sistemas nanoparticulados con  $\alpha$ -tocoferol.

### 2.2 Objetivo General

Evaluar la efectividad de sistemas nanoparticulados con  $\alpha$ -tocoferol, sobre la disminución del oscurecimiento enzimático en manzana (*Red Delicious*) fresca cortada, utilizando como indicador la actividad de la fenilalanin amonio-liasa.

#### 2.2.1 Objetivos Particulares

##### Objetivo particular 1

Determinar el efecto de la aplicación de cuatro sistemas nanoparticulados a manzana (*Red Delicious*) fresca cortada sobre la actividad de la fenilalanin amonio-liasa mediante el seguimiento de color y la formación de ácido cinámico durante el almacenamiento en refrigeración.

##### Objetivo Particular 2

Analizar el efecto del sistema nanoparticulado aplicado a manzana fresca cortada sobre el consumo de oxígeno, como una prueba de los cambios en la velocidad de respiración.

### 2.3 Selección y justificación de variables

Para evaluar la actividad de la enzima FAL se deben monitorear los parámetros mencionados en la Tabla 5; pues los síntomas de deterioro de productos frescos cortados incluyen cambios en el color, especialmente atribuido a oscurecimiento enzimático en las superficies cortadas (Rojas-Graü, 2006). Además el daño mecánico puede causar un incremento en la producción de etileno y por consiguiente en la actividad de la FAL (Tomás-Barberán & Espín, 2001). La exposición de los tejidos vegetales a etileno induce la actividad de la FAL. La tasa de respiración de los frutos cosechados se puede medir, mediante la determinación de la velocidad de emisión de CO<sub>2</sub> o de consumo de O<sub>2</sub> por el fruto colocado en un recipiente cerrado, y constituye un buen índice del tiempo que pueden conservarse después de ser recolectados. Valores elevados indican una vida corta en el almacenamiento.

Tabla 5. Selección de variables.

| Factor de variación              | Niveles/ Replicas                                    | Variable dependiente                              | Variable de respuesta                            | Técnica o instrumento de medición         |
|----------------------------------|--|---|--|---|
| <b>Sistema de nanopartículas</b> | *Nanocápsulas con $\alpha$ -tocoferol.               | Cantidad de ácido cinámico formado <sup>2</sup> . | Actividad de la enzima fenilalanin amonio-liasas | Método propuesto por Ke y Saltveit (1986) |
|                                  | *Nanoesferas Los dos sistemas con y sin goma xantana | Cambio de color                                   | Índice de oscurecimiento                         | Imagenología                              |
|                                  | *Control 3 réplicas c/u                              | Concentración de oxígeno                          | Velocidad de respiración                         | Analizador de Oxígeno                     |

<sup>2</sup> La cuantificación de ácido cinámico se determinó mediante la curva patrón de absorbancia contra ácido cinámico.

## 2.4 Diseño Experimental

### 2.4.1 Preparación de los sistemas nanoparticulados

Para la elaboración de los sistemas nanoparticulados se utilizaron los siguientes reactivos:

#### *Antioxidante*

- D- $\alpha$ -Tocoferol Polietilenglicol Succinato 1000 (TPGS) grado alimenticio (GA), marca Eastman, PM 1,513 g/mol

#### *Biopolimeros*

- Goma Xantana, Droguería Cosmopolita (Distrito Federal, México).
- Poli- $\epsilon$ -caprolactona, Sigma-Aldrich® (St. Louis, USA).

### 2.5 Estabilizantes

- Pluronic® F-127 Poloxámero 407, Sigma-Aldrich® (St. Louis, USA).

#### *Disolventes*

- Acetato de etilo GA, Fermont (Distrito Federal, México).
- Agua destilada GA, Milli-Q, Millipore®, (Bedford, USA).

Los Sistemas nanoparticulados se obtuvieron por el método de emulsificación-difusión de acuerdo a la metodología propuesta por (Quintanar-Guerrero y col., 1998) y las condiciones de preparación para activos alimenticios por (Zambrano-Zaragoza, 2010) Figura 8. Esta técnica consiste en emulsificar una solución orgánica conteniendo un polímero (poli- $\epsilon$ -caprolactona) en una solución acuosa que contiene el agente estabilizante (pluronic F-127). La subsecuente adición de agua (Milli Q) al sistema genera la difusión del solvente dentro de la fase externa, provocando la formación de partículas coloidales.



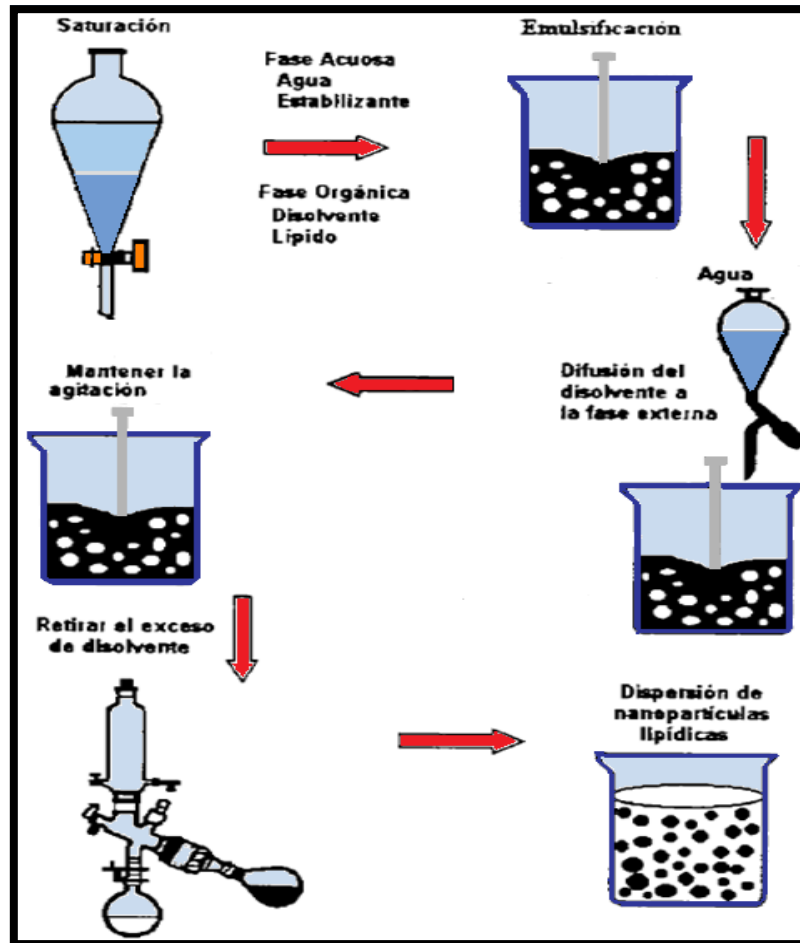


Figura 8. Preparación de sistemas nanoparticulados.

*Tamaño de partícula.* Fue determinado mediante la técnica de difusión de luz integrada a través de un Zetasizer® 4 (Malvern Ltd., Orsay, France). El instrumento utiliza el método de espectroscopia de correlación rotónica para medir el tamaño de las partículas. Un haz de luz es dirigido a través de la muestra diluida y dispersado por las gotas en un patrón característico y detectado por una serie de fotodiodos, el tamaño de partícula se expresa en nanómetros (nm).

*Potencial Z.* Fue determinado mediante la técnica de difusión de luz integrada a través de un Zetasizer® 4 (Malvern Ltd., Orsay, France). El método mide la velocidad de una partícula que se mueve en un líquido cuando existe un campo eléctrico aplicado. Cuando las gotas están suspendidas en un líquido, se mueven hacia el electrodo de carga opuesta, las unidades se expresan en miniVolts (mV).

### 2.5.1 Selección y control de la materia prima

Para la etapa experimental se utilizaron manzanas de la variedad *Red Delicious* compradas en las bodegas de Atizapan. La selección de los frutos se realizó con base en la norma (NMX-FF-061-SCFI-2003), en la que se establece que debe contener de 10 a 12 °Brix, la pulpa debe presentar una resistencia a la penetración menor de 5 Kgf, similitud en forma y tamaño, además de ausencia de lesiones externas (menor a 5%). La materia prima seleccionada se lavó y desinfectó. Previo a su preparación se mantuvieron refrigeradas a 4 °C.

*Determinación de firmeza.* Se determinó, utilizando un penetrómetro manual de Wagner Instruments modelo FT30 con una sonda cilíndrica de 11 mm de diámetro (Figura 9), los resultados se expresaron como la fuerza necesaria para penetrar la pulpa de manzana fresca cortada en  $\text{Kg}_f/\text{cm}^2$ . La determinación de este parámetro se realizó de forma similar a lo establecido por la NMX-FF-014-1982.

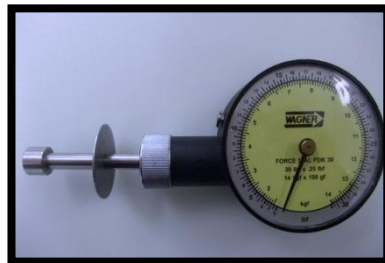


Figura 9. Penetrómetro manual.

*Determinación de sólidos solubles (°Brix).* Basado en el principio de refracción de la luz en líquidos. Cuando la luz pasa a través de un líquido, el ángulo de refracción muestra la concentración de los sólidos disueltos, en este caso azúcares. La determinación de sólidos solubles se realizó con la ayuda de un refractómetro Atago modelo 01020 (Figura 10) por medición directa del jugo de la manzana fresca cortada de acuerdo a la NMX-FF-015-1982. Los resultados se expresaron como °Brix.



Figura 10. Refractómetro manual.

### 2.5.2 Acondicionamiento de la manzana fresca cortada

En el acondicionamiento de las manzanas frescas cortadas se utilizaron soluciones de cloruro de benzalconio 75 ppm, hipoclorito de sodio 150 ppm y de  $\text{CaCl}_2$  al 1%.

Las manzanas se lavaron con agua y jabón, se desinfectaron con hipoclorito de sodio (150 ppm). Posteriormente con un cuchillo de acero inoxidable se eliminó el pedúnculo y la base de la manzana. Utilizando un descorazonador-rebanador, se corto transversalmente la manzana, obteniendo ocho rebanadas. Las manzanas cuyas rebanadas mostraron aspectos anómalos, como oscurecimiento interno, pulpa anormalmente translúcida o algún otro tipo de desorden fisiológico fueron descartadas.

Se registró el peso de la manzana inicial y de la manzana fresca cortada para calcular el rendimiento.

*Aplicación de recubrimiento.* Las manzanas previamente lavadas, desinfectadas y cortadas en ocho rebanadas, se sumergieron en la solución de  $\text{CaCl}_2$  al 1%, se escurrieron durante 3 minutos, subsecuentemente se sumergieron en el sistema nanopartículado correspondiente, escurriéndolas nuevamente durante 3 minutos. Por último se colocaron en vasos de cristal de poliestireno, se identificaron y se colocaron a condiciones atmosféricas. Se registró la pérdida de peso durante el almacenamiento, además se tomó fotografía de las manzanas por día de prueba para obtener una escala visual.

Los niveles de variación considerados para la experimentación fueron los siguientes: control, nanoesferas con y sin goma xantana y nanocápsulas con  $\alpha$ -tocoferol con y sin goma xantana.

### 2.5.3 Almacenamiento

La manzana fresca cortada, recubierta y envasada fue almacenada en un refrigerador Friocima® a 4 °C y una humedad relativa promedio de 80%. Para garantizar las condiciones de almacenamiento el refrigerador fue previamente seccionado en tres partes de acuerdo a las posibles ubicaciones del lote de manzanas frescas cortadas como se muestra en la Figura 11a. Ya con las secciones definidas y estableciendo un valor fijo en el termostato del equipo, estas se caracterizaron en función de la temperatura y velocidad del aire, para la temperatura se utilizó un termopar Checktemp 1® de HANNA instruments (Distrito Federal, México) (Figura 11b) y para la velocidad del aire un anemómetro Turbo meter®; Figura 11c una vez registradas las temperaturas se llevaron a cabo los ajustes necesarios para mantener una temperatura promedio de 4 °C.

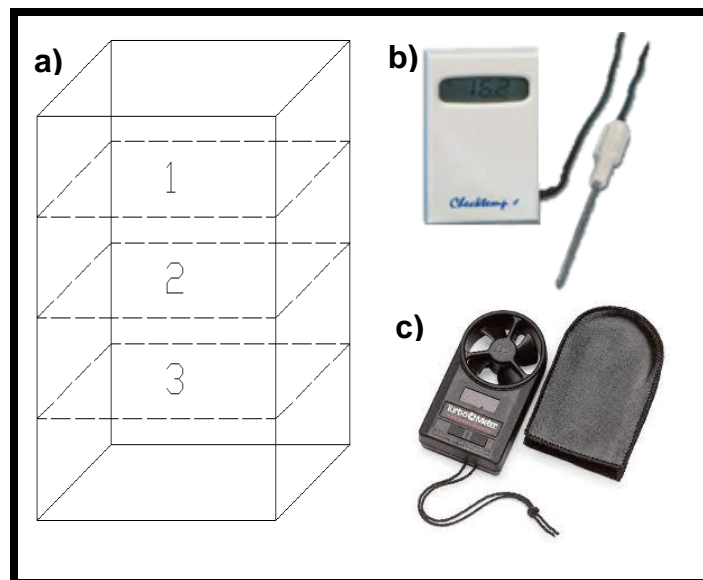


Figura 11. Caracterización equipo de refrigeración.

#### 2.5.4 Determinación de pérdida de peso

Se evaluó mediante la diferencia entre la masa inicial y final de cada tratamiento, utilizando una balanza sartorius® (Madrid, España) con una precisión de 0.01g. Los resultados se expresaron como porcentaje de pérdida de peso durante el almacenamiento.



Figura 12. Balanza.

#### 2.5.5 Determinación de actividad de la enzima fenilalanin amonio-liasa

Para la evaluación de la actividad de la enzima fenilalanin amonio-liasa (FAL), se adaptó el método propuesto por Ke and Saltveit (1986); 4g de tejido fueron homogenizados con 0.4g de polivinilpolipirrolidona insoluble, 16 ml de buffer de boratos (50 mM pH 8.5) y 14  $\mu$ L de 2-mercaptoetanol. Después de filtrar y centrifugar a 4000 rpm por 40 min en una centrifuga marca Hettich modelo EBA, la actividad de la FAL en el sobrenadante fue determinada a 40 °C usando 300  $\mu$ L de L-fenilalanin como substrato y midiendo la absorbancia a 290 nm en un espectrofotómetro Beckman Coluter® (Figura 13). Una unidad de la actividad de FAL corresponde a la formación de 1 $\mu$ mol de ácido cinámico en una hora bajo las condiciones especificadas y es expresada como  $\frac{\mu\text{mol}}{\text{gh}}$ .

Con cada uno de los tratamientos se realizaron siete repeticiones con tres replicas cada una de ellas, con los datos obtenidos se calculó la media y desviación estándar.



Figura 13. Espectrofotómetro.

### 2.5.6 Determinación de Respiración

La respiración se midió por método cerrado estático con base en el consumo de  $O_2$  por la manzana fresca cortada; la medición se realizó de manera directa a los envases de vidrio sellados, con un analizador de gas de Quantek Instruments® modelo 905 (Figura 14).



Figura 14. Analizador de  $O_2$ .

### 2.5.7 Determinación de color

Para la determinación de color se adaptó el método de imagenología, propuesto por Briones y Aguilera (2005), se utilizó una cámara digital Fujifilm® (12 Megapíxeles, no zoom, no flash, temporizador de 2 segundos), ésta se montó dentro de una caja impermeable a la luz con las caras internas de negro el sistema de iluminación interior formado por dos focos de 10 watts inclinados con un ángulo de  $45^\circ$ , para disminuir la difusividad de la reflexión del color, uno en una esquina superior y el otro en la esquina contraria inferior, el ángulo entre la cámara y la muestra fue de  $90^\circ$  para reducir el brillo (Figura 15). Las muestras fueron transferidas desde el refrigerador donde se llevó a cabo el almacenamiento a la

caja oscura y colocarse en el campo de visión de la cámara para capturar y almacenar la imagen en formato JPG.

La imagen fue analizada a través del programa Adobe Photoshop CS5 con el cual se obtuvieron los parámetros CIELAB ( $L^*$   $a^*$  y  $b^*$ ).



Figura 15. Caja negra para el análisis de color.

A partir de los datos obtenidos y en base a la ecuación descrita por (Poul y col., 1999) se calculó:

- Índice de oscurecimiento

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

Donde:

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

**a\***: La cromaticidad sobre el eje de verde a rojo.

**b\***: La cromaticidad sobre el eje de azul a amarillo.

**L\***: Luminosidad.

### 2.5.8 Tratamiento estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un ANOVA ( $\alpha = 0.05$ ) de dos vías con la finalidad de establecer el efecto del recubrimiento y tiempo de

almacenamiento sobre los cambios en las variables estudiadas, estableciendo las diferencias mínimas significativas mediante pruebas de Tuckey's. Los datos fueron tratados utilizando software estadístico, MINITAB 14 release (Contreras-Salmeron, 2010).



### III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 3.1 Actividades Previas

##### 3.1.1 Caracterización del equipo de refrigeración

###### a) Medición de la temperatura

Durante la caracterización del refrigerador de almacenamiento se obtuvieron los valores de temperatura promedio tal como se muestran en Tabla 6.

Tabla 6. Temperatura del refrigerador a diferentes valores del termostato.

| Valor del termostato | Temperatura promedio en el refrigerador (°C) |
|----------------------|--|
| 1                    | 5.8 ±1.55                                    |
| 3                    | 3.05 ±1.76                                   |
| 4                    | 0.25 ± 2                                     |
| 7                    | -9.6 ±3.49                                   |

La temperatura del sistema de refrigeración se monitoreo durante los días de almacenamiento con un termopar digital de LASCAR® modelo EL-USB2.

##### 3.1.2 Curva Patrón

Se construyó una curva estándar de concentraciones crecientes de ácido trans cinámico desde 0 hasta 250 micromolar en buffer de borato con pH 8.5 y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 290 nm.

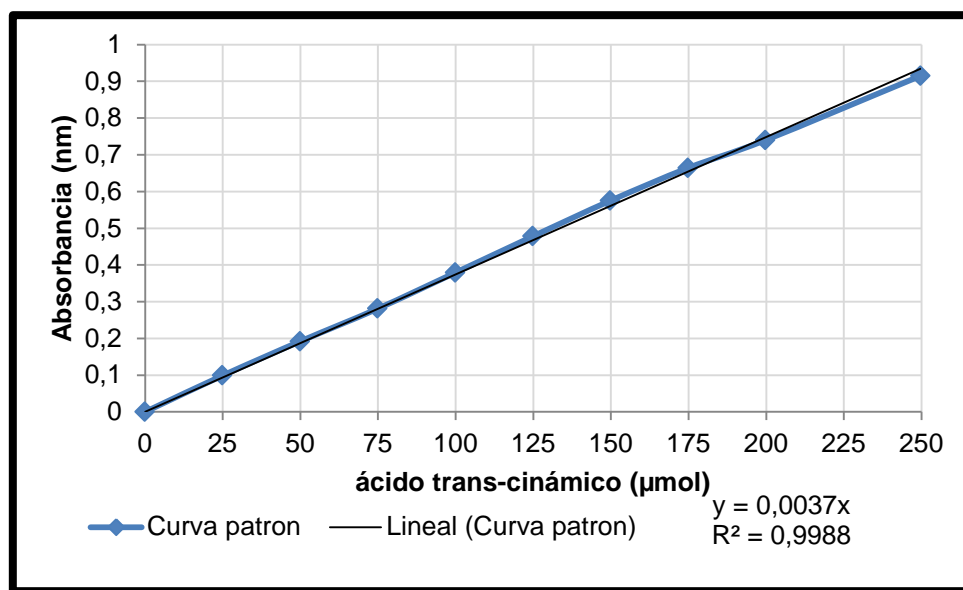


Figura 16. Curva estándar de ácido trans cinámico a 290 nm.

### 3.1.3 Medición de la estabilidad de las nanopartículas

En la Tabla 7 se presentan los promedios de las determinaciones realizadas a los diferentes sistemas nanoparticulados que se utilizaron durante el periodo de experimentación (3 semanas).

Tabla 7. Caracterización de los sistemas nanoparticulados.

| Sistema Nanoparticulado                  | Potencial Zeta $\zeta$ (mV) | Tamaño de Partícula (nm) | Índice de Polidispersión |
|--|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Nanocápsulas $\alpha$ -tocoferol         | -43.6±1.33                  | 243.66±8.3               | 0.11±0.02                |
| Nanocápsulas $\alpha$ -tocoferol Xantana | -43.57±1.32                 | 259.44±2.13              | 0.09±0.03                |
| Nanoesferas                              | -45.36±1.4                  | 190±26.33                | 0.17±0.01                |
| Nanoesferas/Xantana                      | -48.6±2.93                  | 196±18.3                 | 0.26±0.04                |

De acuerdo a (Friber y col., 2004) los sistemas dispersos que presenten un potencial zeta ( $\zeta$ ) entre -31 a -40 mV son sistemas moderadamente estables, mientras que los que se encuentran entre -41 a -60 mV tienen una buena estabilidad, pues entre mayor sea el valor absoluto del potencial zeta, existe una mayor repulsión eléctrica, debido a que las partículas de la misma carga se repelen entre ellas con mayor facilidad por la magnitud del potencial en la capa de deslizamiento (Castillo, 2010; Zambrano-Zaragoza, 2010).

Tal como se puede observar los valores de potencial zeta ( $\zeta$ ) obtenidos no superan los -40 mV, lo que indica que los sistemas desarrollados cuentan con una adecuada estabilidad y en consecuencia las probabilidades de que presenten coalescencia, floculación o sedimentación disminuyen.

El tamaño de partícula promedio para los sistemas de talla submicrónica no fue superior a los 260 nm (Tabla 7), con lo que se encuentran dentro del rango establecido por (Mora-Huertas y col., 2010), pues establece que dependiendo del método de preparación el tamaño medio de las nanopartículas va de 250 a 500nm, no obstante, existen diferentes puntos de vista sobre el tamaño de partícula utilizado (Weiss, 2006) reportó rangos entre 100 y 500 nm. Sin embargo, es importante considerar que la reducción de tamaño de partícula ayuda a disminuir la fuerza gravitacional y la sedimentación, además de prevenir la floculación (McClements, 2011).

### 3.1.4 Microscopia electrónica de barrido

La Figura 17 presenta las micrografías de las superficies de manzana cortada *Red Delicious* recubierta con los diferentes sistemas nanoparticulados, esto permite corroborar la dispersión homogénea de los recubrimientos, en el caso de aquellos que además contaron con goma xantana se formaron vesículas de tamaño menor a 10 debido a las ligeras agregaciones de la goma asociadas a su capacidad hidrofílica, lo que además generó un aumento en el tamaño de las partículas, sin embargo esto no limitó su funcionalidad.

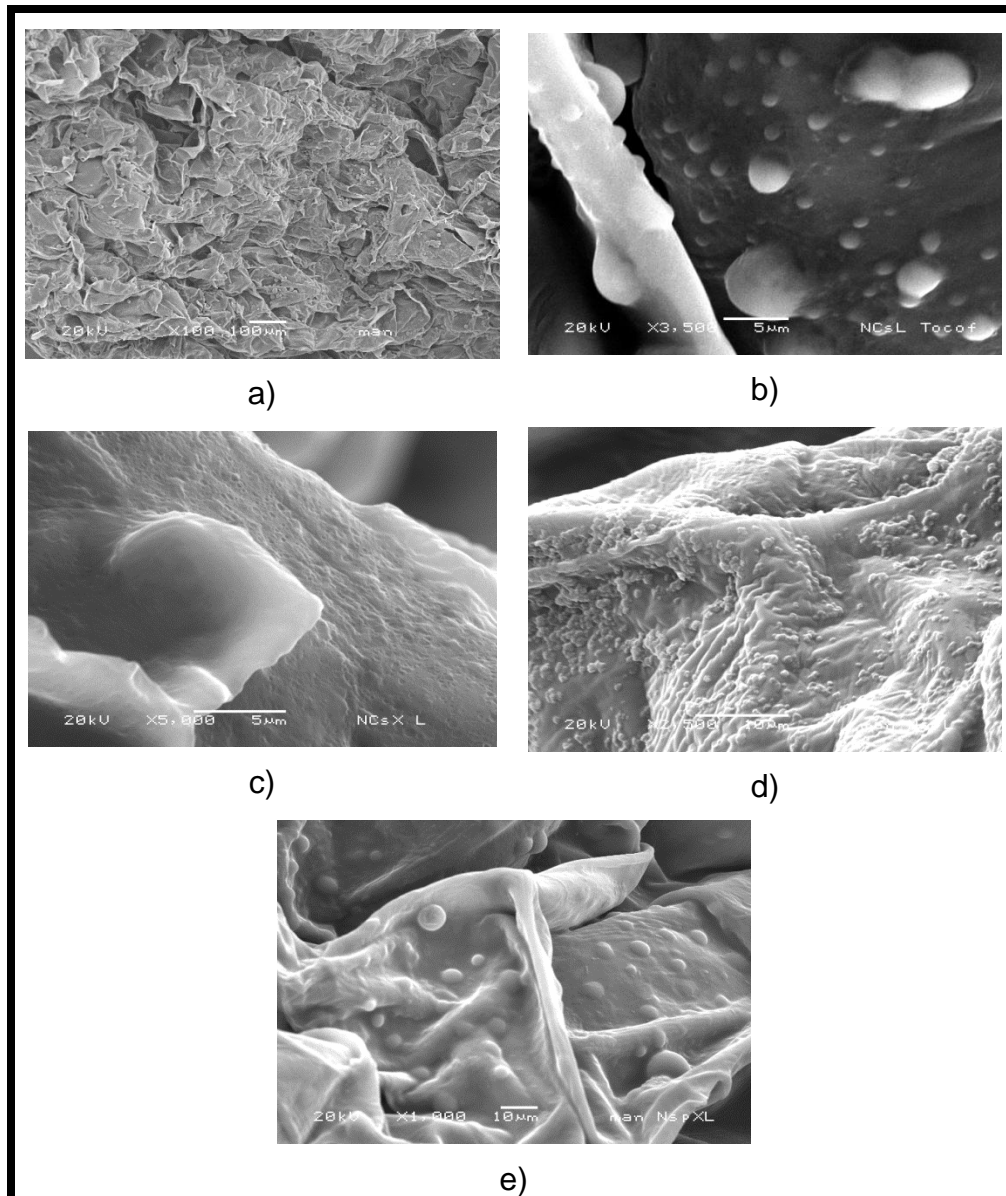


Figura 17. Micrografías de los recubrimientos aplicados sobre manzana fresca cortada *Red Delicious* a)Control, b)Nanocápsulas  $\alpha$ -tocoferol, c) Nanocápsulas  $\alpha$ -tocoferol/Xantana d)Nanoesferas y e)Nanoesferas/Xantana.

### 3.2 Determinación de pérdida de peso

En la Figura 18 se muestra la pérdida de peso porcentual durante los 14 días de almacenamiento para los diferentes tratamientos, como se puede observar el control mantuvo un comportamiento lineal durante los primeros diez días, a partir del cual, la pérdida de peso se incrementó ligeramente, superando a los

resultados obtenidos con las manzanas recubiertas hasta alcanzar un 0.46% en disminución de peso.

Es importante considerar que la naturaleza de las superficies y los tejidos de los frutos ejercen un pronunciado efecto sobre la velocidad de la pérdida de agua y que la mayor parte del intercambio del vapor de agua y otros gases con la atmósfera está controlado por poros o estomas regularmente espaciados en la epidermis del fruto; por lo que en las muestras recubiertas con los diferentes sistemas nanoparticulados se puede observar que el método redujo la pérdida de peso en la fruta fresca al actuar como una barrera al vapor de agua y en consecuencia limitar la migración de agua al ambiente por transpiración. Esto resulta importante pues la pérdida de agua causa una disminución significativa del peso y a medida que avanza disminuye la calidad visual y elasticidad del producto. Esta pérdida de peso puede incidir directamente sobre la calidad comercial al superar niveles críticos que dependen de la especie. En la mayoría de las especies, la disminución del peso superior al 8% produce un detrimento irreversible de la calidad sensorial.

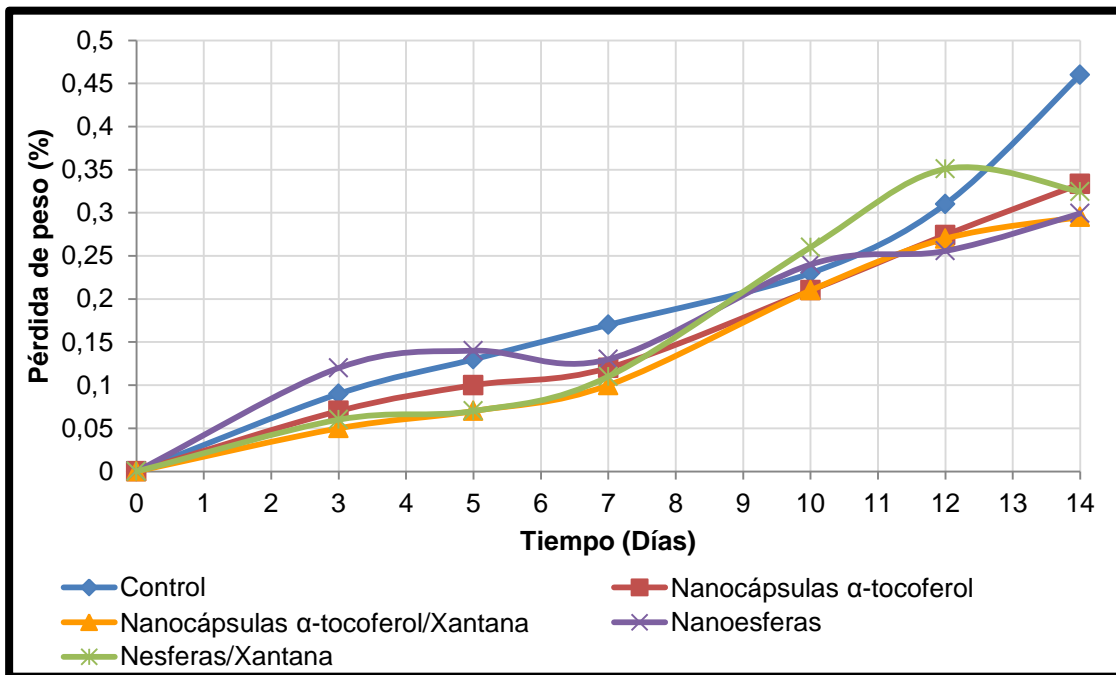


Figura 18. Pérdida de peso en la manzana fresca cortada.

### 3.3 Determinación de actividad de fenilalanin amonio-liasa

En la Figura 19 se muestran los resultados obtenidos en cuanto a la actividad de fenilalanin amonio-liasa en manzana fresca cortada con diferentes recubrimientos, en todos los casos presentó una curva de tipo parabólico lo que concuerda al comportamiento de esta enzima en otros productos (Puschmann y col., 2007); atribuido a que una vez alcanzada la máxima actividad, esta disminuye drásticamente. (López-Galvéz y col., 1996). Este comportamiento es atribuido a la síntesis de un inactivador proteínico de la FAL (Aquino-Bolaños y col., 2000)

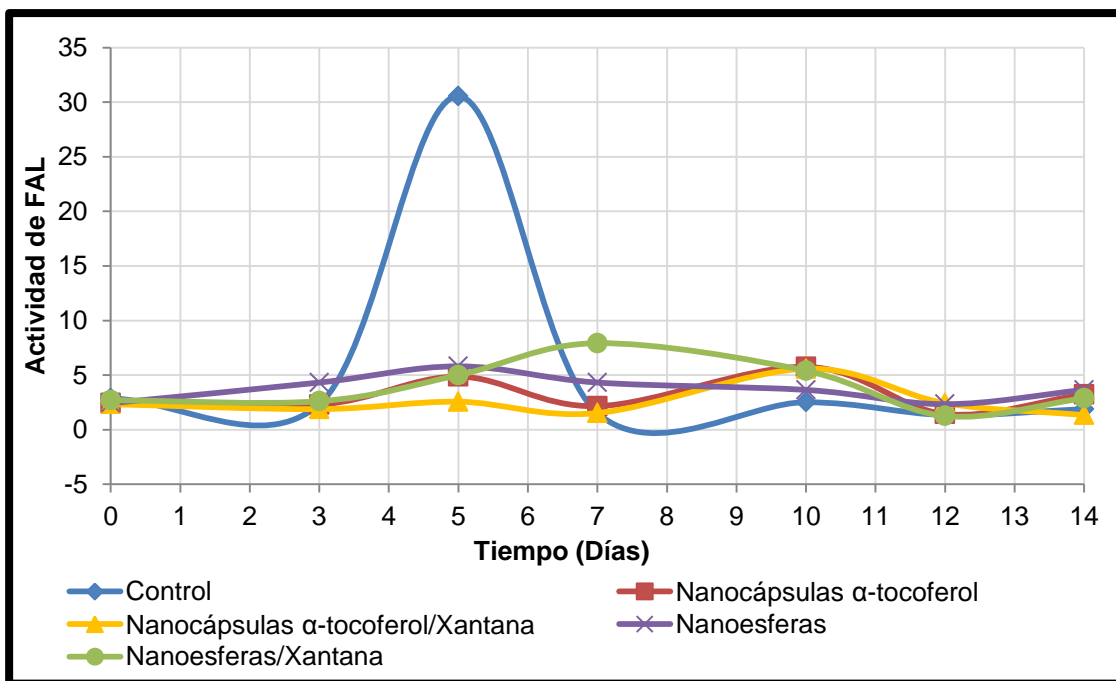


Figura 19. Actividad de fenilalanin amonio-liasa (FAL) en manzana fresca cortada.

En la manzana control, el aumento en la actividad de FAL, se presentó a los cinco días, mismo en el que se exhibió el máximo nivel de actividad; en el caso de las manzanas recubiertas con nanoesferas-xantana y nanoesferas el aumento de actividad se presenta desde el tercer día con un máximo de actividad a los cinco y siete días respectivamente. Es importante destacar que aun cuando el aumento de la actividad de FAL para las manzanas recubiertas con nanoesferas se anticipa al del control y en el caso de las nanocápsulas con a-tocoferol con y sin goma

xantana se presenta el mismo día éstas no rebasan las seis unidades, en tanto que para el control alcanza hasta las 30 unidades de actividad.

Conforme a la Figura 19, es evidente que la aplicación de nanopartículas sobre las manzanas cortadas disminuyó la actividad de FAL, esto se puede atribuir a la atmosfera modificada generada alrededor del fruto, limitando en consecuencia la concentración de oxígeno en el ambiente cercano al tejido, lo que provoco la acumulación de ácido cinámico que controla la síntesis de FAL(Shirsat & Nair, 1981) esto repercute en la calidad visual de la manzana cortada, pues como se sabe los compuestos fenólicos como el ácido clorogénico, ácido cafeico, catequina y epicatequina son fácilmente oxidados por la polifenoloxidasas (PFO) provocando oscurecimiento en los tejidos. En cambio, otros compuestos fenólicos naturales de la fruta como los ácidos cinámico, p-cumárico, ferúlico y sináptico no actúan como sustratos de la PFO e incluso se ha visto que pueden inhibir su actividad en manzana, pera, cereza, pulpa de plátano y uvas (Oms-Oliu, 2008).

En lo que concierne a los cambios en los niveles de FAL en las manzanas recubiertas éstos pueden ser atribuidos al cambio en la velocidad de síntesis del inactivador y no necesariamente a un incremento en la síntesis de FAL. Es decir el aumento en los niveles de actividad de FAL puede deberse a la disminución en la velocidad de inactivación pues en el sistema hay una continua producción de inactivador(Camm & Towers, 1973).

En el caso de las manzanas control, el daño mecánico provoco la síntesis de “*novo*” de la FAL en el tejido de las frutas, asimismo es importante considerar la permeabilidad del vaso de empaquetamiento al paso de O<sub>2</sub> el cual está involucrado en la conversión de 1-amino-ciclopropano-1-acido carboxílico a etileno; de acuerdo a Pereyra (2005) la concentración de etileno en los empaques comerciales es suficientemente alta para ser fisiológicamente activo y provocar un incremento en la senescencia, al aumentar la permeabilidad e integridad de las membranas alterando el proceso dinámico de las estructuras celulares.

Tanto el etileno como las heridas causadas por el procesamiento mínimo, reducen significativamente la calidad y vida útil de la fruta fresca cortada, pues se incrementa la actividad de la ruta fenilpropanoide a través de la enzima fenilalanin amonio-liasa con la consecuente acumulación de compuestos fenólicos asociados con el proceso de cicatrización en las frutas frescas cortadas generando oscurecimiento en el tejido, en el caso de la manzana fresca cortada el oscurecimiento inicia sobre la superficie cortada y después se esparce hacia el interior.

El cambio tan drástico en los niveles de la actividad de fenilalanin amonio liasa puede ser atribuido a la inhibición causada por productos de la ruta fenilpropanoide (Tomás-Barberán & Espín, 2001), ya que la FAL es fuertemente inhibida por ácido cinámico.

Considerando los datos obtenidos es evidente que la aplicación de sistemas nanoparticulados sobre manzana fresca cortada regula la biosíntesis de polifenoles limitando el proceso de cicatrización y en consecuencia disminuye el oscurecimiento de las manzanas frescas cortadas.

Por otra parte, el conocer los cambios que ocurren en la actividad de FAL genera una estrategia sencilla e indirecta de evaluar, de forma general, la inducción del metabolismo de los fenilpropanoides ya que los compuestos fenólicos tienen una gran contribución sobre la calidad sensorial de la manzana fresca cortada.

### 3.4 Determinación de color

#### 3.4.1 Parámetros de color CIE $L^*$ , $a^*$ y $b^*$

Los cambios de color en el tejido de las manzanas *Red Delicious* frescas cortadas fueron determinados por los cambios de luminosidad ( $L^*$ ) (los valores de  $L^*$  son la medida más confiable del oscurecimiento), índice de oscurecimiento (IO) y ángulo Hue ( $h^*$ ), que se calcula a partir de los valores de los parámetros  $a^*$  y  $b^*$ .

En las Figura 20, Figura 21 y 22 se muestran los cambios en los diferentes parámetros de color evaluados, es evidente que estos son afectados por el tiempo de almacenamiento y la aplicación o no del recubrimiento nanoparticulado sobre



las manzanas cortadas. En la Figura 20, se muestran los cambios en luminosidad, esta disminuyó considerablemente en las muestras control a partir del tercer día de almacenamiento reduciendo hasta un 23.5% del valor de luminosidad al inicio de la prueba, lo que no sucedió con las manzanas recubiertas con nanopartículas, pues la disminución que estas mostraron fue de 16.35%, 10.41%, 16.35% y 19.70% para nanocápsulas- $\alpha$ -tocoferol, nanocápsulas- $\alpha$ -tocoferol con xantana, nanoesferas y nanoesferas con xantana respectivamente.

Como ya se ha mencionado el tiempo de almacenamiento es considerado un factor limitante en la vida útil de las frutas frescas cortadas, el valor de  $L^*$  disminuye pronunciadamente durante el tiempo de almacenamiento debido al oscurecimiento enzimático causado por el daño al tejido pues  $L^*$  es un indicador útil de oscurecimiento durante el almacenamiento, ya sea como resultado de la actividad enzimática o por el aumento en las concentraciones de los pigmentos (Rojas-Graü y col., 2006).

En el caso de las manzanas frescas cortadas que recibieron tratamiento los valores iniciales de  $L^*$  durante el almacenamiento presentaron poca variación. Los datos además sugieren que las manzanas cubiertas con nanocápsulas de vitamina E tuvieron menor variación en este parámetro durante el periodo de almacenamiento.

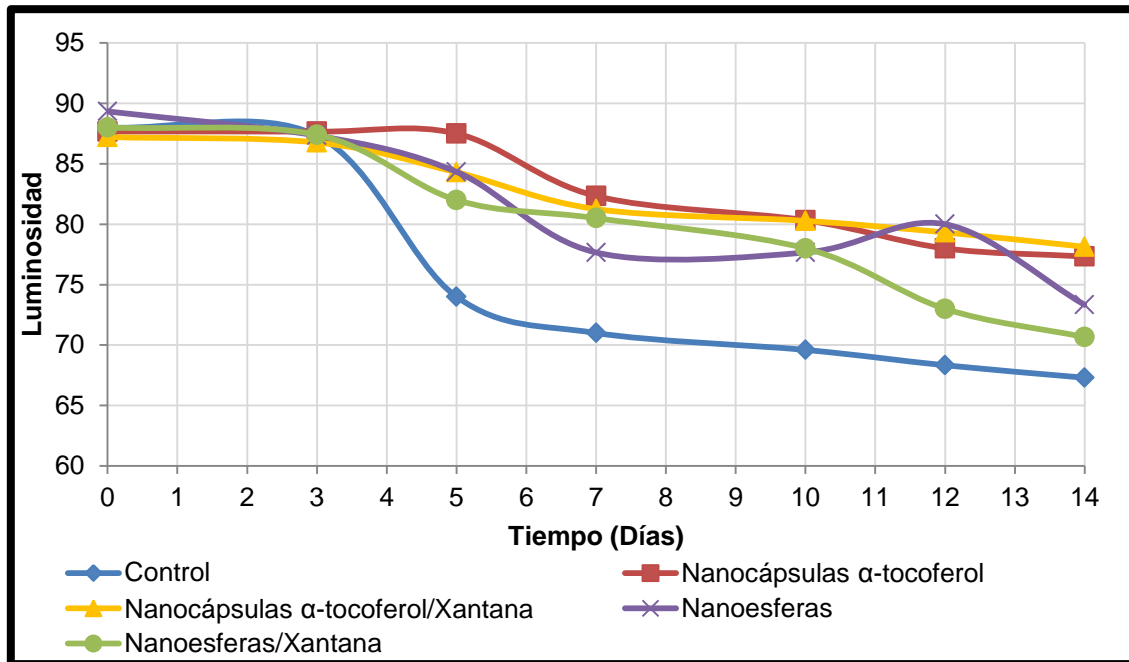


Figura 20. Luminosidad de la manzana fresca cortada durante el almacenamiento.

En la Figura 21 se observan los cambios en valores de “a” que representan una cierta medida de cambios en color rojo a café desarrollado por la manzana (Rojas-Graü y col., 2006). Los valores de “a” obtenidos para el control se incrementaron a partir del tercer día de almacenamiento. En tanto que las manzanas que recibieron el tratamiento mostraron menor variación en este parámetro lo que concuerda con los resultados obtenidos en la actividad de FAL pues fueron las manzanas tratadas con nanopartículas las que presentaron menor actividad enzimática y por ende menor oscurecimiento. Los valores de  $a^*$  son una medida de verde y están altamente relacionados con los cambios en el tejido de la manzana. Los cambios en los valores de  $a^*$  han sido utilizados para monitorear el oscurecimiento en la superficie de manzanas cortadas (McHugh & Senesi, 2000). De acuerdo a lo reportado por (Lee y col., 2003) valores bajos de  $L^*$  y valores altos de  $a^*$  indican un mayor oscurecimiento.

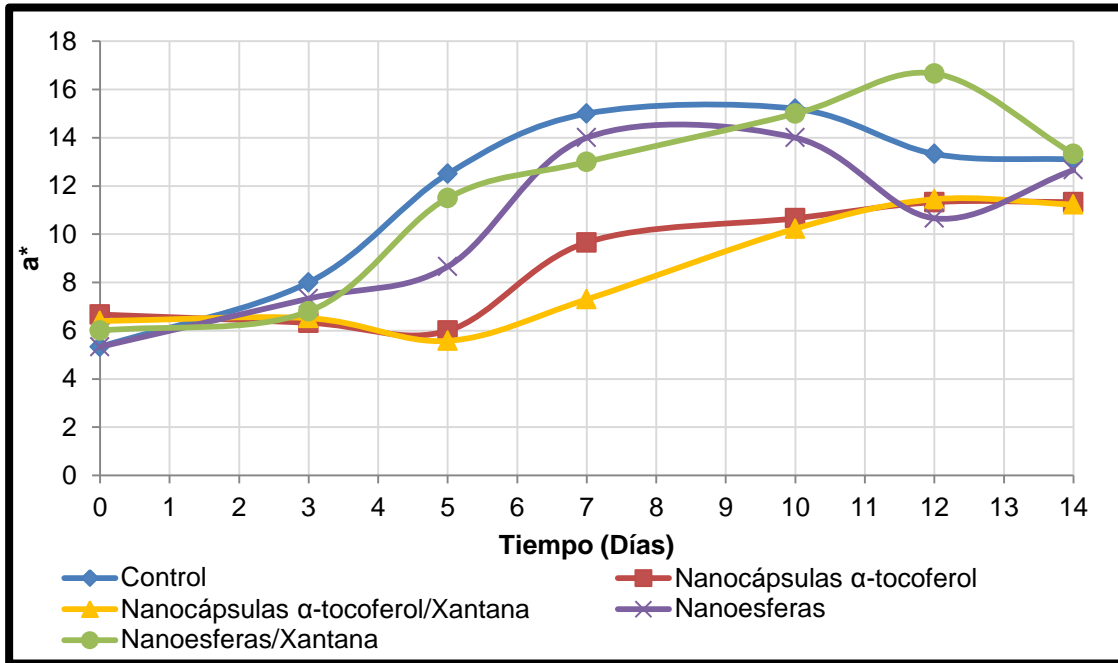


Figura 21. Parámetro  $a^*$  de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.

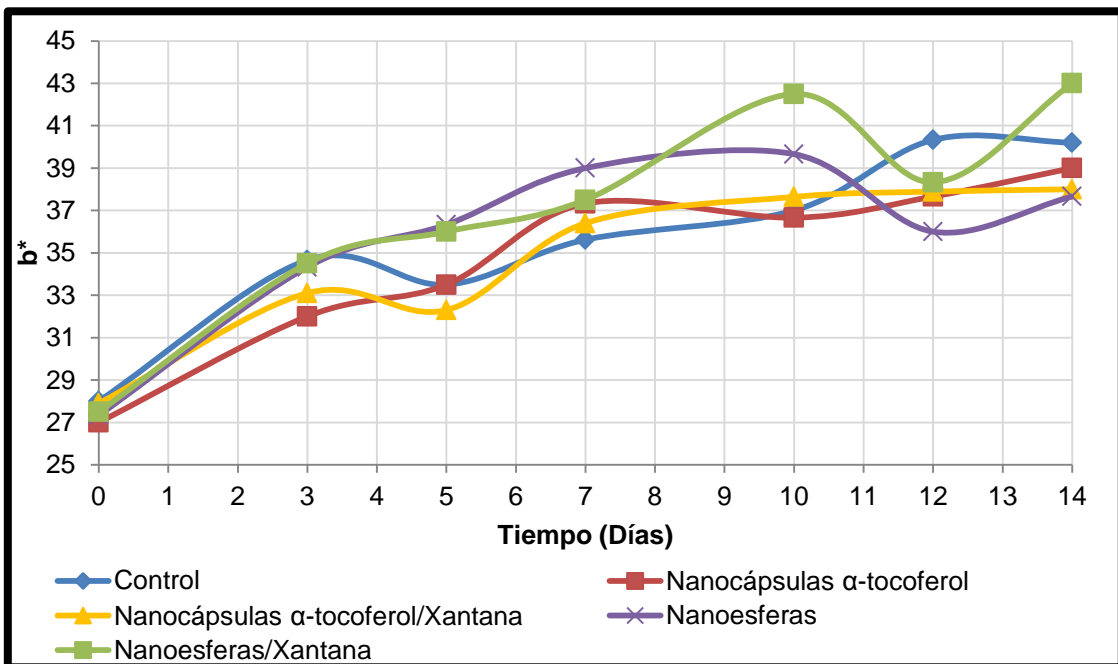


Figura 22. Parámetro  $b^*$  de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.

Los valores de  $b^*$  indican la cromaticidad sobre el eje de azul a amarillo. Este valor es una medida de amarillo en muchos productos, pero tal como se puede

observar no existe diferencia entre las manzanas tratadas y el control en relación a la variación del parámetro  $b^*$  durante los 14 días de almacenamiento lo que muestra que el valor no está asociado frecuentemente a los cambios de color en manzanas (Contreras-Salmeron, 2010). Resultados similares fueron obtenidos por Rocha y col. en 1998 sobre manzanas cortadas quienes sugirieron que el oscurecimiento enzimático en las superficies cortadas de manzana podrían ser monitoreados por los cambios reflejados en los valores de  $L^*$  y  $a^*$  en tanto que los valores de  $b^*$  no están relacionados con la aparición del oscurecimiento.

### 3.4.2 Índices de color

En la Figura 23, se observa que el control presentó una mayor diferencia entre el índice de oscurecimiento (IO) al inicio del almacenamiento y al final de este, aumentando hasta un 58.37% del valor original esto se refleja en las imágenes mostradas en la

Figura 24. En cuanto a las manzanas que recibieron tratamiento las que presentaron menor variación en el IO fueron las manzanas recubiertas con nanocápsulas de  $\alpha$ -tocoferol con xantana mientras que las manzanas recubiertas con nanoesferas y goma xantana presentaron una diferencia mayor en dicho índice, esto en comparación con las otras manzanas cubiertas con sistemas nanoparticulados.

De igual forma como se puede observar, durante los primeros tres días de almacenamiento el índice de oscurecimiento no muestra variación con respecto a los tratamientos lo que refleja una relación con la actividad de la FAL pues es a partir de entonces cuando la actividad enzimática refleja cambios importantes (Figura 19) esta misma situación fue encontrada por (López-Galvéz y col., 1996) en lechuga y (Aquino-Bolaños y col., 2000) en jícama reportando una alta correlación entre la actividad de FAL y los cambios indeseables de color en el producto.

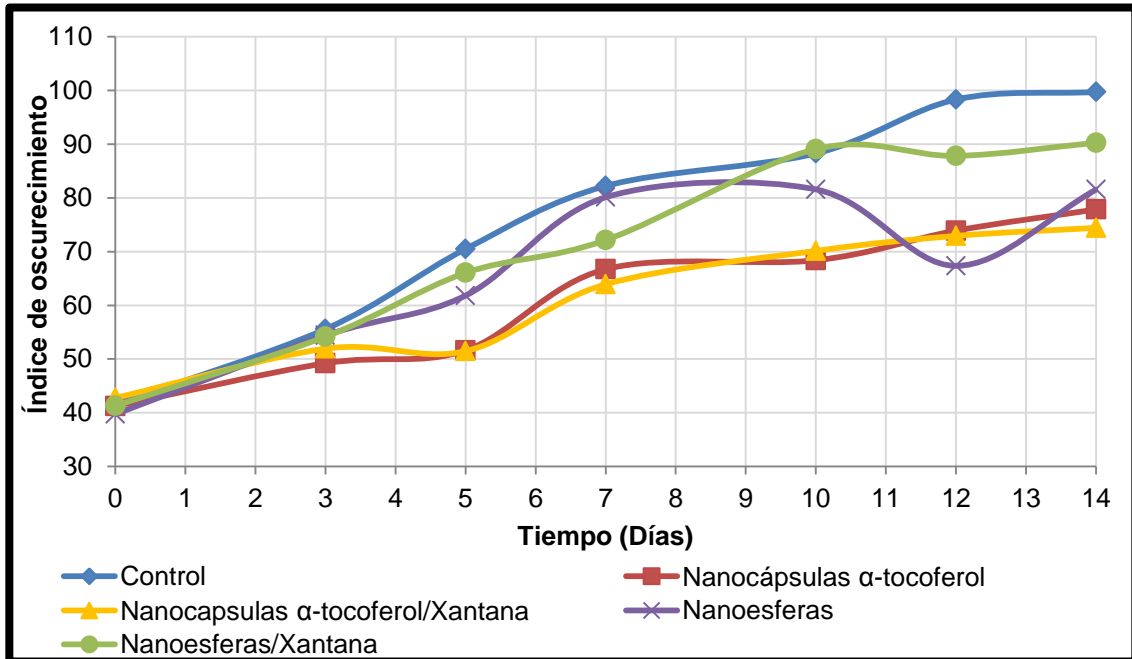


Figura 23. Índice de oscurecimiento de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.

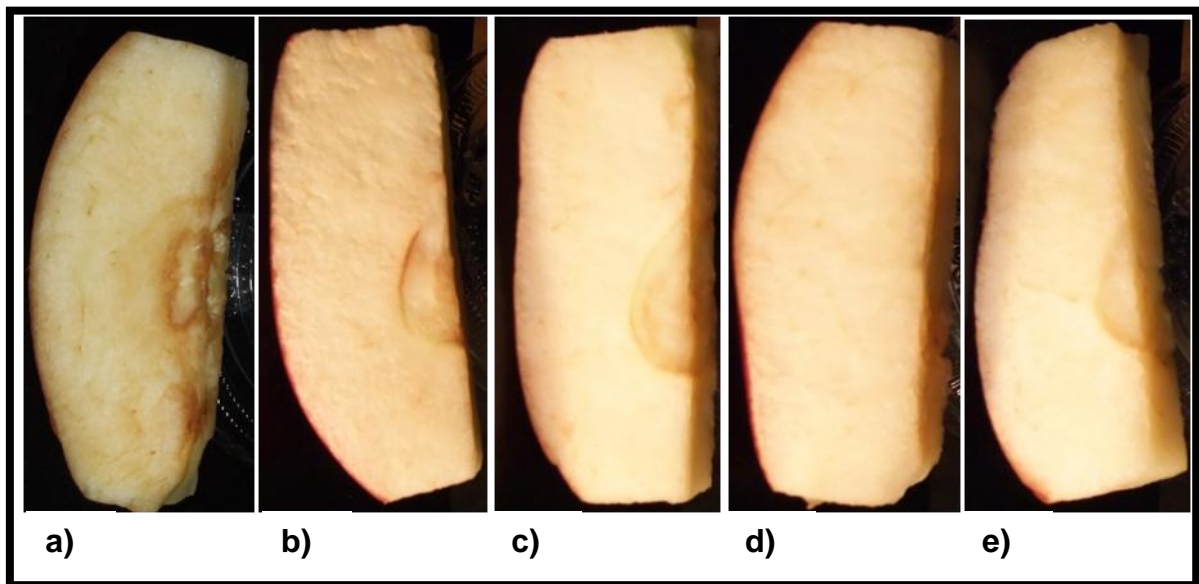


Figura 24. Manzana fresca cortada recubierta con diferentes sistemas nanoparticulados, en el día 15 de almacenamiento. a)Control, b)Nanocápsulas  $\alpha$ -tocoferol, c) Nanocápsulas  $\alpha$ -tocoferol/Xantana d)Nanoesferas y e)Nanoesferas/Xantana.

A continuación se presentan las variaciones de tonalidad de las manzanas *Red Delicious* con y sin tratamiento durante los 14 días de almacenamiento (Figura 25).

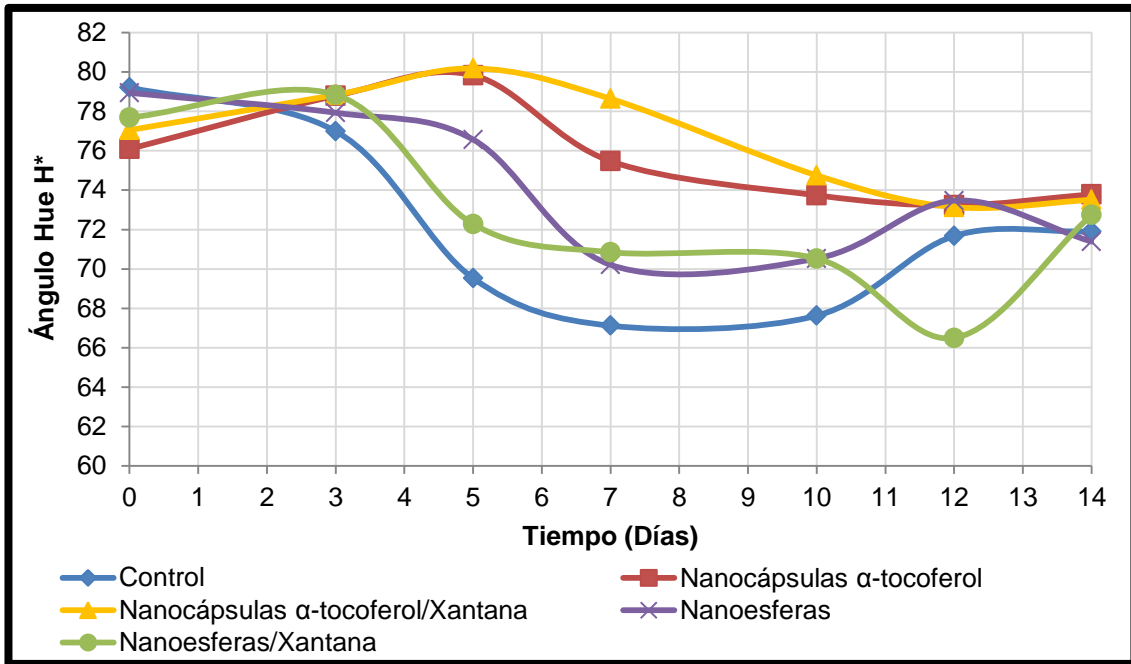


Figura 25. Ángulo de Hue de manzana fresca cortada durante el almacenamiento.

Las manzanas que recibieron tratamiento con sistemas nanoparticulados presentaron menor variación en este índice en comparación con el control el cual disminuye drásticamente del tercer al quinto día. El valor de Hue representa el verdadero color, el cual es efectivo para visualizar la apariencia de los productos alimenticios pues especifica el tono de un color determinado mediante la expresión de la medida angular correspondiente a su representación en un sistema estándar como el CIELab (Sanz & Gallego, 2001).

Por lo demás, la incorporación de un agente antioxidante en el sistema de nanopartículas que recubrió a las manzanas permitió que la tonalidad de estas variara en menor medida durante el almacenamiento lo que repercutió en la calidad visual que presentaron.

La efectividad de incorporar la vitamina E en las nanocápsulas que recubren las manzana frescas cortadas sobre los valores de  $H^*$  están de acuerdo con los resultados obtenidos en los valores de  $a^*$ , dado que este índice se calcula con las

coordenadas cromáticas del sistema CIELab. ( $a^*$  y  $b^*$ ) mostrando una relación directa entre los valores de  $a^*$  y  $H^*$ .

### 3.5 Determinación de respiración

Los cambios en velocidad de respiración que muestran los frutos frescos cortados se puede expresar en función a la velocidad de consumo de oxígeno (Fonseca y col., 2002). En la Figura 26 se muestra el cambio en el porcentaje de oxígeno en manzana por efecto de los diferentes tratamientos.

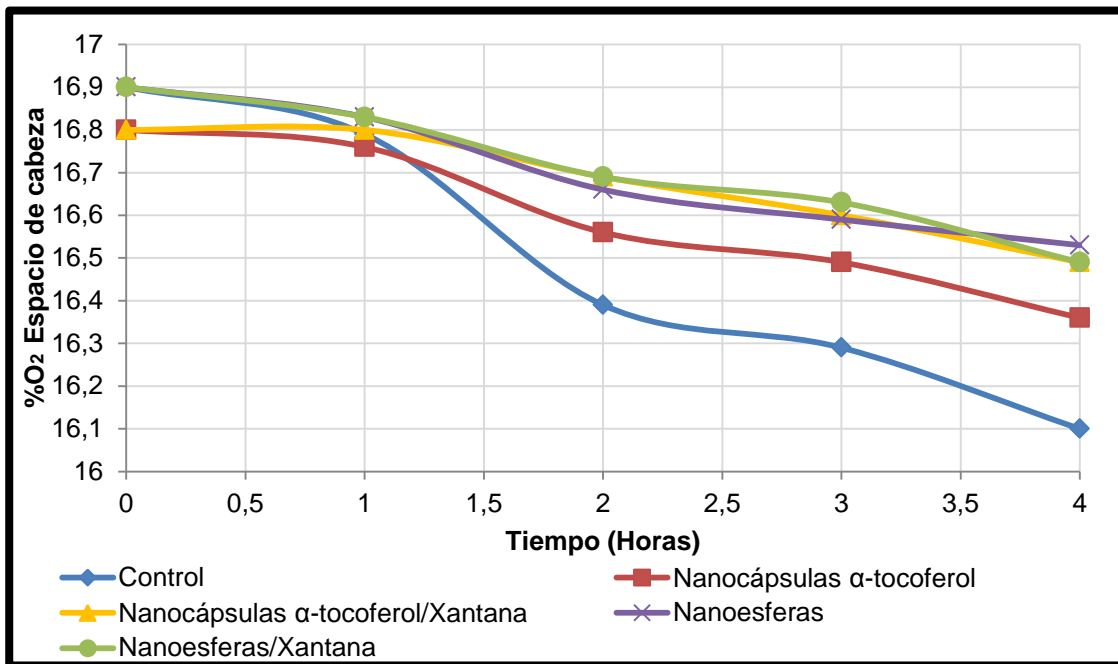


Figura 26. Concentración de oxígeno en el espacio de cabeza de manzana fresca cortada.

El consumo de oxígeno de las manzanas frescas cortadas recubiertas con los diferentes sistemas nanoparticulados fue menor, en comparación con el control, lo que indica que el uso de recubrimientos nanoparticulados generan un bajo rango de transmisión de  $O_2$ , esto se debe a la formación de una atmósfera modificada alrededor del producto reduciendo el consumo de oxígeno y en consecuencia su metabolismo y las reacciones de oxidación.

En la Figura 27 se observan las modificaciones en la velocidad de respiración de los diferentes sistemas de recubrimiento en comparación con el control.

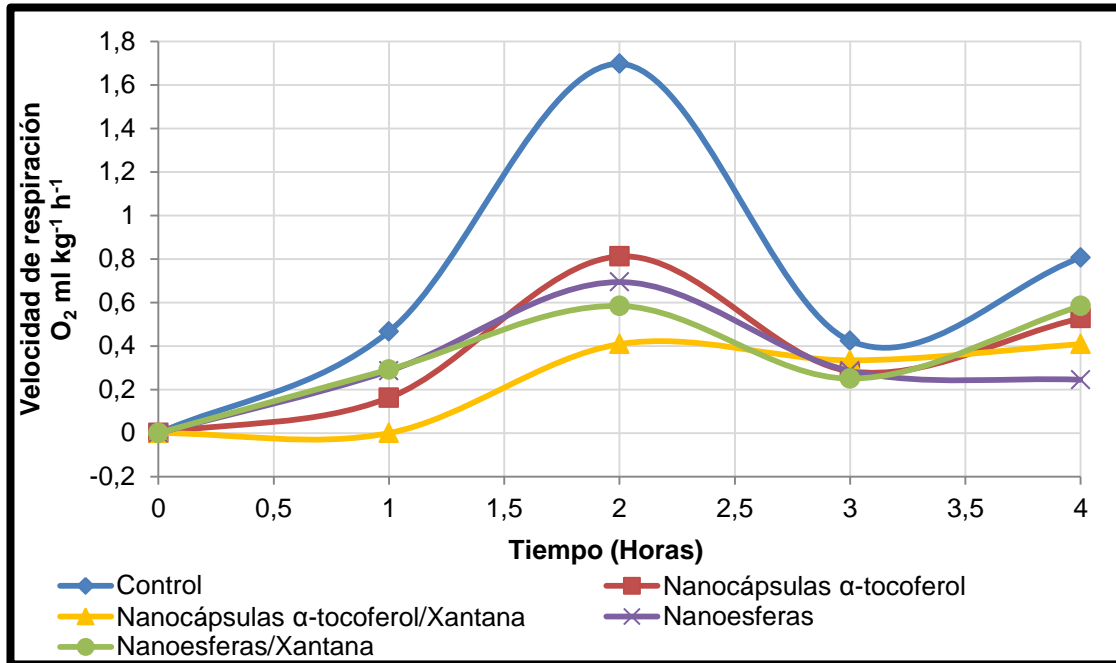


Figura 27. Velocidad de respiración  $O_2$  ml  $kg^{-1}$   $h^{-1}$  de manzana fresca cortada

La Figura 27 demuestra que la velocidad de respiración incrementa gradualmente durante un tiempo hasta alcanzar un valor máximo y entonces empieza a disminuir, este comportamiento también es reportado por (Fonseca y col., 2002) y (Torrieri y col., 2009) de igual forma se aprecia que las manzanas control presentaron una mayor velocidad de respiración que aquellas que fueron recubiertas con los sistemas nanoparticulados.

En cuanto a los resultados obtenidos y con la finalidad de correlacionarlos con aquellos que se han reportado, se ha encontrado que la respiración para manzana fresca cortada oscila en un rango de 3 a 20 ml  $Kg^{-1}$   $h^{-1}$  dependiendo del cultivar, temperatura y composición del espacio de cabeza (Lakakul y col., 1999; Hong & Kim, 2001; Fonseca y col., 2002; Zhu y col., 2002); sin embargo en ninguno de los casos se manejan sistemas dispersos de tamaño nanométrico como recubrimiento. En lo que refiere a esta investigación, el nivel máximo alcanzado por la manzana control fue de 1.6 ml  $Kg^{-1}$   $h^{-1}$ , en tanto que aquellas que fueron recubiertas con los sistemas nanoparticulados no superan la unidad. De acuerdo a (Vargas y col., 2008) las propiedades de barrera de los recubrimientos comestibles pueden ser evaluados por la velocidad de respiración; ya que los



recubrimientos comestibles actúan como una barrera para el intercambio de gases por lo tanto hay menos oxígeno disponible generando, de igual forma una menor liberación de CO<sub>2</sub> por parte del producto, bajo este argumento se puede decir que las propiedades de barrera de los sistemas nanoparticulados muestran superioridad en comparación con los recubrimientos convencionales; disminuyendo notoriamente la senescencia del producto pues se limita la degradación de las reservas orgánicas y manteniendo la calidad del sabor.

Por otra parte de acuerdo a (Shirsat & Nair, 1981) la actividad de FAL es estimulada por la concentración de oxígeno por lo que limitando el contacto con el tejido de la fruta, la actividad de la FAL se ve notablemente reducida.

#### IV. CONCLUSIONES

Los resultados mostraron que la aplicación de nanopartículas regula la biosíntesis de polifenoles pues los tratamientos limitaron la actividad de la fenilalanin amonio- liasa E.C. 4.3.1.5 presentando mejores resultados los recubrimientos de nanocápsulas; aumentando la vida útil de las manzanas con respecto al control manteniendo la calidad visual del producto al disminuir los cambios indeseables de color, con esto además se mantiene la capacidad antioxidante de las manzanas.

El conocer los cambios que ocurren en la actividad de FAL genera una estrategia sencilla e indirecta de evaluar, de forma general, la inducción del metabolismo de los fenilpropanoides ya que los compuestos fenólicos tienen una gran contribución sobre la calidad sensorial de la manzana fresca cortada.

El uso individual de nanopartículas así como la incorporación de vitamina E dentro de estas resultaron efectivos en el mantenimiento del color de manzana fresca cortada. Sin embargo la incorporación de un agente antioxidante en las nanocápsulas generó una menor variación en los parámetros e índices de color, en comparación con el resto de las muestras tratadas.

Los recubrimientos nanoparticulados generan un bajo rango de transmisión de O<sub>2</sub>, esto se debe a la formación de una atmosfera modificada alrededor del producto reduciendo el consumo de oxígeno y en consecuencia su metabolismo y las reacciones de oxidación.

Finalmente el aprovechamiento de la nanotecnología como método de conservación de alimentos permite la generación de frutas frescas-cortadas y refrigeradas como posibles alimentos funcionales de larga vida útil debido al alto potencial para encapsular ingredientes nutraceuticos como el  $\alpha$ -tocoferol, agentes antioscurecimiento, colorantes, sabores, nutrientes y compuestos antimicrobianos que benefician no sólo al producto sino también al consumidor.

## V. BIBLIOGRAFÍA

- Ahvenainen, R. (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology* , 7, 179-187.
- Aquino-Bolaños, E. N., Cantwell, M., Peiser, G., & Mercado-Silva, E. (2000). Changes in quality of fresh-cut jicama in relation to storage temperatures and controlled atmospheres. *Journal of Food Science* , 65 (7), 1238-1243.
- Briones, V., & Aguilera, J. M. (2005). Image analysis of changes in surface color of chocolate. *Food research international* , 38, 87-94.
- Byun, Y., Hwang, J. B., Bang, S. H., Darby, D., Cooksey, K., Dawson, P. L., y otros. (2011). Formulation and characterization of a-tocopherol loaded poly 3-caprolactone (PCL) nanoparticles. *LWT - Food Science and Technology* , 44 (1), 24-28.
- Camm, E. L., & Towers, N. (1973). Review article phenylalanine ammonia lyase. *Phytochemistry* , 12, 961-973.
- Castillo Valle, E. (2010). *Recubrimiento de envases de poliestireno expandido con nanopartículas lipídicas sólidas para generar envases activos*. México: Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chen, H., Weiss, J., & Shahidi, F. (2006). Nanotechnology in nutraceuticals and functional foods. *Food Technology* , 30-61.
- Choi, Y.-J., Tomás-Barberán, F. A., & Saltveit, M. E. (2005). Wound-induced phenolic accumulation androwning in lettuce (*Lactuca sativa* L.) leaf tissue is reduced by exposure to n-alcohols. *Postharvest Biology and Technology* , 37 (1), 47-55.
- Consumer. (2010). *Frutas*. Recuperado el 16 de Octubre de 2010, de Manzana [en línea]: <http://frutas.consumer.es/documentos/frescas/manzana/intro.php>
- Contreras, C. (2006). *Influencia del método de secado en parametros de calidad relacionados con la estructura y el color de manzana y fresa deshidratados*. Valencia: TESIS DOCTORAL.
- Contreras-Salmeron, N. S. (2010). *Efecto de la aplicación de vitamina E sobre la vida útil de manzana fresca cortada*. México: Tesis Profesional. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Fonseca, S. C., Oliveira, F. A., & Brecht, J. K. (2002). Modelling respiration rate of fresh cut fruit and vegetables for modified atmosphere packages: areview. *Journal of Food Engineering* , 99-119.
- Friberg, S., Larsson, K., & Sjöblom, J. (2004). *Food Emulsions*. USA: 4 Ed. Marcel Decker.

- Galindo Pérez, M. J. (2011). *Influencia del tamaño de partículas coloidales de  $\alpha$ -tocoferol sobre la actividad de polifenoloxidasas aplicada en manzana red delicious cortada refrigerada*. México: Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández Quiroz, L. J. (2006). *Recubrimiento de quitosán sobre mango *Mangifera indica* L. variedad Manila*. Mexico: Tesis, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
- Hiromi, M., & Homma, S. (2001). Relationship between the enzymatic browning and phenylalanine ammonia-lyase activity of cut lettuce, and prevention of browning by inhibitors of polyphenol biosynthesis. *65* (5), 1016-1021.
- Hisaminato, H., Murata, M., & Seiichi, H. (2001). Relationship between the enzymatic browning and phenylalanine ammonia-lyase activity of cut lettuce, and prevention of browning by inhibitors of polyphenol biosynthesis. *JSBA* , *65* (5), 1016-1021.
- Hong, S., & Kim, D. (2001). Influence of oxygen concentration and temperature on respiratory characteristics of fresh-cut green anion. *International Journal of Food Science and Technology* , 283–289.
- Infoagro. (2010). *Frutas tradicionales. Manzana*. Recuperado el 16 de Octubre de 2010, de [http://www.infoagro.com/frutas/frutas\\_tradicionales/manzana.htm](http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/manzana.htm)
- Iqbal, T., Rodrigues, F. A., Mahajan, P. V., Kerry, J. P., Gil, L., Manso, M., y otros. (2008). Effect of minimal processing conditions on respiration rate of carrots. *Journal of Food Science* , *73* (8), 396-402.
- Ke, D., & Salveit, M. E. (1986). Effects of calcium and auxin on russet spotting and phenylalanine ammonia-lyase activity in iceberg lettuce. *Hort Science* , *5* (1), 1169-1171.
- Lakakul, R., Beaudry, R. M., & Hernández, R. J. (1999). Modelling respiration of apple slices in modified-atmosphere packages. *Journal of Food Science* , 105-110.
- Lee, J., Park, H., Lee, C., & Choi, W. (2003). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *LWT* , *36* (1), 323-329.
- López-Galvéz, G., Saltveit, M., & Cantwell, M. (1996). Wound-induced phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. *Postharvest Biology and Technology* , *9* (2), 223-233.
- Manresa González, A., & Vicente, I. (2007). *El color en la industria de los alimentos*. La Habana: Editorial Universitaria.

- Martínez Pérez, A. (2010). *Sistemas nanoparticulados de aplicaciones farmacéuticas (Revisión bibliográfica)*. México: Tesis, Universidad Nacional Autónoma de México.
- McClements, J., & Rao, J. (2011). Food-grade nanoemulsions: formulation, fabrication, properties, performance, biological fate, and potential toxicity. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , 285-330.
- McHugh, T., & Senesi, E. (2000). Apple wraps: A novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh cut apples. *Journal of Food Science* , 65 (3), 480-485.
- Montiel-Rosales, M. d. (2009). *Mejora de la calidad de piña mínimamente procesada con tratamientos por irradiación UV-C*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery . *International Journal of Pharmaceutics* , 113-142.
- Moreiras, O., Carbajal, Á., & Cabrera, L. (2006). *Tablas de composición de alimentos*. España: Piramide.
- Oms-Oliu, G. (2008). *Alternativas de envasado de pera y melón frescos cortados en atmósfera modificada*. Lleida, España: Tesis Doctoral. Universidad de Lleida.
- Ortega-García Francisca, P. J. (2009). Phenylalanine ammonia-lyase, polyphenol oxidase, and phenol concentration in fruits of *Olea europaea* L. picual, verdial, arbequina, and frantoio during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 10331-10340.
- Ospina-Meneses, S. M., & Cartagena-Valenzuela, J. R. (2008). Modified atmosphere: an alternative for food preservation. *Revista Lasallista de Investigación* , 112-123.
- Pereyra L., R. S. (2005). Phenylalanine ammonia lyase activity in minimally processed Romaine lettuce. *LWT* , 38 (1), 67-72.
- Perez-Cabrera, L. E. (2003). *Aplicación de métodos combinados para el control del desarrollo del pardeamiento enzimático en pera (variedad Blanquilla) mínimamente procesada*. Valencia, España: Tesis Doctoral, Universidad Politécnica de Valencia.
- Poul, E., Lopez-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G., Welti-Chanes, J., & Swanson, B. (1999). Polyphenoloxidase activity and color blanching and high hydrostatic pressure treated banana puree. *Journal of Food Science* , 42-45.
- Puschmann, R., Simoes, A., Moreira, S. I., Soares, N., Carnellosi, M., & Gil, M. I. (2007). Calidad y actividad de la fenilalanin amonio liasa (PAL) en minizana horiaco con recubrimiento comestible antimicrobiano. *V Congreso*

*iberoamericano de tecnología postcosecha y agroexportaciones*, (págs. 616-624). Brasil.

- Quevedo, R., Jaramillo, M., Díaz, O., Pedreschi, F., & Aguilera, J. M. (2009). Quantification of enzymatic browning in apple slices applying the fractal texture Fourier image. *Journal of Food Engineering* , 95 (1), 285-290.
- Quintanar-Guerrero, D., Allémann, E., Doelke, E., & Fessi, H. (1998). Preparation and characterization of nanocapsules from preformed polymers by a new process based on emulsification-diffusion technique. *Pharmaceutical Research* , 15 (7), 1056-1062.
- Quintanilla-Carvajal, M. X., Camacho-Díaz, B., Meraz-Torres, L. S., Chanona-Pérez, J. J., Alamilla-Beltrán, L., Jiménez-Aparicio, A., y otros. (2009). Nanoencapsulation: A New Trend in Food Engineering Processing. *Food Engineering Reviews* , 39-50.
- Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barat, J. M., & Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in food Science and Technology* , 18 (1), 373-386.
- Robert, C., Soliva-Fortuny, & Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh cut fruit: a review. *Trends in Food Science and Technology* (14), 341-353.
- Rocha, A., Brochado, C., & Morais, A. (1998). Influence of chemical treatment on quality of cut apple. *Journal of Food Quality* , 13-20.
- Rojas-Graü, M. A. (2006). *Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: Una nueva estrategia de conservación*. Lleida, España: Tesis Doctoral. Universidad de Lleida.
- Rojas-Graü, M. A., Sobrino-López, A., & Tapia, M. S. (2006). Browning inhibition in fresh cut 'Fuji' apple slices by natural antibrowning agents. *Journal of Food Science* .
- Roura, S., Pereyra, L., & Del-Valle, C. E. (2008). Phenylalanine ammonia lyase activity in fresh cut lettuce subjected to the combined action of heat mild shocks and chemical additives. *LWT* (41), 919-924.
- Saftner, R., Abbott, J., Bhagwat, A., & Binyard, B. (2005). Quality measurement of intact and fresh-cut slices of fuji, granny smith, pink lady and goldrush apples. *Journal of Food Science* , 70 (5), 317-324.
- SAGARPA. (1982). *NMX-FF-014-1982*. Recuperado el 16 de Octubre de 2010, de Banco de normas nmexicanas: [www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/](http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/)
- SAGARPA. (1982). *NMX-FF-015-1982*. Recuperado el 16 de Octubre de 2010, de Banco de normas nmexicanas: <http://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/>

- SAGARPA. (2003). *NMX-FF-061-SCFI-2003*. Recuperado el 17 de Octubre de 2010, de SAGARPA: [http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Lists/Instrumentos%20Tcnicos%20Normalizacin%20y%20Marcas%20Colecti/Attachments/99/NMX\\_MANZANA.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Lists/Instrumentos%20Tcnicos%20Normalizacin%20y%20Marcas%20Colecti/Attachments/99/NMX_MANZANA.pdf)
- SAGARPA. (2010). *Servicio de información agroalimentaria y pesquera*. Recuperado el 16 de Octubre de 2010, de [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=350](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350)
- Saltveit, M. (1997). Physical and physiological changes in minimally processed fruits and vegetables. *Phytochemistry of fruits and vegetables* , 41 (1), 205-220.
- Sandhya. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT-Food Science and Technology* , 43 (1), 381-392.
- Sanz, J. C., & Gallego, R. (2001). *Diccionario del color*. Madrid: Akal.
- Shirsat, S., & Nair, P. (1981). Biochemical mechanism for the inhibition of phenylalanine ammonia-lyase induction in the absence of oxygen in potato tuber tissue. *Phytochemistry* , 20 (10), 2315-2318.
- Soliva-Fortuny, R., Alòs-Saiz, N., Epachs-Barroso, A., & Martín-Belloso, O. (2004). Influence of maturity at processing on quality attributes of fresh-cut Conference pears . *Journal of Food Science* , 290-294.
- Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruit: a review. *Trends in Food Science & Technology* , 341-353.
- Toivonen, P. M., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-fruit and vegetables. *Postharvest Biology Technology* , 1-14.
- Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture* , 81 (1), 853-876.
- Torrieri, E., Cavella, S., & Masi, P. (2009). Modelling the respiration rate of fresh-cut Annurca apples to develop modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Science and Technology* , 890-899.
- Vargas, L., Tamayo, J., Centurión, A., Tamayo, E., Saucedo, C., & Sauri, E. (2010). Vida útil de pitahaya (*Hylocereus undatus*) mínimamente procesada. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* , 154-161.
- Vargas, M., Pastor, C., Chiralt, A., McClements, D. J., & González-Martínez, C. (2008). Recent advances in edible coatings for fresh and minimally processed fruits. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* , 48 (6), 496-511.

## Bibliografía

- Vermerris, W., & Nicholson, R. (2006). *Phenolics Compounds Biochemistry*. Dordrecht, Holanda: Springer.
- Watada, A. E., & Qi, L. (1999). Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biology and Technology* , 201-205.
- Weiss, J., Takhistov, P., & McClements, D. J. (2006). Functional material in food nanotechnology. *Journal of food science* , 71 (9), 107-116.
- Yiu, H., Barta, J., & Cano, P. (2006). *Handbook of fruits and fruit processing* . USA: Willey-Blackwell.
- Zambrano-Zaragoza, M. L., Mercado-Silva, E., Gutierrez-Cortes, E., Castaño-Tostado, E., & Quintanar-Guerrero, D. (2010). Optimization of nanocapsules preparation by de emulsion-diffusion method for food applications. *Food Science and Technology* , 1-7.
- Zhu, M., Chu, C., Wanf, S., & Lencki, R. W. (2002). Predicting oxigen and carbon doxide partial pressures within modified atmosphere packages of cut rutabaga. *Journal of Food Science* , 714-720.