



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

Extracción de licopeno y L-citrulina a partir de la cáscara de sandía y su aplicación en una bebida funcional.

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO
DE INGENIERO EN ALIMENTOS**

PRESENTAN:

**GONZÁLEZ GÓMEZ MELINA
GUERRA MOYA JESSICA INÉS**

ASESORES:

**M. EN C. SELENE PASCUAL BUSTAMANTE
M. EN C. DAVID RODRIGO LÓPEZ SOTO**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Índice

Índice de tablas	iii
Índice de figuras.....	iv
Resumen.....	1
1. Introducción	3
2. Antecedentes	5
2.1. Historia de la sandía.....	5
2.2. Morfología y taxonomía de la sandía	6
2.3. Variedades de sandías en México	8
2.4. Producción de sandía en México	10
2.5. Licopeno	15
2.6. L-citrulina	18
2.7. Métodos de extracción de licopeno y L-citrulina	22
2.7.1 Extracción por el método de soxhlet	24
2.7.2. Extracción por el método de ultrasonido.....	24
2.7.3 Extracción por el método reflujo directo.....	26
2.8. Alimentos funcionales	29
2.8.1. Alimentos funcionales y su impacto en la sociedad.....	31
2.9 Bebida funcional.....	34
3. OBJETIVOS.....	38
3.1 Objetivo general.....	38
3.2 Objetivos particulares	38
4. Metodología	40
4.1 Cuadro metodológico	40
4.2. Tratamiento de la muestra	41
4.3. Extracción de licopeno de la cáscara de sandía	41
4.3.1. Extracción de licopeno por el método de extracción asistida por ultrasonido.....	42
4.3.2. Extracción de licopeno por el método de Soxhlet.....	42
4.4 Extracción de L-citrulina de la cáscara de sandía	43
4.4.1 Extracción de L-citrulina por el método reflujo directo.....	43
4.4.2. Extracción de L-citrulina por método Soxhlet.....	44



4.5. Establecimiento de la formulación para la elaboración de la bebida funcional	44
4.6 Evaluación sensorial de la bebida funcional.....	47
4.7 Evaluación de la vida de anaquel de la bebida adicionada con extracto de L-citrulina y licopeno	48
4.8 Técnicas analíticas	49
4.8.1 Cuantificación de Licopeno por espectrofotometría.....	49
4.8.2 Cuantificación de L-citrulina.	50
4.8.3 Color	51
4.8.4 Medición de pH	52
4.8.5 Determinación de capacidad antioxidante por método de ABTS.	52
4.8.6 Conteo microbiológico	53
4.9 Análisis estadístico	54
5. Resultados y discusión	55
5.1 Contenido de licopeno en el extracto de cáscara de sandía	55
5.2 Contenido de L-citrulina en el extracto de cáscara de sandía.....	59
5.3 Evaluación sensorial de la bebida funcional adicionada con el extracto de cáscara de sandía rico en L-Citrulina	62
5.4 Evaluación de la vida de anaquel de la bebida funcional adicionada con extracto de sandía rico en L-Citrulina	64
5.4.1 Descriptores microbiológicos, físicos y fisicoquímicos.	64
5.4.2 Determinación de L-citrulina en la vida de anaquel	65
5.4.3 Determinación de la capacidad antioxidante en la vida de anaquel.	67
5.4.4. Determinación de pH en vida de anaquel.	68
5.4.6 Sensorial.....	73
5.4.7 Cálculo del tiempo estimado de la bebida funcional por medio de un modelo cinético y los parámetros de cinética de degradación.	76
6. Conclusiones	79
7. Recomendaciones	82
8. Referencias:	83



Índice de tablas

Tabla 1. Taxonomía de la sandía.....	6
Tabla 2. Clasificación botánica de la sandía.	7
Tabla 3. Variedades de sandía clasificadas genéticamente	9
Tabla 4. Variedades más comunes de sandía en México.....	10
Tabla 5. Carbohidratos más comunes en la sandía.....	13
Tabla 6. Principales nutrientes de la sandía.....	14
Tabla 7. Composición química de la cáscara de sandía.....	14
Tabla 8. Estudios del efecto del consumo de licopeno en humanos y animales.	17
Tabla 9. Estudios de la suplementación con L-citrulina en humanos.....	21
Tabla 10. Métodos de extracciones convencionales y no convencionales	23
Tabla 11. Parámetros a evaluar durante la extracción asistida por ultrasonido	25
Tabla 12. Ventajas de la aplicación de ultrasonido para la extracción de compuestos bioactivos.....	26
Tabla 13. Métodos de extracción de licopeno y L-citrulina de diferentes fuentes.	28
Tabla 14. Principales ingredientes utilizados para enriquecer los alimentos	30
Tabla 15. Bebidas funcionales más consumidas en México y su participación en el mercado.....	36
Tabla 16. Formulaciones de la bebida funcional adicionada con extracto de licopeno y L-citrulina obtenido de cáscara de sandía.	45
Tabla 17. Conteo de mésofilos aerobios y coliformes totales durante la vida de anaquel.	65
Tabla 18. Coeficientes de correlación de los parámetros críticos.	76
Tabla 19. Constantes de velocidad de reacción y E_a de la bebida funcional.	76



Índice de figuras

Figura 1. Volumen de sandía producida en el mundo	11
Figura 2. Principales regiones productoras de sandía en México,	12
Figura 3. Estructura molecular del licopeno	16
Figura 4. Estructura molecular de L-citrulina.....	18
Figura 5. Metabolismo de L-citrulina	19
Figura 6. Equipo reflujo directo	27
Figura 7. Alimentos y bebidas funcionales por región	32
Figura 8. Tendencias seguidas por las empresas en México.	33
Figura 9. Las bebidas funcionales en las diferentes regiones del mundo ...	35
Figura 10. Cáscara de sandía seca y tamizada en malla No.20 y No.40 .	41
Figura 11. Muestra de cáscara se sandía con etanol para la extracción asistida por ultrasonido.....	42
Figura 12. Equipo Soxhlet	43
Figura 13. Equipo reflujo directo	43
Figura 14. Equipo Soxhlet	44
Figura 15. Diagrama de proceso para la elaboración de la bebida.....	45
Figura 16. Formato evaluación sensorial.....	48
Figura 17. Sobrenadante a recuperar para la lectura en el espectrofotómetro.....	50
Figura 18. Colorimetría konica minolta.....	51
Figura 19. Potenciómetro.....	52
Figura 20. Celdas ABTS y solución trolox.....	53
Figura 21. Contenido de licopeno obtenido a partir de la extracción asistida por ultrasonido aplicado a cáscara de sandía con diferentes concentraciones de solvente.....	55
Figura 22. Contenido de licopeno en los extractos obtenidos de la cáscara de sandía por el método de extracción asistida por ultrasonido (EAU) y Soxhlet.....	57



Figura 23. Contenido de L-citrulina obtenido a partir de la extracción por el método de Soxhlet aplicado a cáscara de sandía con diferentes concentraciones de solvente.....	59
Figura 24. Contenido de L-citrulina obtenida a partir de la extracción por el método de reflujo directo aplicado a cáscara de sandía con diferentes concentraciones de solvente.....	60
Figura 25. Contenido de L-citrulina en los extractos obtenidos de la cáscara de sandía por el método de soxhlet y reflujo directo	61
Figura 26. Evaluación sensorial Olor , Color y Sabor de tres bebidas funcionales adicionadas con extracto de cascara de sandía rico en L-Citrulina.....	63
Figura 27. Evaluación de los cambios en el contenido de L-Citrulina en la bebida funcional adicionada con el extracto de cáscara de sandía durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.	66
Figura 28. Evaluación de los cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.	67
Figura 29. Evaluación de los cambios de pH durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.....	69
Figura 30. Evaluación de los cambios de la luminosidad durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.	70
Figura 31. Evaluación de los cambios en los °Hue durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.	71
Figura 32. Evaluación de los cambios en la cromaticidad durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.	72



Figura 33. Evaluación sensorial del olor de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina durante la vida de anaquel.73

Figura 34. Evaluación sensorial del color de la bebida funcional adicionadas con extracto de cáscara de sandía rico en L-Citrulina durante la vida de anaquel.74

Figura 35. Evaluación sensorial del sabor de la bebida funcional adicionadas con extracto de cáscara de sandía rico en L-Citrulina durante la vida de anaquel.75

**Resumen**

La sandía es una fruta de gran importancia económica para México, considerado como el primer país exportador de esta fruta en el mundo. Este fruto es consumido principalmente en fresco por su característico sabor dulce, aportando un alto porcentaje de agua y algunos micronutrientes esenciales y vitaminas. Resultando de la producción en México un 32% de cáscara, considerado un residuo que puede ser aprovechado. Una alternativa consistiría en el aprovechamiento de los compuestos funcionales presentes en este subproducto y la posibilidad de ser reutilizados en la industria alimentaria para desarrollar nuevos productos alimenticios que brinden directamente una o más funciones en el cuerpo es por ello que el objetivo de este trabajo es obtener licopeno y L-citrulina presentes en la cáscara de sandía (*Citrullus lanatus*) mediante diferentes métodos de extracción para su aplicación en el desarrollo de una bebida funcional.

Las sandías utilizadas fueron de la variedad *Jubilee*, estas fueron lavadas y despulpadas, la cáscara obtenida se troceó en pedazos pequeños para ser licuados, posteriormente la cáscara molida se filtró para retirar un porcentaje de humedad colocándose después en un horno de convección a una temperatura de 50°C por 24 h aproximadamente, la muestra seca se molió y tamizó en dos tamaños de partícula, utilizando las mallas número 40 (0.420 mm) y 20 (0.841 mm). La extracción de licopeno fue mediante los métodos de extracción asistida por ultrasonido y Soxhlet mientras que para la extracción de L-citrulina los métodos empleados fueron Soxhlet y reflujo directo utilizando etanol como solvente, a tres diferentes concentraciones (60, 70 y 80 % v/v). En la extracción de licopeno la mayor concentración se obtuvo por el método de extracción asistida por ultrasonido usando etanol al 80% obteniendo 0.12mg de licopeno por 100g de muestra, en el caso de L-citrulina el método que presentó mayor rendimiento fue el de reflujo directo con una concentración de 60 % de etanol obteniendo 10.69 mg/mL del compuesto. En cuanto al tamaño de partícula, no se encontró diferencia significativa ($p \geq 0.05$) para



ambos compuestos. Una vez obtenido los extractos de licopeno y L-citrulina se diseñó la formulación de una bebida funcional a la cual se le evaluó la vida de anaquel, teniendo como resultado que la vida útil de la bebida fue de 61 días. Por lo que se concluye que el aprovechamiento de los residuos de la sandía es una buena fuente de compuestos funcionales, que se pueden aplicar en el desarrollo de algunos productos, aumentando así su valor nutricional.



1. Introducción

La sandía es una fruta de gran importancia económica para México, ya que éste es considerado el primer país exportador de esta fruta en el mundo, siendo el estado de Sonora el principal productor del país aportando 250,225 toneladas al año. Esta cantidad equivale al 19 % del valor producido lo que correspondería a 126 millones de dólares anuales (Reho, 2014). El procesamiento industrial de los alimentos genera día con día una gran cantidad de residuos derivados de las partes no comestibles de las frutas. Uno de los residuos que más se genera del procesamiento de la sandía es su cáscara, ocupando un 32% del peso total de la fruta. La cáscara de la sandía es una fuente importante de licopeno y L-citrulina, el primer compuesto es el carotenoide responsable del característico color rojo profundo del fruto; mientras que la L-citrulina es un aminoácido no protéico producto de la desaminación de la L-arginina (Carmona, 2013).

El licopeno es una carotenoide que se encuentra en la naturaleza como pigmento natural liposoluble presente en algunas frutas y verduras como el jitomate, sandía, papaya y guayaba (Vitale *et al.*, 2010). Este compuesto presenta mayor poder antioxidante que el β -caroteno y actúa protegiendo a las células del estrés oxidativo producido por la acción de los radicales libres. Debido a esto su ingesta juega un papel significativo en la prevención de enfermedades crónicas como cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas de hipertensión (Calvo, 2003).

La L-citrulina es un aminoácido no esencial, presente en la sandía, calabaza, pepino y el melón. De acuerdo a diferentes estudios clínicos se ha comprobado que el consumo de L-citrulina puede producir efectos benéficos en el proceso de retraso de la fatiga muscular por participar en las reacciones de remoción del amonio en el organismo, además de ser un excelente antioxidante (Riofrío & Cruz, 2012).



El acelerado estilo de vida del siglo XXI ha provocado importantes cambios en la forma y calidad de la alimentación mundial. Los nuevos y algunas veces pocos saludables hábitos alimenticios de la población junto con el sedentarismo y el estrés inducen al incremento de enfermedades como la diabetes, obesidad, hipertensión arterial y cáncer entre otras, que se convierten en un problema de salud pública en muchos países. En México cada hora fallecen aproximadamente 14 personas por enfermedades cardiovasculares y se calcula que el 20% de la población con edades de 30 y 70 años muere prematuramente por esta causa. En la búsqueda de una respuesta a dichos problemas de salud y gracias a los importantes avances científicos y al desarrollo tecnológico, actualmente se pretende fomentar el consumo de alimentos funcionales (Rubiano, 2006).

Estos alimentos se caracterizan por brindar directamente una o más funciones en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, de manera que su consumo resulta conveniente para el mantenimiento o la promoción de un estado de bienestar y salud o la reducción del riesgo de un proceso patológico (Roberfroid, 2000).

Por lo cual, el objetivo del presente trabajo es el aprovechamiento de la cáscara de la sandía mediante la extracción de licopeno y L-citrulina que al ser adicionados a una bebida se contribuirá al desarrollo de un nuevo producto funcional que aporte grandes beneficios a la salud de la población



2. Antecedentes

2.1. Historia de la sandía.

La sandía es una planta herbácea monoica, cuyo origen data en el desierto de Kalahari en el continente Africano, dónde actualmente crece de forma silvestre (Giacconi, 1989). Los hallazgos más remotos datan del año 3000 a.C. y fueron encontrados en Egipto, siendo los fértiles márgenes del río Nilo las zonas que permitieron la expansión y cultivo de esta fruta. De Egipto la popularidad de la sandía se propago por medio de los comerciantes, quienes vendían las semillas a lo largo de las rutas comerciales del mediterráneo (ASERCA, 1999).

Tiempo después la sandía fue introducida por los musulmanes durante el período de dominación árabe de la península Ibérica entre los siglos VIII y XV. Su nombre marca esta procedencia ya que proviene del árabe hispánico “sandíyya”, y éste del árabe clásico “sindiyyah”, de Sind, una región del actual Pakistán (Abarca, 2017). Ampliándose su comercialización también en los países ribereños como Italia, Grecia, o España.

Tras el descubrimiento de América fueron los pobladores europeos los que la introducirían en el Nuevo Mundo, extendiendo su cultivo por todo el continente (ASERCA 1999).

La especie se ha extendido por todo el mundo y se le cultiva en las regiones tropicales y sub-tropicales del planeta. Las características de sus raíces se adaptan perfectamente a los climas tropicales o cálidos ya que profundizan muy poco en la tierra y se extienden a lo largo del suelo en una amplia superficie, permitiéndoles absorber con rapidez el agua de lluvia o el simple rocío de la mañana.

Aunque las sandías silvestres poseen un tamaño inferior a las cultivadas y su sabor es muy amargo no resultan ser un alimento demasiado agradable. El ser humano ha ido eliminando el amargor mediante el cultivo y la selección de especies obteniendo una fruta de mayor tamaño con semillas medianas y pulpa dulce de color rojo. Donde también existen cultivares cuya pulpa es de




color amarillo, anaranjado, e incluso hay tonalidades de rojo desde el rojo pálido hasta un rojo profundo más atractivo a la vista.

2.2. Morfología y taxonomía de la sandía.

De acuerdo con la norma NMX-FF- 075-1990 se entiende por sandía al fruto de forma elipsoidal u oblonga, de tamaño variable, de corteza verde; de acuerdo con la variedad, la parte interna de ésta y la pulpa (porción comestible) son carnosas y jugosas siendo de color blanco la primera y rojo intenso o pálido la segunda. La fruta pertenece a la familia de las Cucurbitáceas del género y especie (*Citrullus vulgaris* S.) y se caracteriza por su sabor dulce, con gran número de semillas negras o café oscuro.

Citrillus Lanatus comúnmente llamada sandía, patilla, paitilla, agua melón o melón de agua es una planta de la familia Cucurbitácea. De acuerdo con (Valdiviezo ,2008) la nomenclatura taxonómica que recibe la sandía se muestra en la Tabla 1:

Tabla 1.- Taxonomía de la sandía

Reino	Plantae	
Subreino	Eumetazoa	
Phylum	Magnoliophyta	
Clase	Magnoliopsida	
Orden	Cucurbitales	
Familia	Cucurbitácea	
Género	<i>Citrullus</i>	
Especie	<i>C. Lanatus</i>	

Fuente: Valdiviezo (2008).

En la tabla 2 se muestra la clasificación botánica de la sandía según (Maroto, 1983).



Tabla 2.- Clasificación botánica de la sandía.

Nombre	Características	Ejemplo
1. Raíz y Tallo	De desarrollo rastrero con un sistema radicular amplio y superficial, (aunque la raíz principal puede profundizar); de tallos blandos, delgados, estriados y rastreros, cuya longitud puede medir entre 1.5 y 5 metros, están cubiertos de pelos y provistos de zarcillos que salen de las hojas.	
2. Hojas	Son pinadas partidas, y están divididas en varios segmentos redondeados, presentándose en talladuras profundas sin llegar a la nervación principal.	
3. Flores	Aparecen en las axilas de las hojas y pueden ser masculinas o femeninas de color amarillo, solitarias y de polinización.	
4. Fruto	Es una baya globosa u oblonga de tamaño variable, pudiendo pesar entre 2 y 15 Kg. La pulpa es roja, la corteza puede ser lisa o listada, con un color variable que oscila entre el verde oscuro y el verde claro.	

Fuente: Maroto (1983).

En términos generales la sandía se clasifica por diferentes características agronómicas, como el color de la cáscara, el tamaño del fruto, forma, sabor, etc. Todas estas características van a depender de la variedad del fruto ya



que actualmente gracias a la genética, mediante la selección y cruzamiento de algunas variedades de sandía se han conseguido híbridos con gran éxito. Por esta razón hoy en día podemos encontrar sandías con diferentes características por ejemplo, aquellas variedades que carecen de semillas o tienen un tamaño pequeño.








2.3. Variedades de sandías en México

Actualmente existe un amplio catálogo de variedades de sandía, éstas pueden ser alargadas o redondas, de superficie o corteza de color verde brillante, su pulpa va de un color rojizo, rosado o amarillo, tiene numerosa semillas de color negro, blanco o castaño y el peso puede ser muy variable (Abarca, 2017). Genéticamente existen dos tipos de sandías: la primera son las sandías diploides o con semillas, que son las variedades cultivadas tradicionalmente que producen semillas negras o marrones de consistencia leñosa y con cáscara de color verde oscuro; el segundo tipo son las sandías triploides o sin semillas, las variedades de este tipo tienen semillas tiernas de color blanco que pasan desapercibidas al comer el fruto, se caracterizan por tener la corteza verde clara con rayas verdes oscuras y la carne puede ser de color rojo o amarillo (Canales, 2015).

Actualmente se tiene constancia de más de cincuenta variedades de sandías, las variedades tradicionalmente más cultivadas en el mundo son las que se muestran en la Tabla 3 clasificadas genéticamente (Canales, 2015).






Tabla 3.- Variedades de sandía clasificadas genéticamente

Sandias diploides o con semillas		Sandias triploides y sin semillas
Frutos redondos	Frutos Alargados	Apirena 
Crimson sweet 	Klondike 	
Sugar baby 	Charleston grey 	Reina de corazones 
Early star 		*Jack *Pepsin

Fuente: Canales (2015).

México ocupa el primer lugar de exportación en sandía, siendo su principal mercado Estados Unidos, Canadá y Holanda. La fruta para ser exportada debe cumplir con ciertas características como tener un peso mínimo esto dependiendo de la variedad cultivada. Por tal razón en México se cultivan principalmente tres variedades estudiadas desde 1988 (Acosta *et al.*, 2003) mostrándose en la tabla 4.

**Tabla 4.-** Variedades más comunes de sandía en México

Nombre	Descripción	Ejemplo
Jubilee	El fruto tiende a ser ligeramente oblongo, el color externo es verde brillante con líneas de color verde oscuro y regulares la pulpa es rojo brillante y muy dulce, las semillas pequeñas de color café oscuro.	
Pea Cok	Variedades que producen frutos oblongos de cáscara verde oscura; pulpa de color rojo anaranjada, y semillas pequeñas de color café.	
Charleston Gray	La epidermis es grisácea con un reticulado fino de color verde, la pulpa es roja brillante dulce y de buen sabor, las semillas son oscuras.	

Fuente: Valdiviezo (2008).

2.4. Producción de sandía en México

La sandía es uno de los productos agrícolas que se cultiva en casi todo el mundo. Por su frescura es un producto muy demandado, principalmente en la época de calor, aunque su agradable sabor la hace apetecible en cualquier época del año (ASERCA, 1999). En el periodo de 2012 a 2015 se ha observado un crecimiento paulatino de la producción mundial de este fruto, el cual se observa en la figura 1.

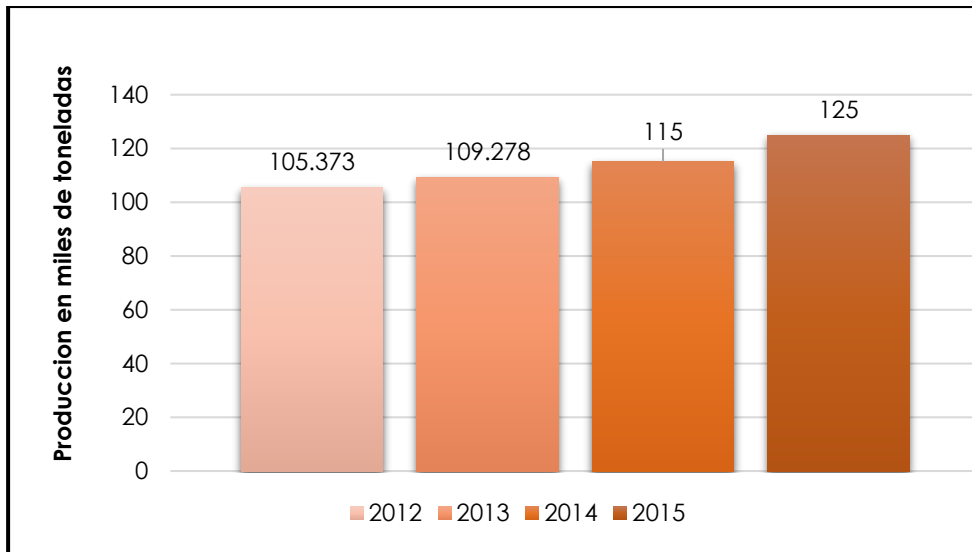


Figura 1. Volumen de sandía producida en el mundo
Fuente: Elaborada a partir de datos obtenidos de Statista (2017)

En 2015, el volumen de producción de este fruto superó los 120 millones de toneladas, lo que supone un crecimiento de 10 millones de toneladas con respecto a la cifra registrada el año anterior. Los principales productores de este fruto a nivel mundial son: China que ocupa la primera posición con 70.000 millones de kilos, seguida por Turquía con 4.044 millones de kilos e Irán, con 3.800 millones de kilos (Horto 2014). Ocupando China la mayor parte de su producción para su mercado interno y en lo relativo a Europa la mayor parte de las sandías que importan proceden de Turquía.

México ocupa actualmente el onceavo lugar en la lista de productores mundiales con 1.199 mil toneladas al año, de los huertos nacionales se obtiene nueve de cada mil sandías que se cosechan en todo el hemisferio (SIAP 2015). La producción primaria de la sandía en México se realiza principalmente en cinco regiones del país que comprenden 27 estados, éstas regiones son: Pacífico (45 % del total nacional), Norte-Centro (29 %), Golfo (19 %), Península de Yucatán (6 %), y Centro (1 %). En la figura 2 se muestran las regiones productoras de México.



Figura 2.- Principales regiones productoras de sandía en México, Fuente: Canales (2009).

Los estados líderes en producción son Sonora generando 36.7 % de la producción nacional, seguido de Jalisco con 10.3 %, los cuales aportan cerca de la mitad de la producción nacional cercana al millón de toneladas. El principal municipio productor de sandía de Sonora es Hermosillo aportando el 53.6 % del volumen del estado, mientras que de Jalisco es Puerto Vallarta con 29.7 % (SIAP, 2015).

Algo que caracteriza a México es que ocupa el primer lugar en exportación de este fruto promoviendo el 23 % del comercio mundial, catalogado en el mundo por sus altos niveles de diversidad, sanidad e inocuidad.

La comercialización de la sandía en México, se inicia con la demanda de los exportadores, mismos que en forma individual y/o mediante sus asociaciones le proponen las fechas de la siembra. Las ventanas de comercialización de los Estados Unidos se dan en el periodo de diciembre hasta mediados de abril y de enero a marzo para Canadá (Canales 2015). El periodo de exportaciones es de octubre a junio, siendo abril y mayo los meses de mayor actividad (SAGARPA 2012).



Estando en su punto óptimo a lo largo del verano y principios del otoño, resulta ser una buena opción de consumo este fruto durante la temporada de temperaturas altas por su contenido de 93 % de agua y por cada 100 g, aporta solamente 20 calorías, además destaca por su alto contenido de licopeno. (SAGARPA 2012).

Lo anterior además de resaltar la calidad, sanidad así como los beneficios que aporta consumir sandía, deja en claro que el principal comprador es Estados Unidos, cuyos consumidores valoran altamente las sandías mexicanas (SAGARPA 2012).

2.4. Composición química de la sandía

La sandía contiene más del 91 % de agua y hasta un 8 % de carbohidratos. Se podría decir que es la fruta que más cantidad de agua contiene, por lo que su valor calórico es muy bajo, siendo de 20 calorías por 100 gramos de fruta. La sandía es una fruta dulce, sin embargo es baja en carbohidratos y contiene azúcares naturales como la fructosa la cual se encuentra en mayor cantidad, en la tabla 5 se presentan las concentraciones de los carbohidratos más comunes en la fruta.

Tabla 5.- Carbohidratos más comunes en la sandía.

Carbohidratos	Cantidad (g/100g de sandía)
Fructosa	2.65
Glucosa	1.37
Sacarosa	1.59

Fuente: Alimentos (2018).

Entre los micronutrientes que más destacan en la sandía están las vitaminas, diferentes minerales como el potasio y el magnesio. Se puede observar en la tabla 6, la sandía es una fuente excelente de vitamina C y de vitamina A, aportando 9.6 mg y 33 mg por cada 100 gramos de muestra (Reardon, 2007).

**Tabla 6.-** Principales nutrientes de la sandía

Nutriente	Valor por 100g	Minerales	Valor por mg/100g	Vitaminas	Valor por mg/100g
Agua	9.51	Calcio	8	Vitamina C	9.6
Proteína	0.62	Magnesio	11	Tiamina	0.080
Grasas	0.43	Fósforo	9	Riboflavina	0.020
Carbohidratos	7.18	Potasio	116	Niacina	0.200
Fibra dietética	0.5	Sodio	2	Ácido Pantoténico	0.212
Cenizas	0.26	Zinc	0.07	Vitamina B-6	0.144
Energía	32	Cobre	0.032	Vitamina A	33

Fuente: Reardon (2007).

Esta fruta es una fuente importante de licopeno, el característico color rosado de su pulpa se debe a la presencia de este compuesto. Además también es una fuente de L-citrulina principalmente presente en la cáscara, este es un aminoácido no protéico que trae grandes beneficios a la salud. Por todo lo mencionado anteriormente podemos darnos cuenta que la sandía es un fruto idóneo para incluir en la dieta diaria, no sólo es buena para la salud, también es refrescante.

Es importante destacar que no solo la pulpa del fruto es rica en nutrientes si no también la parte no comestible como lo es la cáscara generándose aproximadamente un 32 % de este residuo según la producción total en México. De los nutrientes que destacan de este residuo son algunos minerales, vitaminas y compuestos con capacidad antioxidante como licopeno y L-citrulina mostrándose en la tabla 7 el contenido de los diferentes nutrientes.

**Tabla 7.-** Composición química de la cáscara de sandía.

Composición por 100 gramos de porción comestible			
Agua	90 - 93.45	Ácido fólico (mcg)	3
Calorías Kcal	20 - 32	Sodio (mg)	2
Hidratos de carbono (g)	4,5 - 6.7	Licopeno (mcg)	18
Proteínas (g)	0.61 - 0.65	Vit. A (mcg EN)	37
Fibra (g)	0,3 - 0.5	Vit. B1 (mg)	0.080
Potasio (mg)	88,5 - 116	Vit. B3 (mg)	0.317
Magnesio (mg)	11	Vit. B6 (mg.)	0.144
Calcio (mg)	7	Vit. C (mg.)	9.6
Hierro (mg)	0.3	L-citrulina(mg)	212

Fuente: Elaborado con información de Ríofrio & Cruz (2012).

El licopeno ha sido ampliamente estudiado debido a sus propiedades anticancerígenas y antioxidantes, este compuesto protege nuestro material genético del estrés oxidativo que está presente en la célula. Además libera al cuerpo de los radicales libres los cuales, en cantidades normales ayudan al cuerpo a liberar toxinas y mantenerlo saludable, pero en altas cantidades se vuelven tóxicos dañando el sistema celular del organismo (Reardon, 2007).

Otro de los compuestos por los cuales es importante el aprovechamiento de la cáscara de la sandía es la L-citrulina que ayuda en el proceso de retraso de la fatiga muscular por participar en las reacciones de remoción del amonio en el organismo (Desamero *et al.*, 1993).

2.5. Licopeno

El licopeno (figura 3) es el caroteno más simple y está compuesto por ocho unidades de isopreno. Su estructura química es $C_{40}H_{56}$ y su peso molecular es de 536,85 g/mol, una principal característica de este compuesto es su solubilidad en solventes orgánicos, siendo mayor que en agua (The EFSA Journal 2008).

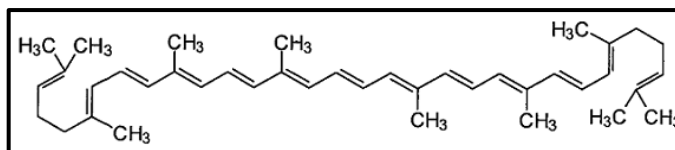


Figura 3. Estructura molecular del licopeno
Fuente: Serrano (2016).

Se encuentra en la naturaleza como pigmento natural liposoluble responsable del color rojo y naranja de algunas frutas y verduras. Se caracteriza por poseer una estructura química de cadena abierta alifática formada por cuarenta átomos de carbono con trece enlaces dobles de los cuales once son conjugados, por lo que es muy reactivo frente al oxígeno y a los radicales libres (Aràndiga & Díaz, 2008).

El licopeno pertenece a la familia de los carotenoides, sustancias que no sintetiza el cuerpo humano, sino los frutos y vegetales, debiéndolo tomar en la alimentación como micronutriente.

Este carotenoide se obtiene principalmente de los tomates pero también se encuentra en otras frutas como son la sandía, la toronja rosada, la guayaba rosada, el pimiento rojo y la papaya (Vitale *et al.*, 2010).

Además de estar presente en los alimentos, el licopeno es uno de los carotenoides que se encuentra distribuido en mayores cantidades en el suero humano y los diferentes tejidos (hígado, riñón, glándulas renales, testículos, ovarios y próstata). Su concentración depende de su ingestión alimentaria, pero está poco influenciada por la variación del día a día, debido a que la vida media del licopeno en plasma es de 12 a 33 días (Waliszewski y Blasco, 2010).

El licopeno ha sido ampliamente estudiado debido a sus propiedades anticancerígenas y antioxidantes, a diferencia de otros nutrientes cuyos efectos han sido estudiados únicamente en animales, las propiedades del licopeno si se han estudiado en seres humanos, concluyendo que el licopeno



puede prevenir varios tipos de enfermedades (Reardon 2007). En la tabla 8 se presentan algunas investigaciones de licopeno y sus beneficios.

Tabla 8.- Estudios del efecto del consumo de licopeno en humanos y animales.

Estudio	Metodología	Principales efectos	Referencia
Efecto del licopeno en la reducción del estrés oxidativo en ratas con diabetes.	Durante 30 días se administró vía oral diferentes dosis de licopeno (10, 30 y 60 mg/kg/día) a ratas.	El tratamiento crónico con licopeno puede atenuar la disfunción endotelial al reducir el estrés oxidativo.	Zhu <i>et al.</i> , (2011).
Efecto ateroprotector del licopeno	Se suplementaron 5 mg/kg de peso de licopeno durante 4 semanas en un grupo de conejos.	El licopeno disminuyó significativamente el colesterol total y colesterol-LDL en el suero en los conejos del grupo experimental en comparación con los del grupo control.	Lorenz <i>et al.</i> , (2012).
Efectos del licopeno contra varios tipos de cáncer como mama, cérvix, ovario, pulmón, tracto intestinal, cavidad oral y próstata	Se comparó el efecto de pasta de tomate, perlas de licopeno y una dieta control en ratones	Los ratones alimentados con perlas de licopeno puro presentaron menor incidencia de cáncer de próstata y menor daño oxidativo al ADN que las del grupo control. Los animales alimentados con pasta de tomate no presentaron diferencia significativa respecto grupo control en cuanto a la incidencia de cáncer pero si un menor daño oxidativo.	Konijeti <i>et al.</i> , (2011).
Efectos del licopeno sobre la inflamación sistémica y asociada a HDL	Se suministraron dietas ricas en licopeno con diferentes dosis a 42 sujetos de mediana edad con sobrepeso moderado para evaluar su efecto.	Se observó que el aumento en la ingesta de licopeno produce incrementos de sus niveles sistémicos y asociados a HDL en el suero.	McEneny <i>et al.</i> , (2012).
Ingesta de licopeno en mujeres pre- y post menopáusicas	Utilizando una encuesta semanal de consumo en número de porciones y mg/día, se dividió los alimentos en dos categorías: los que son fuente de licopeno y los demás alimentos que contienen licopeno.	Los resultados mostraron una relación inversa entre el consumo de alimentos ricos en licopeno y la presencia de riesgo cardiovascular (RCV).	Torresani, (2009).



2.6. L-citrulina

L-citrulina es un aminoácido no esencial, presente en los mamíferos y también en cada organismo vivo. El nombre de este aminoácido se deriva de la palabra latina *Citrullus vulgaris* debido a que fue aislada por primera vez a partir de la sandía en el año 1930 (Rimando & Perkins, 2005).

Este compuesto es producido por el cuerpo de forma natural durante el ciclo de la urea, pero también se puede encontrar este compuesto en algunos alimentos como las sandías, pepinos, calabazas, melones, melones amargos, zapallos, calabazas, etc. En dosis postuladas como terapéuticas (1 a 3 g/día) no se han observado efectos adversos (Collins *et al.*, 2007).

Su función básica es en la desintoxicación del amoníaco del cuerpo a través de la conversión a urea. También puede funcionar como un potente eliminador de radicales hidroxilo (Yokota *et al.*, 2002). En la figura 4 se muestra la estructura orgánica de este compuesto.

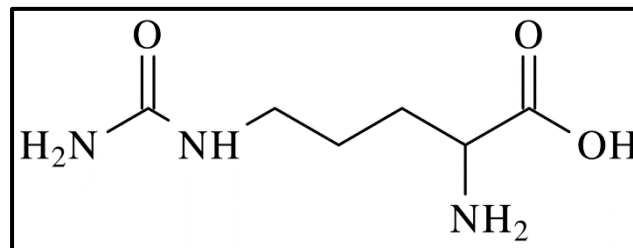


Figura 4 Estructura molecular de L-citrulina
Fuente: Química Alkano (2016).

Aunque la L-citrulina no está genéticamente codificada para ninguna proteína conocida, ésta puede formar parte de algunas proteínas debido a modificaciones post-traduccionales generando fenómenos inmunes. La L-citrulina circula en el plasma sanguíneo, dónde puede reflejar funcionalidad intestinal y se convierte periféricamente en arginina lo que ha llevado a investigar su potencial como vaso activo (Sureda & Pons, 2012).



La L-citrulina es esencial para producir arginina, a su vez, se necesita arginina para producir óxido nítrico (NO), que actúa como un vasodilatador endógeno (Flam *et al.*, 2007), desarrollando un papel importante en lo relativo a las enfermedades cardiovasculares, beneficiando a la relajación de los vasos sanguíneos lo que permite un mayor flujo sanguíneo. En la figura 5 se muestra el metabolismo de la L-citrulina y su efecto como vasodilatador.

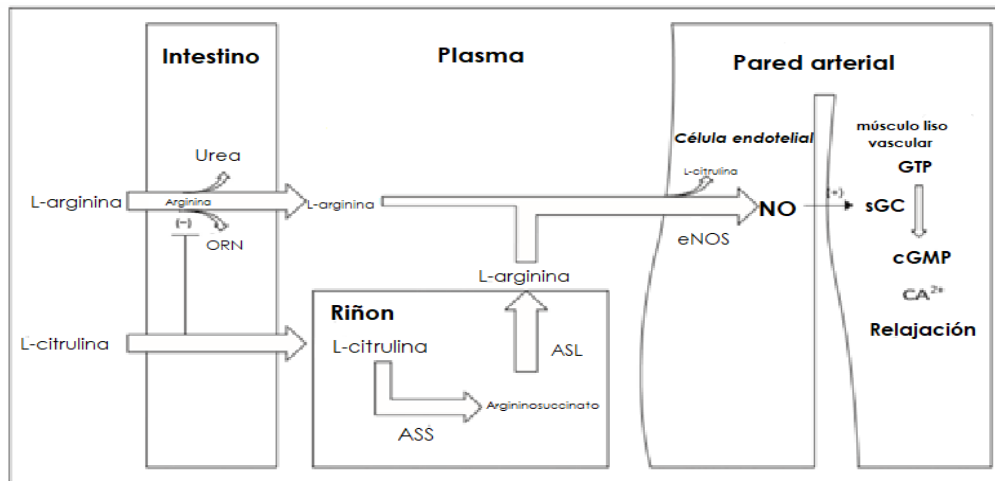


Figura 5 Metabolismo de L-citrulina

Fuente: Figueroa (2016).

La L-citrulina al ingerirse se dirige al intestino, posteriormente al absorberse se va hacia los riñones en donde se metaboliza en argininosuccinato a partir de la enzima argininosuccinato sintetasa y por medio de la argininosuccinato liasa se obtiene en L-arginina, la cual es transportada hasta las células endoteliales donde es metabolizada nuevamente en L-citrulina y óxido nítrico por la enzima óxido sintasa. El óxido nítrico obtenido es difundido al músculo liso vascular, donde funciona como un segundo mensajero activando la acción de la enzima guanilil ciclasa encargada de sintetizar la molécula ciclo monofosfato de guanocina que permite que el retículo sarcoplásmico secuestre el Ca²⁺ reduciendo su concentración y permitiendo así la relajación de la arteria (Figueroa, 2016).

Es importante destacar que se le atribuye a la L-citrulina el aumento del rendimiento físico durante el ejercicio, esto se deriva por medio de dos



mecanismos. En primer lugar después de la síntesis de L-arginina a partir de L-citrulina en los riñones, la mayor parte de la L-arginina se libera en el plasma. Esto aumenta su biodisponibilidad para la síntesis de óxido nítrico donde una vez formado restringe el consumo de oxígeno, atando la oxidación del citocromo en las mitocondrias, de tal modo que facilita la distribución del oxígeno dentro de los músculos esqueléticos (Zhao *et al.*, 2015) y (Moinard *et al.*, 2016).

En segundo lugar, la urea es el principal vehículo para eliminar el nitrógeno (amoníaco) en el hígado. En el ciclo de la urea, la arginina producida a partir de L-citrulina es catabolizada por la arginasa en ornitina y urea. El amoníaco está asociado con la fatiga muscular debido a su capacidad para aumentar la glucólisis anaeróbica y producir ácido láctico. Con base en estos mecanismos, se postula que la L-citrulina puede aumentar el rendimiento del ejercicio al mejorar el consumo de oxígeno en el músculo esquelético o al disminuir la producción de ácido láctico (Cutrufello *et al.*, 2015). El amoníaco a su vez activa la fosfofructoquinasa y previene la oxidación de piruvato a acetil CoA, lo que conduce al agotamiento y fatiga inducida por el ejercicio. La L-citrulina también actúa como agente antioxidante protegiendo a las plantas de las situaciones de estrés en condiciones de sequía. Un fenómeno único que se observa en la sandía es la cantidad de acumulaciones masivas de citrulina en sus hojas, lo que hace que su aparato fotosintético sea funcional incluso en períodos de sequía prolongada y una fuerte luz solar. En condiciones de estrés, las especies reactivas de oxígeno, incluidos los radicales hidroxilo, aumentan el daño oxidativo a las plantas que afectan a sus ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos (Rimando & Perkins 2005).

Los estudios de la L-citrulina sugieren una potente acción de eliminación de radicales, que proporciona protección contra lesiones oxidativas y mantenimiento del estado hídrico (Kawasaki *et al.*, 2000).



En la tabla 9 se muestran diferentes estudios realizados en humanos que comprueban la eficacia de la suplementación con L-citrulina.

Tabla 9.- Estudios de la suplementación con L-citrulina en humanos.

Estudio	Metodología	Principales efectos	Ref.
Suplementación de L-citrulina y melancia y función endotelial.	Se realizó una suplementación de diferentes dosis de L-citrulina en hombres jóvenes sanos, hombres de mediana edad y mujeres posmenopáusicas prehipertensas e hipertensas.	Se encontraron aumentos en los niveles de nitrito (21%) en hombres jóvenes sanos. Del mismo modo, la suplementación de L-citrulina aumentó los niveles plasmáticos de NOx (nitrito y nitrato) en un 37% en hombres de mediana edad con rigidez arterial incrementada. En mujeres posmenopáusicas prehipertensas e hipertensas después hubo una mejora en los niveles de NOx (33%).	Bailey <i>et al.</i> (2015)
Suplementación de L-citrulina y sandía y presión arterial	Se examinó los efectos de una suplementación de 2 semanas de L-citrulina (6 g / día) en la presión arterial (PA) en reposo y durante el ejercicio de empuñadura isométrica submáxima en hombres jóvenes sanos	Se demostró que la suplementación de L-citrulina o de sandía puede atenuar las respuestas de la PA a la exposición al frío en hombres jóvenes sanos y adultos de mediana edad con hipertensión. La suplementación con L-citrulina o sandía puede proporcionar protección cardiovascular al atenuar los aumentos en la PA inducidos por el ejercicio de baja intensidad y la exposición leve al frío.	Alsop & Hauton (2016)
L-citrulina y rendimiento durante el ejercicio	Durante un periodo de 7-16 días se suplementó L-citrulina a hombres jóvenes activos, para evaluar el efecto de la L-citrulina sobre el consumo máximo de oxígeno (VO ₂) y la oxigenación del músculo esquelético durante el rendimiento de ciclismo.	La oxigenación del músculo esquelético durante los ejercicios de intensidad moderada y alta mejoró. La oxigenación muscular mejoró sin un cambio recíproco en el VO ₂ lo que indica una distribución de oxígeno mejorada dentro del lecho muscular activo que puede equiparar mejor el suministro de oxígeno con la demanda metabólica. También se demostró que el consumo de forma crónica de L-citrulina eleva los niveles plasmáticos de L-arginina, que es esencial para la síntesis de óxido nítrico.	Bailey <i>et al.</i> (2015)
L-citrulina como antioxidante	Un grupo de ciclistas sanos fueron sometidos a la suplementación previa con CIT (6 g) para evaluar el daño oxidativo celular.	Se demostró una disminución progresiva de las especies reactivas de oxígeno, además se redujo el daño oxidativo al cebar los neutrófilos polimorfo nucleares. Por lo tanto, se postula que la L-citrulina, probablemente sea un potente captador de iones hidroxilo y tiende a proteger el ADN y las enzimas metabólicas contra el estrés oxidativo.	Sureda <i>et al.</i> (2009)



El licopeno y la L-citrulina son compuestos altamente apreciados por sus propiedades y beneficios a la salud por esta razón se han desarrollado diversas técnicas extractivas mediante las cuales se puedan obtener los principales compuestos bioactivos contenidos en un material vegetal con el fin de aprovechar muchos de los considerados residuos durante el procesamiento de diversos productos en la industria alimentaria.

2.7. Métodos de extracción de licopeno y L-citrulina

La extracción es una operación unitaria de transferencia de materia basada en una disolución de uno o varios de los componentes de una mezcla (líquido o que formen parte de un sólido) en un disolvente selectivo. Se hace la distinción entre la extracción sólido-líquida y la extracción líquido-líquido de acuerdo a la materia a extraer este en un sólido o en un líquido respectivamente. En este último caso, el disolvente ha de ser inmisible con la fase líquida que contiene el soluto (Rodríguez *et al.*, 2015).

La eficiencia del proceso de extracción depende de diferentes factores como la relación soluto-solvente, composición del solvente, características y contenido de agua de la matriz, la potencia, la temperatura y el tiempo de extracción (Rodríguez *et al.*, 2015). Siendo su principal objetivo obtener compuestos que serán aprovechados por su alto valor añadido, mostrándose en la tabla 10 los fundamentos que siguen los diferentes métodos de extracción que se clasifican en: convencionales estos métodos son aquellos que requieren tiempos largos de extracción, los rendimientos son bajos y el consumo energético es alto, pero su principal ventaja es que son fáciles de operar y el costo es bajo (Yang *et al.*, 2011). Mientras que los métodos no convencionales son más amigables con el medio ambiente porque reducen el uso de químicos y el tiempo de extracción, además mejoran el rendimiento y la calidad del extracto. Los métodos de ultrasonido, pulsos eléctricos, digestión enzimática, extrusión, microondas y fluidos supercríticos se usan para



mejorar el rendimiento y la selectividad de la extracción de compuestos bioactivos (Azmir *et al.*, 2013).

Tabla 10. Métodos de extracciones convencionales y no convencionales

Método de extracción	Fundamento
Extracción convencional con disolventes (Soxhlet y maceración)	Se basa en la transferencia del compuesto de interés desde una mezcla sólida o líquida con otros compuestos hacia una fase líquida (normalmente un disolvente orgánico).
No convencionales	Fundamento
Extracción asistida por microondas	Las microondas mejoran el rendimiento de extracción evitando una posible degradación de los compuestos al aplicar un tratamiento térmico en periodos de tiempo cortos, que utiliza radiaciones electromagnéticas que se encuentran en el rango de 0.3 a 300 GHz ($\lambda=1$ hasta 0.001 m).
Extracción asistida por ultrasonidos	Los ultrasonidos son vibraciones mecánicas en un sólido, un líquido o un gas con una frecuencia superior a la audible por los humanos. Estas ondas mecánicas sólo se transmiten a través de la materia, ya que implica ciclos de expansión y compresión. Cuando se aplican ultrasonidos lo suficientemente intensos, favorecen la liberación de compuestos.
Extracción mediante tratamiento enzimático	Las enzimas actúan como catalizadores de la reacción, acelerando el proceso. Con las enzimas apropiadas se consigue romper la estructura de las membranas celulares para provocar la liberación del compuesto de interés.
Extracción con fluidos supercríticos	Un fluido supercrítico posee propiedades de disolvente que se parecen a las de un líquido, pero también exhibe propiedades de transporte parecidas a las de un gas. De esta manera, un fluido supercrítico no solo puede disolver solutos sino que también es miscible con los gases ordinarios y puede penetrar en los poros de los sólidos facilitando la extracción. El CO ₂ es el disolvente más utilizado en estado supercrítico.

Fuente: Elaborado con información de Agro waste Extracción de compuestos de interés (2013).



2.7.1 Extracción por el método de soxhlet

La extracción Soxhlet consiste en un lavado sucesivo de una mezcla sólida con un determinado solvente que va “lavando o extrayendo” de la mezcla, los componentes más solubles en él. Los disolventes más empleados en las metodologías Soxhlet son hexano, éter etílico, éter de petróleo y metanol; sin embargo dado la alta toxicidad de estos, se han empleado disolventes de carácter verde como isopropanol, acetato de etilo, etanol, d-limoneno, entre otros (Rossell *et al.*, 2013). Mediante el lavado sucesivo de la mezcla, se puede extraer de ella componentes cuya solubilidad en el solvente extractante es muy baja, debido al efecto acumulado de las múltiples extracciones. Durante la extracción en el equipo el solvente se recupera normalmente por evaporación. Las temperaturas de extracción y evaporación tienen un efecto significativo en la calidad final de los productos. El equipo emplea el método de evaporación por sí mismo, tomando en cuenta que primero se debe eliminar y/o sacar del equipo extractor el cartucho de muestra, de esta forma se producirá la evaporación del solvente el cual se condensará posteriormente en el extractor, a la vez que también se producirá la concentración del extracto en el balón esto se realizará hasta que la consistencia del mismo sea espesa (Pomeranz *et al.*, 2010).

2.7.2. Extracción por el método de ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido es una de las tecnologías más empleadas para extracción de compuestos bioactivos. Los ultrasonidos son vibraciones mecánicas en un sólido, un líquido o un gas con una frecuencia superior a la audible por los humanos. Estas ondas mecánicas sólo se transmiten a través de la materia, ya que implica ciclos de expansión y compresión. Cuando se aplican ultrasonidos lo suficientemente intensos, los ciclos de expansión pueden crear burbujas o cavidades en el líquido, y cuando las burbujas explotan (porque no pueden absorber más energía) se producen



temperaturas elevadas (500 °C) y presiones muy elevadas (100 MPa) que favorecen la liberación de compuestos y la formación de radicales en cortos periodos de tiempo con una disipación del calor muy rápida (Agro Waste, 2013).

Todos estos efectos físicos provocan la ruptura de la pared celular, la reducción del tamaño de las partículas y el incremento de la masa que se transfiere a través de las membranas. El ultrasonido facilita la rehidratación del tejido y la abertura de los poros por lo que las sustancias, que se encuentren en células internas o externas del tejido, son extraídas con mayor rapidez. Al reducir el tamaño de las partículas del material vegetal, se incrementa el área de contacto entre la fase sólida y el disolvente, lo que favorece la transferencia de masa de los constituyentes solubles por difusión y procesos osmóticos. La ruptura de la pared celular provocada por la cavitación ultrasónica, incrementa la permeabilidad del tejido de las plantas y facilita la entrada del disolvente a las áreas inertes del material vegetal y el lavado de los extractos con el consecuente incremento del rendimiento del material que es extraído en un menor tiempo (Vinatoru, 2001).

Durante el proceso de extracción con el empleo del ultrasonido, es necesario evaluar una serie de parámetros que pueden garantizar una adecuada y rápida extracción de los compuestos bioactivos, estos parámetros están expuestos en la tabla 11.

Tabla 11. Parámetros a evaluar durante la extracción asistida por ultrasonido

Parámetros de operación	Parámetros de extracción
Configuración del reactor sonoquímico	Temperatura
Frecuencia e intensidad de la radiación	Tipo de disolvente
Tiempo de sonicación	Relación soluto-disolvente

Fuente: Rodríguez *et al.* (2014)



La aplicación del ultrasonido a la extracción de compuestos bioactivos es de interés para la industria farmacéutica y alimentaria mostrándose las ventajas de su aplicación en la tabla 12, en relación con las metodologías tradicionales.

Tabla 12. Ventajas de la aplicación de ultrasonido para la extracción de compuestos bioactivos.

Compuesto bioactivo	Material vegetal	Equipo	Resultados
Ácido málico y tartárico	Semilla de uva	Sonda ultrasónica a 20 kHz	Con 30min, el rendimiento se incrementa 4 veces respecto al obtenido con 120 min de extracción dinámica
Taninos	Ciruela mirabolano	Sonda ultrasónica a 20 kHz	El rendimiento de la extracción se incrementa de 3 a 5 veces con diferentes disolventes
Polifenoles	Cascara de naranja	Baño ultrasónico a 25kHz	El máximo contenido de fenoles totales se alcanza con 15min mientras que con soxhlet es en 60 min
Pigmentos naturales	Semillas de avellana	Baño ultrasónico a 35kHz	Con US se obtiene un rendimiento tres veces mayor que los métodos convencionales

Fuente: Elaborado con información de Rodríguez *et al.* (2014)

2.7.3 Extracción por el método reflujo directo

Es un método que puede ser empleado cuando se requiere calentar una mezcla compuesta por un sólido y un disolvente por tiempos prolongados a temperatura constante, y de manera que no haya pérdida de disolvente durante el calentamiento. En la figura 6 se muestra el equipo de reflujo directo.

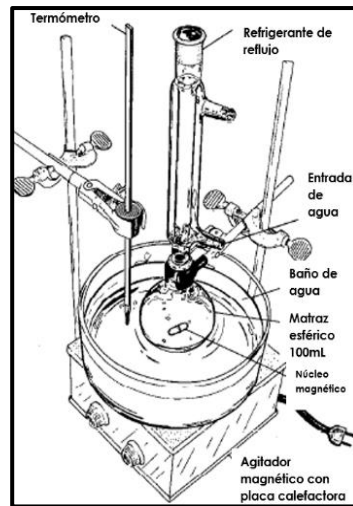


Figura 6 Equipo reflujo directo
Fuente: Mendoza (2017).

Este proceso permite que el disolvente al llegar a su temperatura de evaporación condense por medio de un refrigerante y caiga al matraz que lo contiene. El medio de calentamiento dependerá de la temperatura requerida, para los líquidos que hierven por debajo de 90°C , se usará baño-maría. Que consiste en colocar el matraz que contiene la mezcla en otro de mayor capacidad que contendrá agua u otro líquido que se lleva o está en ebullición. De este modo, se calienta en primer lugar el líquido contenido en el recipiente mayor y este va calentando gradualmente el contenido del recipiente menor, de un modo suave y constante. Es indispensable que en todo momento el recipiente interior este en contacto con el líquido para que se produzca la transmisión de calor (Mendoza, 2017).

Este método es empleado para reacciones químicas evitando la pérdida de alguno de los compuestos involucrados en la reacción, también se ocupa en el área de alimentos para la extracción de aceites esenciales de residuos de frutas.

Los métodos de extracción anteriormente mencionados han permitido el desarrollo de diversos estudios para la obtención de compuestos bioactivos



como el licopeno y la L-citrulina de diferentes fuentes mostrando en la tabla 13 estudios de extracción de dichos compuestos.

Tabla 13. Métodos de extracción de licopeno y L-citrulina de diferentes fuentes.

Método de extracción	Estudio	Compuesto extraído	Fuente de obtención	Referencia
Extracción con solvente con baño de maría y por soxhlet	Caracterización y extracción de citrulina de la corteza de la sandía.	Citrulina	Sandía	Durán <i>et al.</i> (2017).
Extracción soxhlet	Obtención de aminoácidos a partir de la cascara de sandía.	Citrulina	Sandía	Riofrío & Cruz (2012).
Extracción soxhlet	Extracción del carotenoide licopeno del tomate chonto (<i>Lycopersicum esculentum</i>).	Licopeno	Tomate	Cardona <i>et al.</i> (2006).
Extracción soxhlet	Extracción del carotenoide licopeno a partir de los rechazos post cosecha del mercado interno de <i>Citrullus lanatus</i> (sandía) para su futura aplicación en alimentos.	Licopeno	Sandía	Valdiviezo <i>et al.</i> (2010).
Extracción por sonicación	Extracción asistida por ultrasonido de licopeno a partir de residuos de procesamiento de tomate.	Licopeno	Tomate	Kumcuoglu <i>et al.</i> (2009).



Los métodos mencionados anteriormente pueden ser utilizados para la obtención de compuestos biocativos que permitan desarrollar alimentos funcionales.

2.8. Alimentos funcionales

A lo largo de la historia de la cultura oriental, los alimentos y la medicina han sido considerados igualmente importantes en la prevención y curación de enfermedades (Xu, 2001). El concepto de los alimentos funcionales fue desarrollado en Japón durante la década de 1980, como una necesidad para reducir el alto costo de los seguros de salud que aumentaban por la necesidad de proveer cobertura a una población cada vez de mayor edad. Uno de los investigadores más importantes en esta área es Roberfroid, quién propone como definición de alimentos funcionales a todos aquellos que brindan directamente una o más funciones en el cuerpo, más allá de los efectos nutricionales adecuados, de manera que su consumo resulta conveniente para el mantenimiento o la promoción de un estado de bienestar y salud o la reducción del riesgo de un proceso patológico (Roberfroid, 2000).

Al inicio del siglo XXI, la ciencia atiende a esta nueva perspectiva y se plantea el estudio de la promoción de salud a través de la alimentación con horizontes más amplios (Sastre, 2005). Los alimentos funcionales han sido diseñados para tratar ciertas temáticas en la ciencia de la alimentación como son la patología cardiovascular relacionada con la dieta, salud ósea y osteoporosis, rendimiento y forma física, regulación del peso corporal, sensibilidad a insulina y diabetes, cáncer relacionado con la dieta, estado mental con la dieta, estado mental y rendimiento psíquico, salud gastrointestinal e inmunidad entre otras (Aggett *et al.*, 2005).

A los alimentos funcionales se han añadido uno o varios ingredientes (generalmente pocos), no contenidos de forma natural en el alimento en cuestión (o contenidos en muy baja cantidad), que poseen una determinada actividad biológica capaz de afectar de modo positivo al desarrollo de los



mecanismos biológicos corporales relacionados con ciertas enfermedades, fundamentalmente cardiovasculares, inflamatorias, neurodegenerativas y tumorales (Juárez *et al.*, 2005). Algunos ejemplos de estos ingredientes los podemos observar en la tabla 14.

Tabla 14.- Principales ingredientes utilizados para enriquecer los alimentos

Ingredientes	Efectos	Uso en alimentos
Fibra dietética	Regulación del tránsito intestinal.	Bebidas, productos de confitería, de panadería, cereales.
	Reducción del riesgo de padecer ciertos tipos de cáncer.	
	Disminución de los niveles de colesterol plasmático.	
Oligosacáridos	Son sustrato de elección para las Bifidobacterias.	Bebidas, productos de confitería, helados, yogures, productos lácteos, comidas preparadas, pan, cereales de desayuno
	Favorece el crecimiento de la flora bacteriana beneficiosa.	
	Disminución de los niveles de colesterol plasmático.	
Cultivos Probióticos	Contribuyen al equilibrio de la flora intestinal beneficiosa.	Yogures, lácteos
Minerales	Reducción del riesgo de sufrir osteoporosis.	Bebidas, yogures, lácteos, dulces, productos de panadería, comidas preparadas.
	Prevención de la anemia	
β-carotenos	Reduce el riesgo de padecer cáncer.	Bebidas, zumos de frutas vegetales, yogures, postres, panadería, confitería.
Ácidos grasos poliinsaturados	Terapéutica y profilaxis de enfermedades cardiovasculares e inflamatorias.	Bebidas, confitería, hamburguesas, bebidas con bacterias ácido-lácticas, yogures, conservas, leches infantiles, productos de panadería.

Fuente: Elaborado con información de SERNAC (2004).

Ciertamente el concepto de alimento funcional es sencillo y no debe confundirse con los "Productos Milagro" que son una serie de productos,



sustancias, energías o métodos que se anuncian con pretendida finalidad sanitaria (para la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades y trastornos, modificación del estado físico, etc.), que sin haberse sometido a ensayos clínicos ni controles suponen un engaño y en algunos casos un fraude para los consumidores. Suelen acompañarse de abusivas campañas publicitarias con mensajes engañosos, especialmente en televisión, radio y revistas (Alba *et al.*, 2012).

2.8.1. Alimentos funcionales y su impacto en la sociedad.

Numerosos estudios epidemiológicos han demostrado que la dieta y la nutrición están muy relacionadas con el desarrollo de patologías de gran prevalencia y algunas de elevada mortalidad, como son las enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, osteoporosis, anemia, cáncer, etc. Esto ha provocado que el consumidor conozca que la adecuación del patrón de consumo alimentario hacia modelos más saludables puede contribuir de manera importante a la disminución del riesgo de sufrir ciertas enfermedades y a la promoción de la salud. En los países desarrollados el incremento de los ingresos (nivel socioeconómico) de la población hace posible que los consumidores busquen su propio bienestar, una vez satisfechas las necesidades básicas. La elección de un alimento en particular ya no se relaciona con la necesidad de demostrar cierto status social o económico, sino que se ve más influenciado por el deseo de alcanzar una buena salud y de evitar riesgos de padecer ciertas enfermedades. Esto ha hecho que la prevención día a día con alimentos represente una alternativa más atractiva permitiendo que el consumidor tome el control de su propia salud, provocando una demanda cada vez mayor de alimentos funcionales generando una oportunidad de negocio para muchos países. Internacionalmente Asia es el continente que sigue dominando el mercado de



alimentos y bebidas funcionales seguido por Europa como podemos observar en la figura 7 (Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología, 2011).

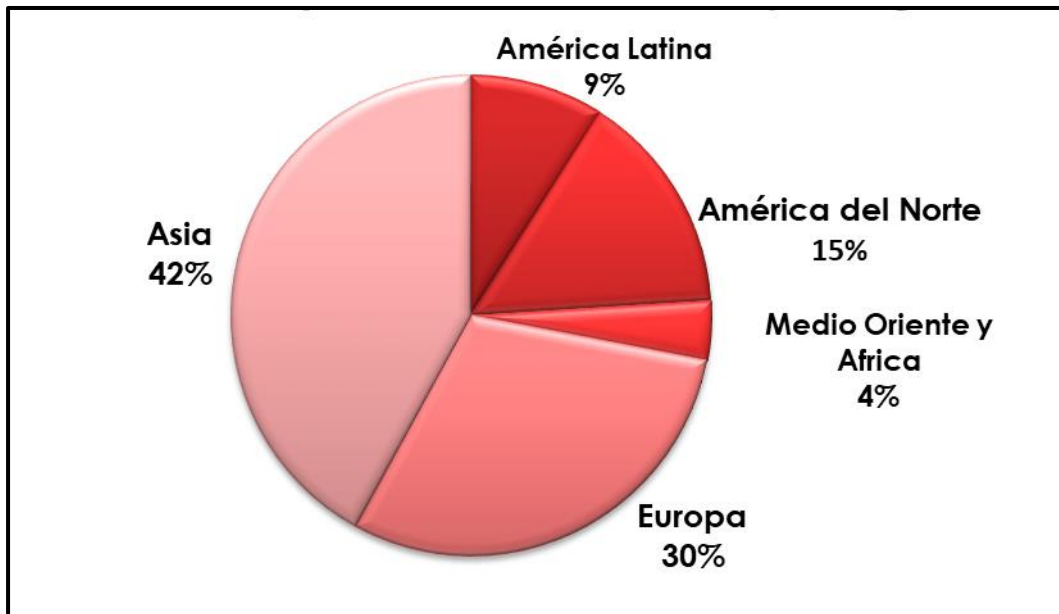


Figura 7. Alimentos y bebidas funcionales por región
Fuente: Tolosa (2018)

En México los alimentos funcionales no han tenido tanto impacto en comparación con otras regiones del mundo esto se debe a que debemos enfatizar la cultura del cuidado de la salud y no del tratamiento de la enfermedad. También se debe trabajar en recuperar la confianza del consumidor hacia lo “Hecho en México”, de igual forma señalar las áreas de oportunidades para el desarrollo de nuevos alimentos funcionales que se integren fácilmente a la dieta correcta de la población mexicana podría ampliar el mercado, (Duran, 2009). Sin embargo el Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología realizó un estudio para conocer las tendencias que las grandes empresas mexicanas consideran para lanzar un nuevo producto con el fin de atraer al consumidor el cual consistió en la aplicación de una encuesta a 30 empresas a las que se les preguntó cuál era para ellos la tendencia a seguir, obteniéndose los siguientes resultados presentados en la figura 8.

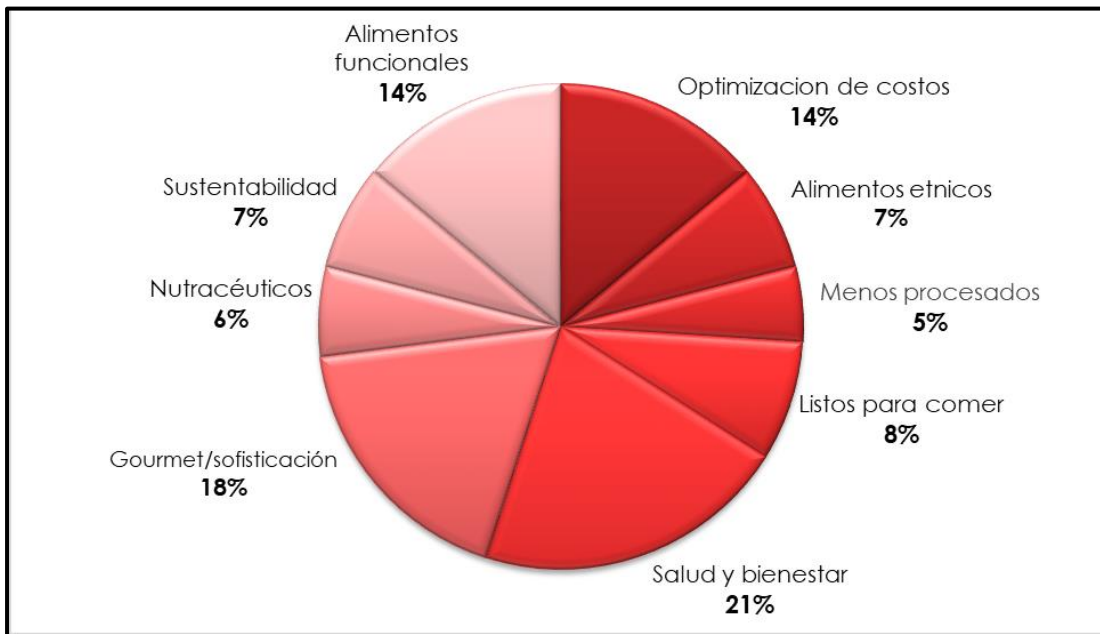


Figura 8. Tendencias seguidas por las empresas en México.

Elaborado con información del Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología, (2011).

Como se puede observar en la figura 8 la tendencia líder la ocupa salud y bienestar al reportar que el 21% de los encuestados la ubicaron como su principal interés, mientras que los alimentos denominados con el perfil de gourmet o sofisticados se posicionan en el segundo nivel al contar con 18% de aprobación. Las tendencias de optimización de costos y alimentos funcionales se encuentran en un ranking intermedio, dónde el 14% de las organizaciones lo perciben como una estrategia a seguir. Los últimos lugares los obtuvieron tendencias como menos procesamiento y nutracéuticos contando con 5 % y 6 % de interés respectivamente. Todo esto nos indica que el desarrollo de alimentos funcionales es una opción sustentable para las empresas mexicanas ya que se tiene una aceptación por parte de los consumidores, sin embargo se debe seguir trabajando para fomentar los buenos hábitos alimenticios, el cuidado de la salud y con esto el consumo de alimentos y bebidas funcionales (Consejo Mexiquense de Ciencia y tecnología 2011).



2.9 Bebida funcional

Las bebidas son las más emergentes de todas las categorías de alimentos funcionales, por su conveniencia y posibilidad de satisfacer las necesidades de los consumidores en términos de contenido, tamaño, forma y apariencia, por su facilidad de distribución y almacenamiento, por su larga vida útil y por la oportunidad de incorporar nutrientes y componentes bioactivos fácilmente.

La ingesta de líquidos, más allá de mitigar la sed y reponer el gasto de agua, aporta además otros nutrientes necesarios para el buen funcionamiento orgánico. Las bebidas funcionales son productos que poseen componentes fisiológicos que complementan su aporte nutricional y que representan un beneficio extra para la salud de las personas (NOM 051-SCFI-1994).

Existen diferentes tipos de productos comerciales como: bebidas lácteas incluyendo bebidas probióticas y bebidas enriquecidas con minerales y omegas, bebidas de frutas y vegetales, y bebidas energizantes y deportivas (Corbo *et al.*, 2014).

El mundo actual de la industria de bebidas funcionales es tan diversificado como innovativo, las bebidas funcionales que existen en el mundo dependen en parte de los estilos de vida de los consumidores. En la figura 9 podemos observar los 5 nombres más utilizadas para las bebidas funcionales por región.

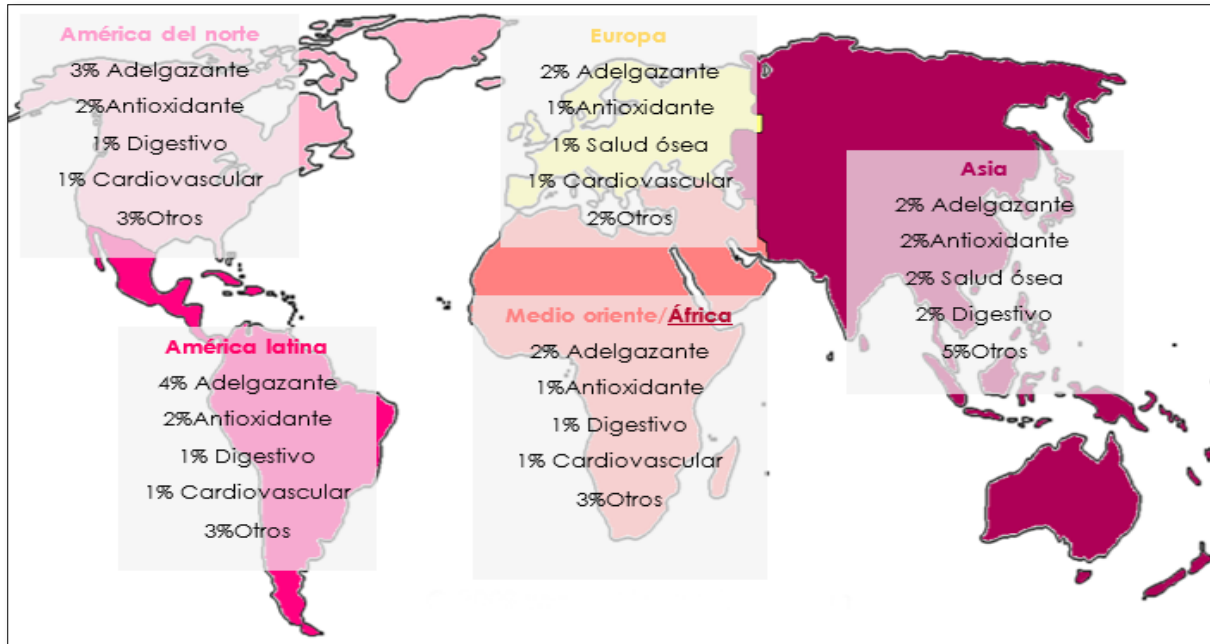



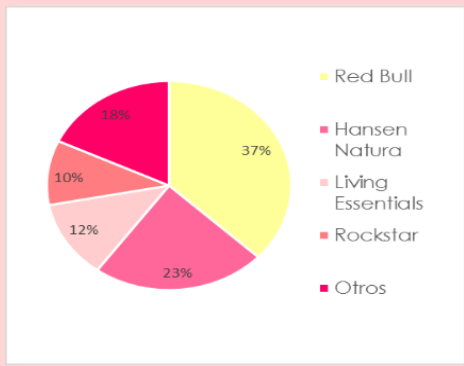

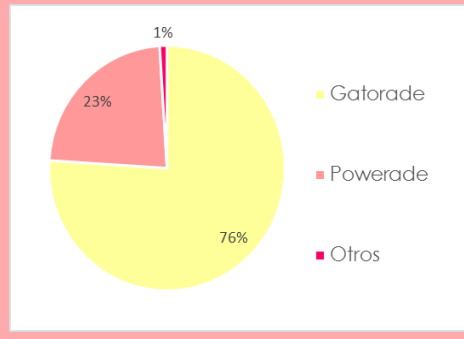

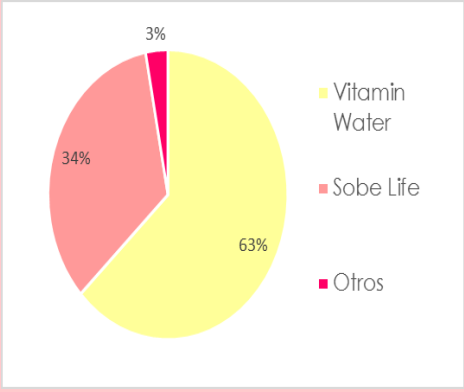

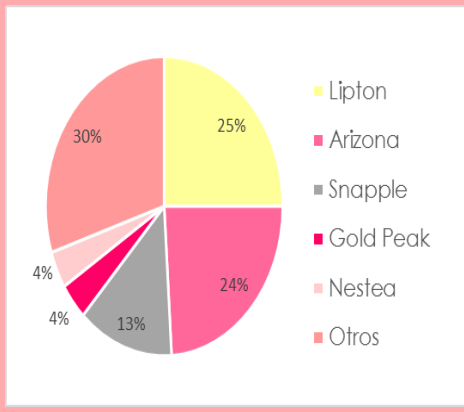
Figura 9. Las bebidas funcionales en las diferentes regiones del mundo
Fuente: Tolosa (2018)

México es el segundo mercado más grande del mundo en el consumo de bebidas, sólo después de Estados Unidos. Según Valentín Martínez Gama, el emprendedor que fundó Naturalia, empresa mexicana dedicada a la elaboración de bebidas funcionales que luego de cinco años en el mercado factura actualmente un millón de dólares, el potencial del mercado para las bebidas funcionales en México es enorme, tiene una tasa de crecimiento del 7 % al año; y aunque el sector de bebidas funcionales sólo es el 4% del total, los mexicanos toman 310 millones de litros anuales y tiene un índice de crecimiento de 15% lo que va del 2018.

El mercado de alimentos y bebidas evoluciona permanentemente, hoy en día, con la comunicación, las redes sociales y la información que va y viene, estamos informados y podemos conocer cuáles son los productos que continuamente se introducen al mercado, en la Tabla 15 se presentan las bebidas funcionales más consumidas en México y su participación en el mercado.



Tabla 15. Bebidas funcionales más consumidas en México y su participación en el mercado.

Nombre	Función	Composición	Participación en el mercado
Bebida energética 	Brindar energía al consumidor	-Metilxantinas -Guaraná, ginseng y la yerba mate -Azúcares: sacarosa, lactosa, fructuosa -Vitamina B -Aminoácidos: taurina, arginina -Huesa, creatina, ginkgo biloba, glucuronolactona.	
Bebida deportiva 	Ofrecer hidratación durante la realización de ejercicios intensos	-Electrolitos -Agua -Carbohidratos	
Agua funcional 	Brindar beneficios para la salud que vaya más allá de la simple hidratación o el sabor	-Vitaminas -Minerales -Otros como: flúor, electrolitos y proteínas	
Té RTD "ready to drink" 	Brindar beneficios a la salud debido a su gran popularidad por contener compuestos con propiedades antioxidantes	-Compuestos antioxidantes - Té negro es la variedad preferida -Nuevas variedades de té y hierbas como: té verde, manzanilla, lavanda, yerba mate, entre otras.	

Fuente: Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (2011).





3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general.

Obtención de licopeno y L-citrulina presentes en la cáscara de sandía (*Citrullus lanatus*), mediante diferentes métodos de extracción para su aplicación en el desarrollo de una bebida funcional.

3.2 Objetivos particulares

1. Extraer licopeno de la cáscara de sandía mediante dos métodos (Soxhlet y extracción asistida por ultrasonido), variando proporción de solvente y tamaño de partícula para seleccionar las condiciones que proporcionen mayor rendimiento del compuesto.

2. Extraer L-citrulina de la cáscara de sandía mediante dos métodos (Soxhlet y reflujo directo), variando las proporciones de solvente y tamaño de partícula para seleccionar el que otorgue mayor rendimiento del compuesto.

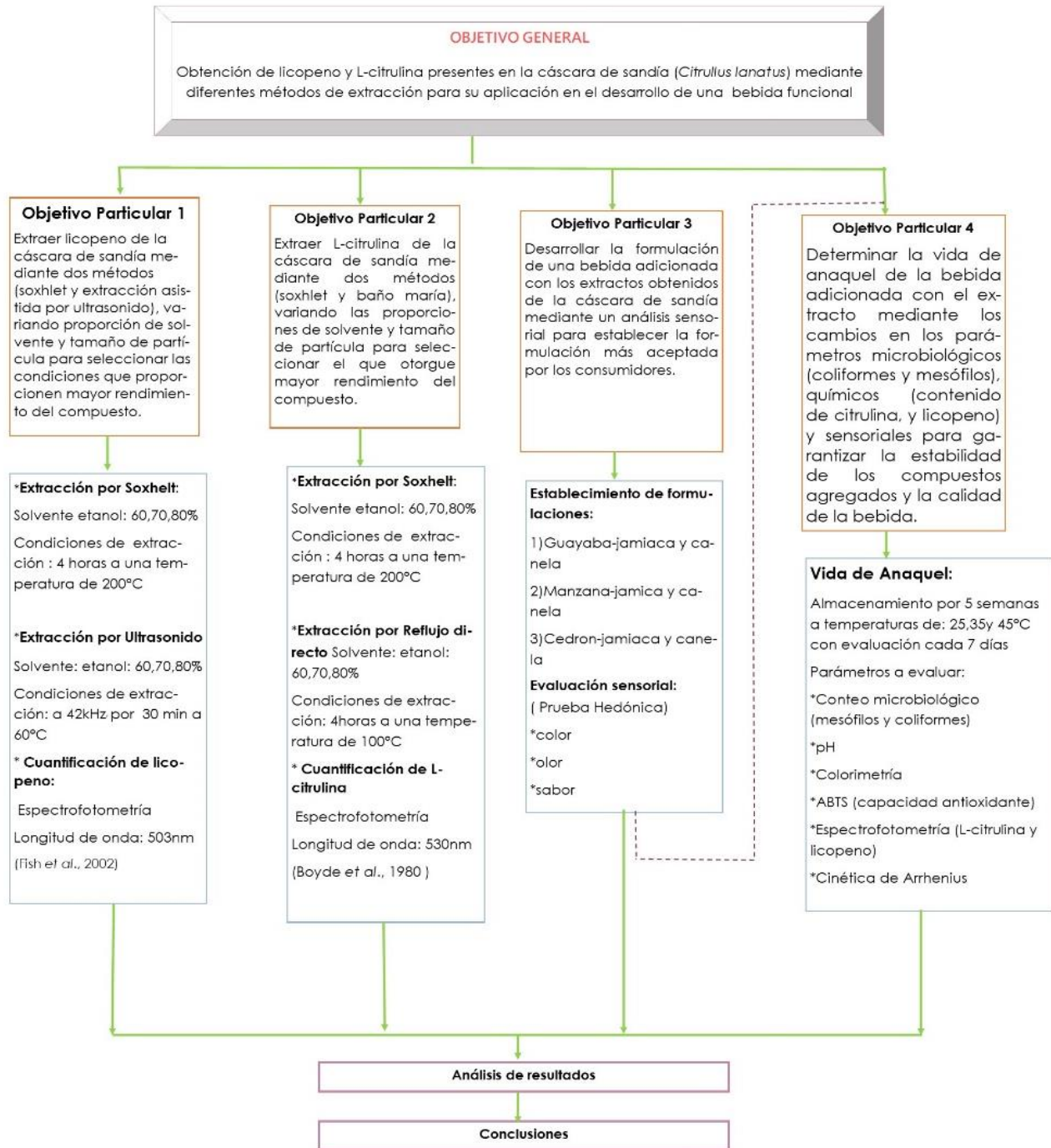
3. Desarrollar tres formulaciones para una bebida adicionada con los extractos obtenidos de la cáscara de sandía (L-citrulina y licopeno) mediante la variación de sabores (guayaba, manzana y cedrón) para desarrollar un análisis sensorial y así establecer la formulación más aceptada por los consumidores.

4. Determinar la vida de anaquel de la bebida adicionada con el extracto mediante los cambios en los parámetros microbiológicos (coliformes y mesófilos), químicos (contenido de L-citrulina, y licopeno) y sensoriales para garantizar la estabilidad de los compuestos agregados y la calidad de la bebida.



4. Metodología

4.1 Cuadro metodológico





4.2. Tratamiento de la muestra

Las sandías empleadas fueron de la variedad “Jubilee”, en el momento de su recepción se lavaron y despulparon para obtener únicamente la cáscara. Posteriormente esta se troceó en pedazos pequeños para ser molidos en una licuadora (marca Oster), la cáscara molida se filtró para reducir el contenido de humedad, el residuo obtenido de la filtración se sometió a un secado en un horno de convección a 50 °C para evitar la degradación de los compuestos. Una vez obtenida la cáscara deshidratada se procedió a la reducción de su tamaño en un molino marca Hamilton Beach Modelo 80374-Negro. El producto de la molienda se separó por tamaños de partícula, utilizando las mallas número 20 y 40 (0.420 mm y 0.841 mm respectivamente) como se muestra en la figura 10.



Figura 10. Cáscara de sandía seca y tamizada en malla No.20 (A) y No.40 (B)

4.3. Extracción de licopeno de la cáscara de sandía

La extracción de licopeno de la harina obtenida de la cáscara de sandía se llevó a cabo por dos métodos, extracción asistida por ultrasonido y Soxhlet, para los dos tamaños de partícula obtenidos. A continuación se describirán ambas metodologías ocupadas.



4.3.1. Extracción de licopeno por el método de extracción asistida por ultrasonido.

La extracción de licopeno por el método de extracción asistida por ultrasonido se realizó utilizando etanol como solvente a tres diferentes concentración (60, 70 y 80 % v/v) en una relación 1:10 con respecto al soluto. En la figura 11 se muestra la mezcla sólido-solvente para la extracción con el método de ultrasonido. Posteriormente los matraces se colocaron en un baño de ultrasonido (Cole-Palmer 8891) a una temperatura de 60°C por un tiempo de 30 minutos. Al concluir el tiempo de extracción, la muestra se filtró para ser almacenada en frascos ámbar a una temperatura de 4 °C para su posterior uso en la cuantificación.



Figura 11. Muestra de cáscara se sandía con etanol para la extracción asistida por ultrasonido.

4.3.2. Extracción de licopeno por el método de Soxhlet

Para la extracción del licopeno a partir de la harina de cáscara de sandía por el método de Soxhlet (figura 12) se colocaron para ambos tamaños de partícula 5 g de muestra en papel filtro dentro del sifón, empleando etanol como solvente a una concentración de 80 % por un tiempo de 4 horas. Al concluir el tiempo de extracción se almacenó la muestra en frascos ámbar a una temperatura de 4°C aproximadamente para su posterior uso en la cuantificación.



Figura 12. Equipo Soxhlet

4.4 Extracción de L-citrulina de la cáscara de sandía

La extracción de L-citrulina a partir de la harina obtenida de la cáscara de sandía se llevó a cabo por dos métodos de extracción, reflujo directo y Soxhlet, para ambos tamaños de partícula obtenidos. A continuación se describirán ambos métodos de extracción.

4.4.1 Extracción de L-citrulina por el método reflujo directo

La extracción de L-citrulina de la harina por el método de reflujo directo se realizó empleando el equipo que se muestra en la figura 13. Este se basó en un matraz al cual se le colocó 5 gramos de muestra junto con 50 mL de solvente (etanol) variando la concentración (60, 70 y 80 % v/v) y 50 mL de ácido clorhídrico 0.1N, por un tiempo de 4 horas a una temperatura de 90 °C. Al concluir el tiempo de extracción la muestra se filtró para su posterior almacenamiento en frascos ámbar a una temperatura de 4 °C aproximadamente para su posterior uso en la cuantificación.



Figura 13. Equipo reflujo directo



4.4.2. Extracción de L-citrulina por método Soxhlet

La extracción de L-citrulina por el método de Soxhlet se realizó empleando el equipo que se muestra en la Figura 14. Se pesaron 5 gramos de muestra de harina y se colocaron en el papel filtro dentro del sifón, empleando etanol como solvente variando las concentraciones (60, 70 y 80 %v/v) por un tiempo de 4 horas. Al concluir el tiempo de extracción se almacenó la muestra en frascos ámbar a una temperatura de 4°C para su posterior uso en la cuantificación.



Figura 14. Equipo Soxhlet

4.5. Establecimiento de la formulación para la elaboración de la bebida funcional

Una vez obtenidos los extractos de cáscara de sandía con L-citrulina y licopeno, se procedió a desarrollar la bebida funcional. Para la formulación de esta bebida se consideró como base jamaica, guayaba, canela, manzana y cedrón variando diferentes concentraciones del extracto obtenido y endulzadas con jarabe de agave. Las formulaciones se establecieron con la finalidad de que se eligiese una que lograr contener el extracto y a si mismo fuera del agrado de los consumidores, empleando un análisis descriptivo. Las formulaciones propuestas se muestran en la tabla 16.



Tabla 16. Formulaciones de la bebida funcional adicionada con extracto de licopeno y L-citulina obtenido de cáscara de sandía.

Ingredientes	Formulación 1 (%)	Formulación 2 (%)	Formulación 3 (%)
Infusión de guayaba	79.7	----	----
Infusión de cedrón	----	79.7	----
Infusión de manzana	----	----	79.7
Jamaica	10	10	10
Jarabe de agave	2.5	2.5	2.5
Extracto	7.8	7.8	7.8

Una vez establecidas las formulaciones se procedió a la elaboración de la bebida, en la figura 15 se presenta el diagrama de proceso llevado a cabo para el desarrollo del producto.

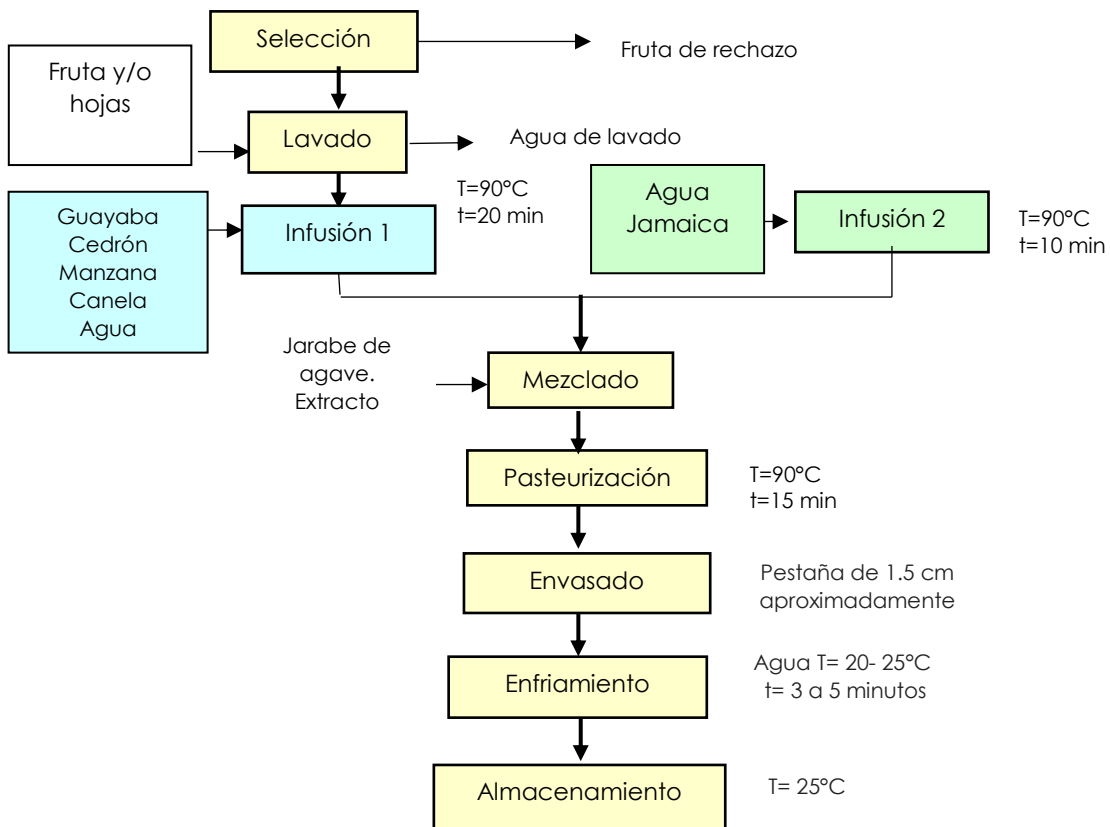


Figura 15. Diagrama de proceso para la elaboración de la bebida.



A continuación se describen las operaciones realizadas durante el proceso de elaboración:

Selección: Las frutas (guayabas y manzanas) se seleccionaron sin evidencia de daño físico, por insectos o enfermedades, de igual forma se revisó que el resto de los ingredientes como la Jamaica, cedrón y la canela estuvieran en buen estado.

Lavado: Las frutas se lavaron con agua y jabón para eliminar la materia extraña que pudieran contener.

Infusión 1: Cada una de las frutas y las hojas se colocaron de forma separada en un recipiente con agua y canela a una temperatura de 90 °C por un tiempo de 20 minutos.

Infusión 2: La Jamaica se colocó en un recipiente con agua a una temperatura de 90°C por un tiempo de 10 minutos.

Mezclado: Una vez obtenidas las infusiones de fruta y de jamaica, se incorporaron de forma individual (guayaba-Jamaica, manzana-jamaica, cedrón-jamaica) y posteriormente se añadió el endulzante y el extracto de cáscara de sandía.

Pasteurización: Con las bebidas mezcladas se llevó a cabo una pasteurización a temperatura de 90°C por 15 minutos con el fin de eliminar la posible presencia de microorganismos.

Envasado: Al terminó de la pasteurización se envasó en botellas de vidrio de 350 mL dejando una pestaña de 1.5 cm aproximadamente cerrándose



perfectamente posteriormente se voltearon por 3 min para proporcionar el vacío por último los frascos se enfriaron para provocar el sello hermético.

Enfriamiento: Después del envasado se llevó a cabo un enfriamiento con agua fría (20-25 °C) por un tiempo aproximado de 3 a 5 minutos.

Almacenamiento: Las botellas fueron almacenadas en refrigeración a 4°C aproximadamente hasta que fueron utilizadas para las pruebas sensoriales. Para la vida de anaquel se almacenaron a temperaturas de 25, 35 y 45 °C durante 35 días.

4.6 Evaluación sensorial de la bebida funcional.

La evaluación sensorial realizada fue una prueba afectiva, donde el panelista expresó el nivel de agrado, aceptación y la preferencia de un producto alimenticio, puede ser frente a otro, se utilizó una escala de calificación de las muestras (Hernández 2005). Dentro de esta clasificación se encuentran las pruebas de satisfacción, que engloban la prueba hedónica, utilizada y descrita a continuación: la realizó un panel de jueces no entrenado de 30 personas entre 20 y 30 años de edad, dándole a cada uno tres vasos pequeños con bebida, rotulados con un código diferente cada uno, donde a partir de una escala que va de mayor a menor agrado, se debía seleccionar un número del 1 al 5, según el criterio de cada panelista evaluando los parámetros olor, color y sabor llenando el formato que se muestra en la figura 16. Permitiendo elegir la formulación con mayor aceptación mediante un análisis estadístico.



Nombre: _____ Fecha: _____

Pruebe por favor las muestras que se encuentran frente a usted e indique su nivel de agrado colocando el número de la escala que mejor describa su opinión para cada una.

5	Me gusta mucho
4	Me gusta ligeramente
3	No me gusta ni me disgusta
2	Me disgusta ligeramente
1	Me disgusta mucho

Características	258	552	135
Olor			
Color			
Sabor			

Observaciones:

¡MUCHAS GRACIAS!

Figura 16. Formato evaluación sensorial

4.7 Evaluación de la vida de anaquel de la bebida adicionada con extracto de L-citrulina y licopeno

Para establecer el tiempo de vida útil se realizó un estudio de vida de anaquel. Este se realizó a la bebida con mayor aceptación de acuerdo a la evaluación sensorial. Estableciéndose la siguiente metodología:

- La bebida se preparó para llenar 54 botellas de 350 mL, dividiéndose en tres grupos de 18 botellas, donde cada grupo fue almacenado a una temperatura diferente, el primer grupo a 25°C el segundo a 35°C y el tercero a 45°C, temperaturas seleccionadas para un diseño de vida acelerada.
- Las botellas fueron almacenadas por un periodo de 35 días donde cada 7 días se les realizaba un muestreo en donde se evaluaron diferentes parámetros como fueron la cuantificación de compuestos, color, pH, capacidad antioxidante y conteo microbiológico los cuales se describen en el apartado 4.8.
- Los descriptores críticos se seleccionaron de acuerdo a los parámetros que se deterioran más rápido en la bebida funcional.



De los parámetros críticos estudiados de la bebida funcional se seleccionó L-citrulina como el parámetro que se ajustó a un modelo cinético de orden uno ecuación 1.

$$[A] = [A0] e^{\pm kt}$$

Fuente: (Sánchez *et al*, 2015)

Ecuación 1. Modelo cinético de primer orden.

Al observarse el comportamiento del parámetro L-citrulina se procedió al cálculo de la (Ea) por medio de la Ley de Arrhenius (Casp & Abril, 2003) donde se establece el efecto de la temperatura sobre la velocidad de reacción (k) graficando el Ln de k contra el inverso de la temperaturas estudiadas (298.15, 308.15 y 318.15 K) obteniéndose por medio de la regresión lineal la Ea y en base a esta ley podemos obtener el tiempo de vida de anaquel estimado de la bebida funcional sustituyendo los resultados en la siguiente ecuación,

$$\text{Tiempo de vida de anaquel} = 35e^{\left[\left(\frac{Ea}{R}\right) \cdot \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T'}\right)\right]} = \text{dias}$$

Ecuación 2 Cálculo del tiempo de vida de anaquel.

Sustitución cálculo de vida de anaquel de la bebida funcional:

$$\text{Tiempo de vida de anaquel} = 35e^{\left[\left(\frac{-1529.5}{8.3144}\right) \cdot \left(\frac{1}{298.15} - \frac{1}{308.15} - \frac{1}{318.15}\right)\right]} = 61 \text{ dias}$$

4.8 Técnicas analíticas

4.8.1 Cuantificación de Licopeno por espectrofotometría.

Para la cuantificación de licopeno se realizó una mezcla compuesta por 15 mL del extracto obtenido a partir de las extracciones de ultrasonido y Soxhlet, butilhidroxitolueno (0.05% p/v en acetona), etanol y hexano. Esta mezcla se sometió a agitación por 15 minutos, posteriormente se añadió agua y se dejó reposar por 3 minutos. Al término del tiempo se recuperó el sobrenadante de esta mezcla (figura 20) y se realizó la cuantificación de licopeno en mg/100g



a una longitud de onda de 503nm. (Fish *et al.*, 2002) Finalmente para obtener la concentración de licopeno se utilizó la ecuación 3.

Ecuación 3.
$$\text{Licopeno} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{A * PM * V * 100}{e * P * L}$$

Dónde:

A=Absorbancia leída a 503 nm.

V= volumen total de la parte superior

PM= Peso Molecular del Licopeno (536.9g/mol)

P= Peso de la muestra que se puso para hacer la extracción.

e= coeficiente de extinción molar del licopeno en hexano (e M/1 cm) del licopeno (17.2x10⁴ M/cm)

L= longitud de la celda (1cm)



Figura 17. Sobrenadante a recuperar para la lectura en el espectrofotómetro

4.8.2 Cuantificación de L-citrulina.

Para determinar la cantidad de L-citrulina se formó un complejo de color entre los reactivos y los extractos obtenidos, siguiendo la técnica de Boyde *et al.*, 1980. Este método utiliza dos reactivos, el primero consta de ácido sulfúrico (95-98%), ácido fosfórico (85%) y cloruro de calcio, y el segundo reactivo que contiene diacetilmonoxima reactivo generador del complejo de color y por último tiosemicarbazida reactivo estabilizador de color. Una vez obtenido los dos reactivos se mezclaron con la muestra a evaluar y se prosiguió a calentar la mezcla a 100 °C por un tiempo de 5 min, dejándose enfriar a temperatura ambiente para su posterior lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 530 nm). De la misma forma se realizó la curva patrón con L-citrulina



estándar Sigma-Aldrich y a partir de la ecuación obtenida se calculó la L-citrulina presente en el extracto en mg/mL.

4.8.3 Color

Para la determinación de color se utilizó un colorímetro (marca Konica Minolta) figura 18 instrumento de medición que determina los valores L*,a*,b* usados ampliamente ya que correlacionan los valores numéricos de color con la percepción visual humana.



Figura 18. Colorimetría konica minolta

El componente L* indica luminosidad del color, a* y b* son coordenadas cromáticas donde los valores de a* positivos indican color rojo y valores a* negativos indican color verde, los valores de *b positivos indican color amarillo y valores de *b negativos indican color azul. (Konica Minolta 2014).

Valores que permiten el cálculo de la tonalidad del ángulo Hue (°Hue) utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{°Hue} = \arctan (b/a)$$

Y el valor de croma que indica la intensidad o saturación del color utilizando la ecuación:

$$C = (a^2 + b^2)^{1/2}$$

Se tomaron por triplicado las mediciones de pH para cada una de las temperaturas de vida de anaquel.



4.8.4 Medición de pH

La medición de pH se obtuvo por medio de un potenciómetro (figura 20) equipo que determina la lectura directa de pH valor que nos indica la concentración de iones H^+ , requiriendo para su uso una calibración previa por medio de soluciones amortiguadoras (buffer).

Las mediciones de pH se realizaron por triplicado a muestras directas de la bebida de cada una de las temperaturas de vida de anaquel como se muestra en la figura 19.



Figura 19. Potenciómetro

4.8.5 Determinación de capacidad antioxidante por método de ABTS

La técnica para la generación del radical catión $ABTS^+$, implica la producción directa del cromóforo $ABTS^+$ verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). Este presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión $ABTS^+$ está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente usando el Trolox como estándar bajo las mismas condiciones (Re *et al.*, 1999).



Se prepararon las soluciones: Trolox (4 mM), buffer PBS (0.01M) y ABTS, posteriormente se realizó una curva patrón con soluciones del antioxidante Trolox a distintas concentraciones, las lecturas de cada punto de la curva se realizaron por triplicado como se muestra en la figura 20 tomando 1900 μL de la solución de ABTS y 100 μL de cada punto posteriormente se agitó y se dejó reposar por 7 minutos para poder leer en el espectro a 734nm. Finalmente la capacidad antioxidante se reportó como % de inhibición.



Figura 20. Celdas ABTS y solución trolox

4.8.6 Conteo microbiológico

Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa (NOM-113-SSA1-1994)

El método permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (rojo bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35 ± 2 °C; en aproximadamente 24 Horas.

Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa (NOM-092-SSA1-1994)

Consiste en contar las colonias que se desarrollan en el medio de elección (agar nutritivo) después de un cierto tiempo y temperatura de incubación. Mesófilos aerobios 35 ± 2 °C; 48 2 horas.



4.9 Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de las variables se realizó un análisis factorial 2^3 para comparar los métodos Soxhlet y extracción asistida por ultrasonido utilizados en la extracción de licopeno, el método Soxhlet y reflujo directo para la extracción de L-citrulina a las diferentes concentraciones de solvente, de igual forma se realizaron pruebas de rango múltiple de Tukey con una $p \leq 0.05$ para establecer si existía diferencia significativa entre los métodos de extracción empleados.

Por otro lado se realizó un análisis de varianza simple (ANOVA) para analizar los datos obtenidos de los parámetros de calidad de la bebida funcional. Para estos análisis se utilizó el programa estadístico SPSS.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN





5. Resultados y discusión

5.1 Contenido de licopeno en el extracto de cáscara de sandía

La sandía es una fuente importante de licopeno, por ello la propuesta de aprovechamiento de los residuos de este fruto podría ser una alternativa de obtención de este compuesto.

Para la obtención de los extractos por el método de extracción asistida por ultrasonido se propusieron tres concentraciones de solvente 60,70y 80%, (Bortlik *et al.*, 2003) y dos tamaños de partícula. En la figura 21 se presentan los resultados obtenidos del contenido de licopeno extraído por el método de extracción asistida por ultrasonido en las tres diferentes concentraciones de solvente.

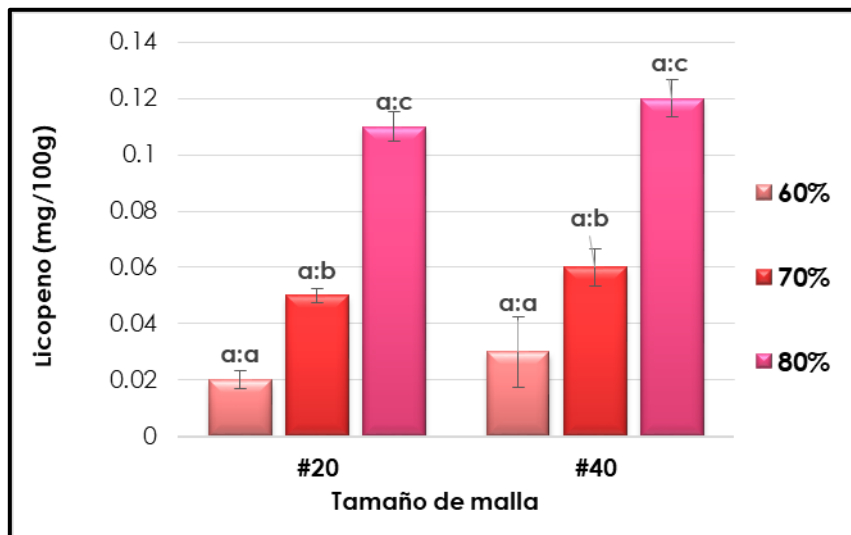


Figura 21. Contenido de licopeno obtenido a partir de la extracción asistida por ultrasonido aplicado a cáscara de sandía con diferentes concentraciones de solvente. Las primeras letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por tamaño de partícula y las segundas por concentración de solvente.

Como se observa en la figura 21, no hay diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el contenido de licopeno por el tamaño de partícula en el que se obtuvieron los extractos por el método de extracción asistida por ultrasonido. Mientras que en la concentración de solvente se observó que a mayor concentración de etanol mayor es la cantidad de licopeno recuperada, presentando una relación directamente proporcional. Observando que los extractos obtenidos



con etanol al 80 % presentaron mayor contenido de licopeno alrededor de 0.12 mg/100 g de muestra, seguido de los extractos obtenidos con 70% con un contenido de 0.05 mg/100g de muestra, siendo este aproximadamente 58 % menos en comparación a los extractos con solvente en mayor concentración. Mientras que los extractos obtenidos con etanol al 60 % presentaron un contenido de licopeno de aproximadamente 0.03 mg/100 g de muestra siendo, 75 % menor en comparación al valor más alto. Observándose diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la concentración de licopeno, obtenida de los extractos a diferentes proporciones de solvente. Los resultados obtenidos corresponden con los datos reportados por Cardona y colaboradores en 2006, quienes concluyeron que al realizar la extracción de licopeno de la pulpa del tomate con un alto contenido de humedad dificulta el proceso de extracción ya que esto disminuye la concentración de etanol, por lo que se hace necesario disminuir la humedad de la fuente de licopeno hasta en un 75 % para garantizar una mayor concentración de etanol durante la extracción y se obtenga un mayor rendimiento de licopeno. Es por ello que a mayor concentración de etanol se obtiene mayor cantidad de licopeno.

Esto se debe a que el licopeno es un compuesto lipofílico que al extraerse con una concentración alta de etanol se vuelve más soluble en él, además de que el etanol presenta una alta solubilidad de compuestos grasos y otras sustancias carotenoides (Cardona *et al.*, 2006).

A partir de los resultados obtenidos por el método de extracción asistida por ultrasonido se propuso usar solamente solvente a 80 % de etanol para la extracción para el método de Soxhlet y ambos tamaños de partícula.



En la figura 22 se muestran los resultados obtenidos en la extracción de licopeno a los dos tamaños de partícula propuestos por los dos métodos propuestos.

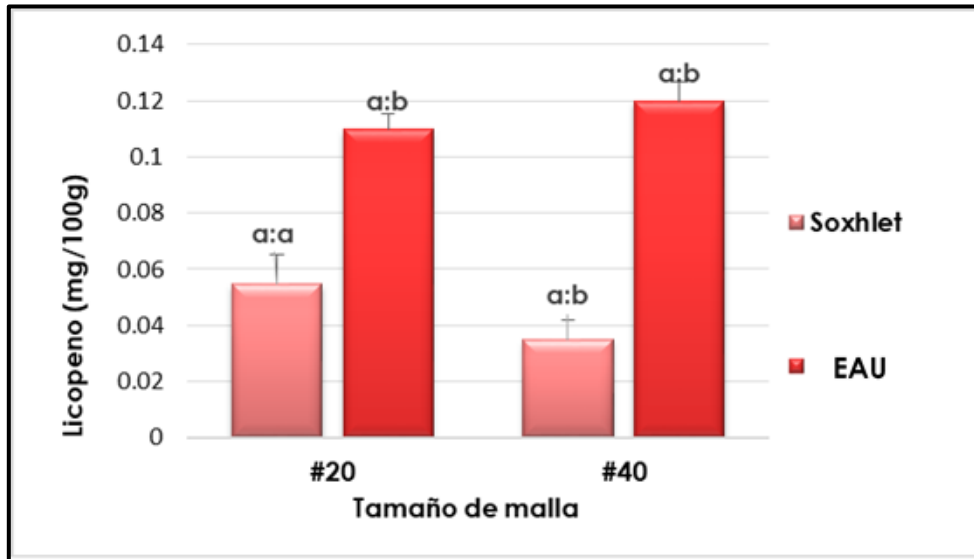


Figura 22. Contenido de licopeno en los extractos obtenidos de la cáscara de sandía por el método de extracción asistida por ultrasonido (EAU) y Soxhlet. Las primeras letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por tamaño de partícula y las segundas por el método de extracción.

Como se observa en la figura 22 no hay diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el contenido de licopeno por el tamaño de partícula. Sin embargo existe un efecto por el método de extracción en donde se observa que el método extracción asistida por ultrasonido presentó 58 % más de licopeno extraído en comparación con el método Soxhlet.

Esto debido al fenómeno de cavitación ultrasónica que favorece la ruptura de la pared celular, la reducción del tamaño de partícula y la permeabilidad del tejido lo que facilita la difusión del disolvente dentro de la pared inerte del material vegetal y el incremento de la masa transferida a través de las



membranas, reduciendo el tiempo de extracción y la temperatura. Esto explica la eficiencia de la extracción asistida con ultrasonido incrementando la pureza del producto extraído, además de acuerdo con Vinaturo (2001) que menciona que la extracción asistida por ultrasonido de compuestos bioactivos con etanol mejora los rendimientos comparado con los métodos clásicos.

Ambos métodos se estudiaron a diferentes temperaturas, la extracción asistida por ultrasonido se realizó a 60 °C y Soxhlet a temperaturas superiores a 100 °C. Los resultados obtenidos se comportan de manera similar con los datos reportados por (Cardona *et al*, 2006) quien concluyó que la mejor temperatura de extracción es de 50 °C, siendo la menor de tres temperaturas propuestas en su investigación sobre la extracción de licopeno de la pulpa de tomate.

Este factor pudo afectar la extracción por el método de Soxhlet, ya que el extracto estuvo expuesto a altas temperaturas por un tiempo prolongado y el licopeno es un compuesto altamente degradable, puesto que presenta un alto grado de instauración lo cual lo convierte en un compuesto de fácil oxidación, siendo especialmente sensible a diversos factores como la luz, la temperatura, el oxígeno y valores extremos de pH (Míngues & Mosquera 1997).



5.2 Contenido de L-citrulina en el extracto de cáscara de sandía

Para la extracción de L-citrulina se utilizó el método Soxhlet y reflujo directo, se propusieron tres concentraciones de solvente 60, 70 y 80 %, y dos tamaños de partícula, los resultados se muestran en las figuras 23 y 24.

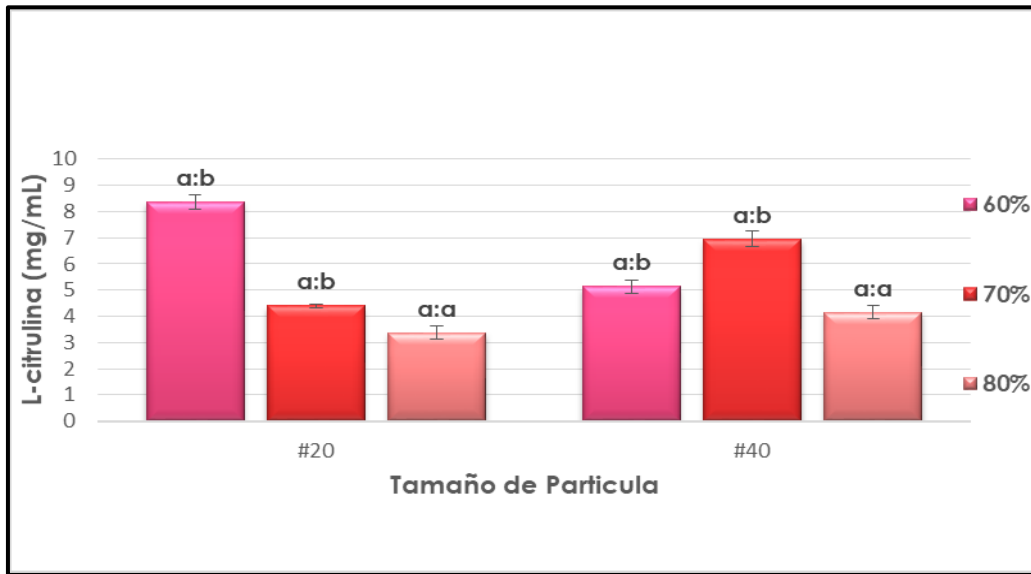


Figura 23. Contenido de L-citrulina obtenido a partir de la extracción por el método de Soxhlet aplicado a cáscara de sandía con diferentes concentraciones de solvente. Las primeras letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.005$) por tamaño de partícula y las segundas por concentración de solvente.

Como se observa en la figura 23, no existe un efecto en el contenido de L-citrulina por el tamaño de partícula con el que se obtuvieron los extractos por el método de Soxhlet. Mientras que en la concentración de solvente se observa que a menor concentración de etanol mayor es la cantidad de L-citrulina recuperada. Observando que los extractos obtenidos con etanol al 60% presentaron mayor contenido de L-citrulina con una concentración de de 8.37mg/mL de muestra, seguido de los extractos obtenidos con 70% con una concentración de 5.68mg/mL de muestra siendo este aproximadamente 33% menos en comparación a los extractos con solvente en menor concentración. Mientras que los extractos obtenidos con etanol al 80% presentaron un contenido de L-citrulina de aproximadamente 3.76 mg/mL de muestra siendo



56% menor en comparación al valor más alto. Observándose diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la concentración de L-citrulina, obtenida de los extractos a diferentes proporciones de solvente.

Como se observa en la figura 24, no existe un efecto en el contenido de L-citrulina por el tamaño de partícula con el que se obtuvieron los extractos por el método de reflujo directo.

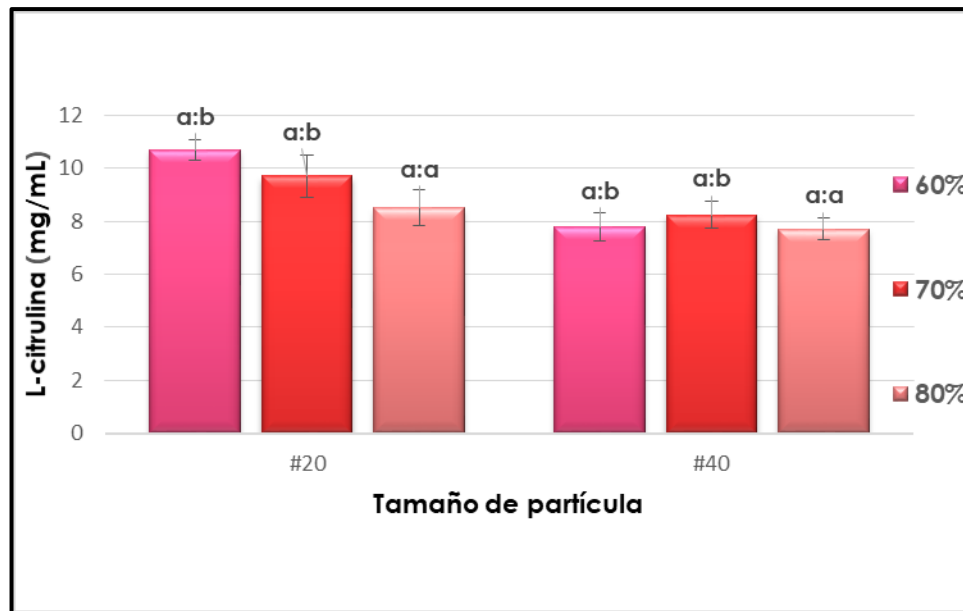


Figura 24. Contenido de L-citrulina obtenida a partir de la extracción por el método de reflujo directo aplicado a cáscara de sandía con diferentes concentraciones de solvente. Las primeras letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por tamaño de partícula y las segundas por concentración de solvente.

Mientras que en la concentración de solvente se observa que a menor concentración de etanol en combinación con HCl mayor es la cantidad de L-citrulina recuperada. Observándose que los extractos obtenidos con etanol al 60 % presentaron mayor contenido de L-citrulina alrededor de 10.69 mg/mL de muestra, seguido de los extractos obtenidos con 70% con un contenido de 8.9 mg/mL de muestra siendo este aproximadamente 17% menos en comparación a los extractos con solvente en menor concentración. Mientras que los extractos obtenidos con etanol al 80% presentaron una concentración



de L-citrulina de aproximadamente 8.1 mg/mL de muestra siendo 25 % menor en comparación al valor más alto. Observándose diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la concentración de L-citrulina, obtenida de los extractos a diferentes proporciones de solvente.

Las concentraciones de 60 y 70 % etanol para ambos métodos presentaron mayor contenido de L-citrulina en comparación con la concentración de 80%, esto concuerda con las investigaciones realizadas por Duran y colaboradores que establecen que el mejor tratamiento de extracción de L-citrulina se obtiene a los 20 min a 50 °C y con la menor concentración de solvente 30 %. Esto se debe a que la L-citrulina es un compuesto orgánico simple de bajo peso molecular, insoluble en disolventes poco polares, y soluble en agua (Macarulla & Goñi, 1993).

En la siguiente figura se comparan los resultados obtenidos por ambos métodos de extracción a diferentes tamaños de partícula.

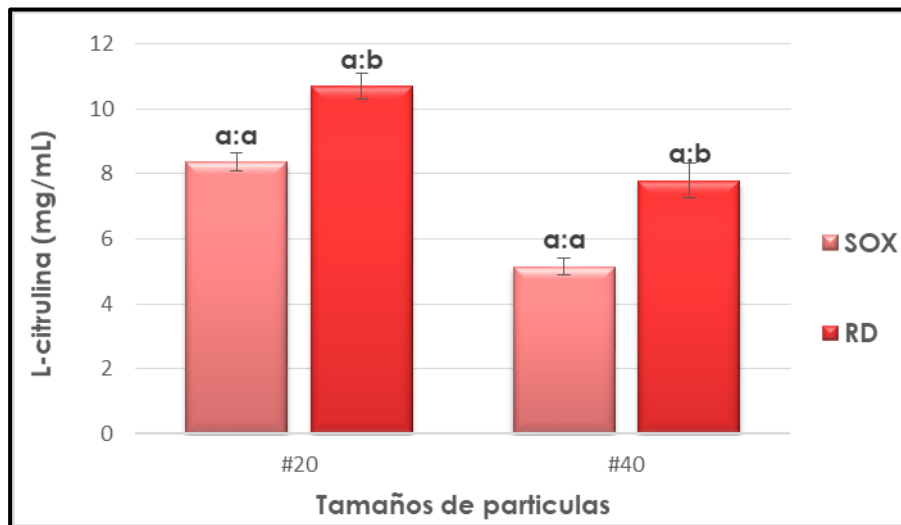


Figura 25. Contenido de L-citrulina en los extractos obtenidos de la cáscara de sandía por el método de Soxhlet (SOX) y reflujo directo (RD). Las primeras letras indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) por tamaño de partícula y las segundas por el método de extracción.

Como se muestra en la figura 25 no hay diferencia significativa en el tamaño de partícula pero sí en cuanto a los métodos de extracción, siendo el método



reflujo directo el que presentó una mayor cantidad de L-citrulina obteniendo 10.69 mg/mL, presentado diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto del método Soxhlet, siendo de 30.5% mayor el contenido de este compuesto, esto debido a que en el método reflujo directo se utilizó ácido clorhídrico (0.1N) que al comparar y de acuerdo con los estudios de Sierra y Venegas que extrajeron L-citrulina de la cáscara de sandía con ácido acético a diferentes concentraciones, concluyeron que a una concentración de 0.1 N de dicho ácido se obtiene mayor cantidad de compuesto ya que se genera un pH ácido (alrededor de 4), lo que provoca que los iones H^+ además de afectar la envoltura acuosa de las proteínas que contienen a la L-citrulina, también afectan a la carga eléctrica de los grupo básico de las cadenas laterales del aminoácido (Tejion *et al.*, 2009) además de que el rendimiento del aminoácido depende de la temperatura ya que cuando es elevada aumenta la energía cinética de las moléculas con lo que se desorganiza la envoltura acuosa de las proteínas que contiene el aminoácido, y se desnaturalizan así mismo, un aumento de la temperatura destruye las interacciones débiles y desorganiza la estructura de la proteína, de forma que el interior interacciona con el medio acuoso (Garrido *et al.*, 2006).

De acuerdo a los resultados mostrados anteriormente se puede concluir que el mejor método para la extracción de L-citrulina es reflujo directo con una concentración de solvente de 60% en combinación con ácido clorhídrico al 0.1 N con lo que se obtuvieron 10.69 mg/mL, cantidad que permitió agregar el extracto suficiente a la bebida funcional, caso contrario del compuesto licopeno del cual se obtuvo una cantidad mínima que impidió agregarlo a la bebida ya que se requería gran cantidad de extracto.

5.3 Evaluación sensorial de la bebida funcional adicionada con el extracto de cáscara de sandía rico en L-Citrulina

Para la aplicación de los extractos de L-citrulina obtenidos de la cáscara de sandía en los alimentos se decidió elaborar una bebida funcional rica en el



compuesto que se obtuvo mediante los métodos de extracción, para esto se elaboraron tres formulaciones a las cuales se les evaluaron los parámetros de olor, color y sabor mediante una prueba hedónica, los resultados se muestran en la figura 26.

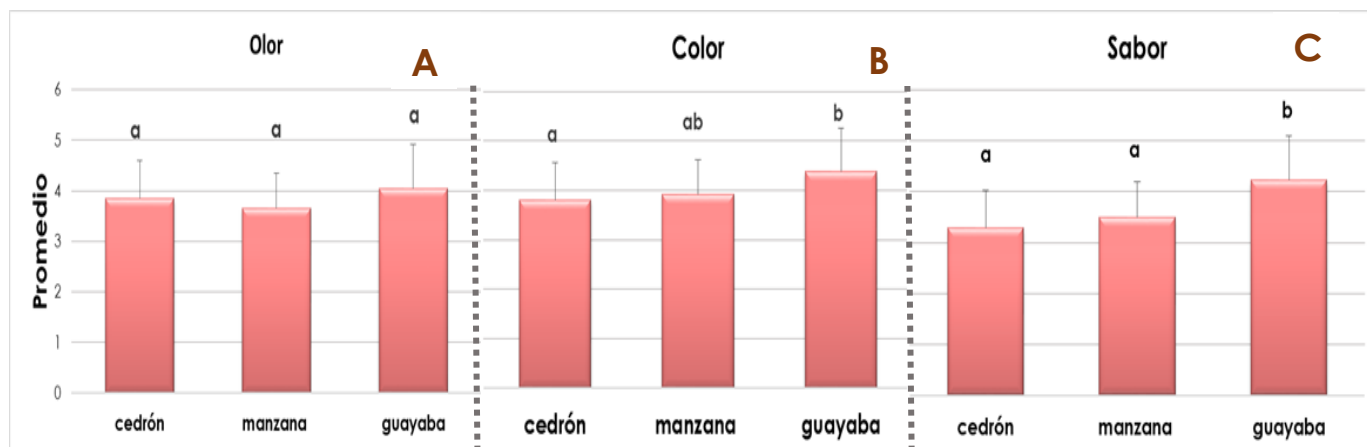


Figura 26. Evaluación sensorial Olor (A), Color (B) y Sabor (C) de tres bebidas funcionales adicionadas con extracto de cascara de sandía rico en L-Citrulina. Las letras a y b indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las tres formulaciones de la bebida funcional.

Como se puede observar en la Figura 26 en cuanto al olor (A) no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las tres formulaciones, las cuales presentaron promedios aproximadamente de 4 lo que indica que a los panelistas les agrado el olor de las tres formulaciones. En general los comentarios de los panelistas fue que lograron percibir el olor de la canela; sin embargo, no notaban diferencia alguna respecto al olor de las frutas.

En la evaluación de color (B) no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las formulaciones de cedrón y manzana las cuales presentaron promedios alrededor de 3 (ni me gusta ni me disgusta), lo que indicó que para los panelistas fue indiferente. Con respecto a la formulación de guayaba existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con la formulación de cedrón obteniendo promedios aproximadamente de 4 (me gusta ligeramente) que indicó que el color en esta formulación fue de mayor agrado. La bebida de manzana y guayaba agrado más a los panelistas debido al tomo rojizo que presentaban,



ya que la formulación con cedrón proporciono un tono más oscuro por la clorofila de las hojas siendo de menor agrado.

Finalmente en cuanto al sabor (C) no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en las formulaciones de cedrón y manzana los cuales mostraron menor aceptación con promedios de 3, lo que significaba que al consumidor ni le gustaba ni le disgustaba. La formulación de guayaba si presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a las demás ya que tuvo promedios mayores a 4 (me gusta ligeramente) lo que nos indica que si fue del agrado de los panelistas.

Por los resultados mostrados en el análisis sensorial de la bebida se decidió que la formulación de guayaba fue la más aceptada por los panelistas en cuanto a los parámetros evaluados, por lo cual se prosiguió a realizar la vida de anaquel de esta bebida.

5.4 Evaluación de la vida de anaquel de la bebida funcional adicionada con extracto de sandía rico en L-Citrulina

5.4.1 Descriptores microbiológicos, físicos y fisicoquímicos.

Durante el almacenamiento de los alimentos, esto son expuestos a una gran variedad de factores tales como la temperatura, la humedad, el oxígeno y la luz los cuales puedes desencadenar varios mecanismos de reacción que pueden conducir a la degradación de los alimentos. Como consecuencia de estas reacciones los alimentos pueden alterarse causando problemas que los hacen no aptos para el consumo humano, como es el desarrollo de microorganismos causantes del deterioro en los alimentos (Gómez, 1999).

Debido a esto se decidió llevar a cabo las pruebas para evaluar el crecimiento microbiano en la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía durante el estudio de la vida de anaquel.



Tabla 17.- Conteo de mesofilos aerobios y coliformes totales durante la vida de anaquel.

Días	25°C		35°C		45°C	
	Coliformes Totales (UFC/mL)	Mesofilos Aerobios (UFC/mL)	Coliformes Totales (UFC/mL)	Mesofilos Aerobios (UFC/mL)	Coliformes Totales (UFC/mL)	Mesofilos Aerobios (UFC/mL)
0	<10	<10	<10	<10	<10	<10
7	<10	<10	<10	<10	<10	<10
14	<10	<10	<10	<10	<10	<10
21	<10	<10	<10	<10	<10	<10
28	<10	<10	<10	<10	<10	<10
35	<10	<10	<10	<10	<10	<10

Como se puede observar en los resultados obtenidos de los conteos microbiológicos para coliformes totales y mesofilos anaerobios no hubo un crecimiento de colonias, demostrando que la bebida a los 35 días de almacenamiento en cuanto a parámetros microbiológicos es aceptada, lo que nos permite decir que la bebida fue desarrollada siguiendo prácticas de higiene adecuadas cumpliendo con las especificaciones de la NOM-218-SSA1-2011 para bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína no deben sobrepasar los límites de UFC/mL para mesofilos totales 50 y 10 NMP/mL para coliformes totales.

5.4.2 Determinación de L-citrulina en la vida de anaquel

Durante el paso del tiempo los alimentos que han sido procesados pueden perder algunas de sus propiedades debido a la degradación de los compuestos químicos. Los principales cambios químicos están relacionados con la actividad enzimática, reacciones de oxidación y reacciones no



enzimáticas causando cambios principalmente en la apariencia, (Goméz, 1999). En este caso se decidió evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de L-citrulina ya que este es el compuesto capaz de reducir los radicales libres y así aumentar la capacidad antioxidante de la bebida funcional con extracto de cascara de sandía.

En la figura 27 muestra el comportamiento del compuesto L-citrulina en la bebida durante 35 días de almacenamiento propuesto para la evaluación a tres diferentes temperaturas de almacenamiento 25, 35 y 45 °C.

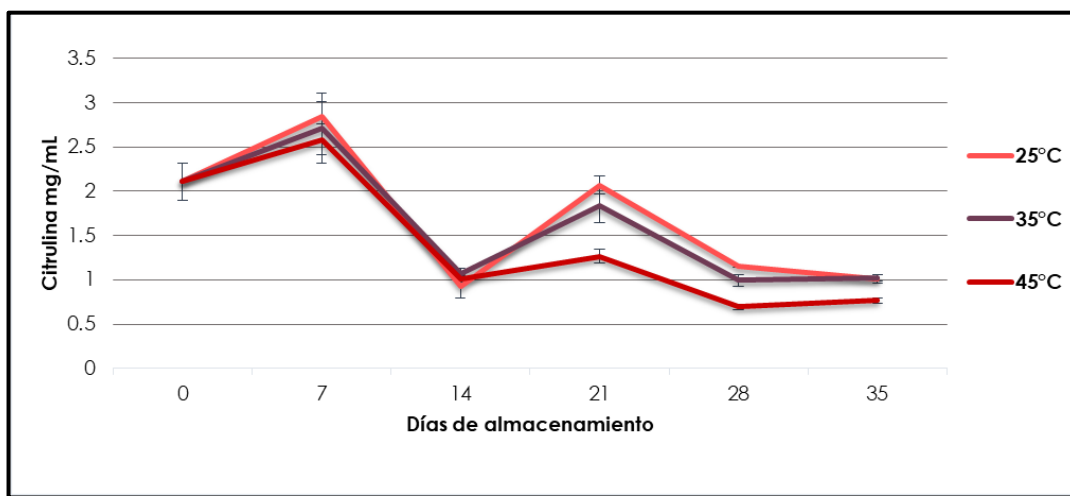


Figura 27. Evaluación de los cambios en el contenido de L-Citrulina en la bebida funcional adicionada con el extracto de cáscara de sandía durante el almacenamiento a diferentes temperaturas.

Como se puede observar en la figura 27 el contenido de L-citrulina en la bebida funcional fue disminuyendo conforme pasaron los días de almacenamiento. En cuanto a las temperaturas de almacenamiento, a 25 °C y 35 °C no se observó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) en el contenido de este compuesto, obteniendo valores alrededor de 1mg/mL lo que indica que el contenido de L-citrulina disminuyó al día 35 de almacenamiento alrededor del 52 %. Por otro lado la temperatura de 45 °C al día 35 de muestreo la concentración de este compuesto disminuyó un 64 %, además de que mostró un 25% menos contenido de L-citrulina en el día 35 con respecto a las temperaturas de 25 °C y 35 °C lo cual nos indica que la L-citrulina tuvo un



comportamiento más estable a temperaturas de almacenamiento cercanas a la ambiente. Sin embargo cabe mencionar, que a pesar de esta disminución la bebida sigue manteniendo un contenido importante de este compuesto con el cual se puede satisfacer la ingesta recomendada de 3 g/ día por un tiempo prolongado, además se podría considerar el agregar a la formulación un compuesto capaz de reducir la degradación de la L-citrulina ayudando a mantener una mayor concentración durante un periodo de tiempo más largo.

5.4.3 Determinación de la capacidad antioxidante en la vida de anaquel.

En la figura 28 muestra el comportamiento de la capacidad antioxidante presente en la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía durante 35 días de muestreo para la evaluación de la vida de anaquel a las tres diferentes temperaturas de almacenamiento 25, 35 y 45 °C.

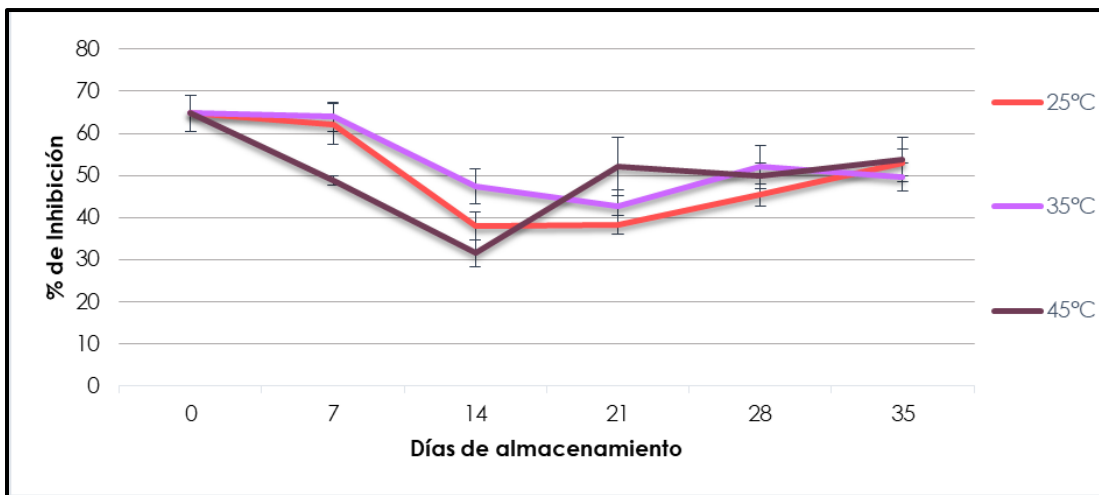


Figura 28. Evaluación de los cambios en la capacidad antioxidante durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.

Como se observa en la figura 28 la capacidad antioxidante de la bebida funcional en general fue disminuyendo un 58 % del día 0 al 14; sin embargo, a partir del día 21 comenzó a mostrar una tendencia más estable, obtenido valores alrededor del 50 % de inhibición. En cuanto a las temperaturas la capacidad antioxidante no se vió fuertemente afectada ya que el



comportamiento entre ellas fue similar; sin embargo, con la temperatura de 25 °C se obtuvieron porcentajes de inhibición ligeramente mayores en un 4% en comparación con las demás temperaturas de almacenamiento. También se puede observar que del día 0 al día 35 de muestreo la capacidad antioxidante únicamente disminuyó un 18 %, de igual forma (Laines & Murillo, 2016) en su estudio del procesamiento térmico sobre el poder antioxidante de productos elaborados de la guanábana demostraron que al someter los compuestos antioxidantes a temperaturas altas se reduce el porcentaje de inhibición en relación a la capacidad antioxidante de los compuestos por lo que se obtiene una mayor estabilidad en temperaturas bajas.

5.4.4. Determinación de pH en vida de anaquel.

EL control de pH es muy importante en la elaboración de productos alimenticios tanto como indicador de las condiciones higiénicas como para el control de los procesos de transformación. El pH, como la temperatura y la humedad, son importantes para la conservación de los alimentos. De ahí que generalmente, disminuyendo el valor de pH de un producto, aumente el período de conservación. Se recomienda mantener un pH de 3 - 4 ya que es el pH óptimo para evitar el crecimiento de bacterias y resaltar ciertas notas de sabor (Malvais, 2017).

La figura 29 muestra el comportamiento del pH de la bebida durante 35 días de vida de anaquel de la bebida a las tres diferentes temperaturas de almacenamiento 25, 35 y 45 °C.

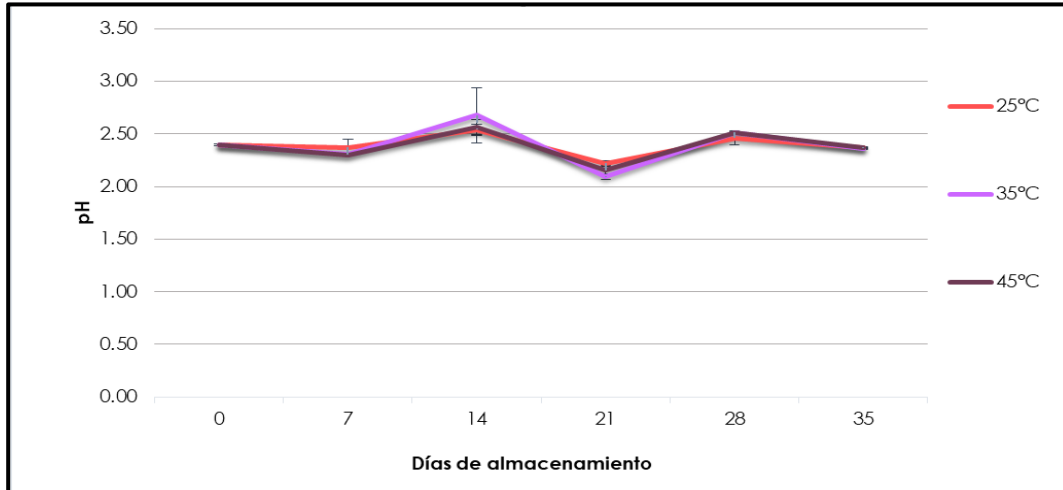


Figura 29. Evaluación de los cambios de pH durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cascara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.

Como se puede observar en la figura 30 el pH de la bebida funcional se mantuvo constante durante el almacenamiento. En cuanto a las temperaturas de almacenamiento los valores de pH no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$), cabe mencionar que durante los días 14 y 28 se observa un ligero aumento del pH sin embargo este no fue relevante obteniéndose valores entre 2.0 y 2.5 durante toda la evaluación de la vida de anaquel.

5.4.5. Determinación de Color en vida de anaquel.

El estudio de la evolución de los parámetros de color es de utilidad para interpretar los cambios que se producen durante el almacenamiento, lo que está muy ligado a la apariencia y aceptación del producto por parte del consumidor (Busso, 2016).

La figura 30 muestra el comportamiento de la luminosidad (valor *L) durante 35 días de vida de anaquel de la bebida a las tres diferentes temperaturas de almacenamiento 25, 35 y 45 °C.

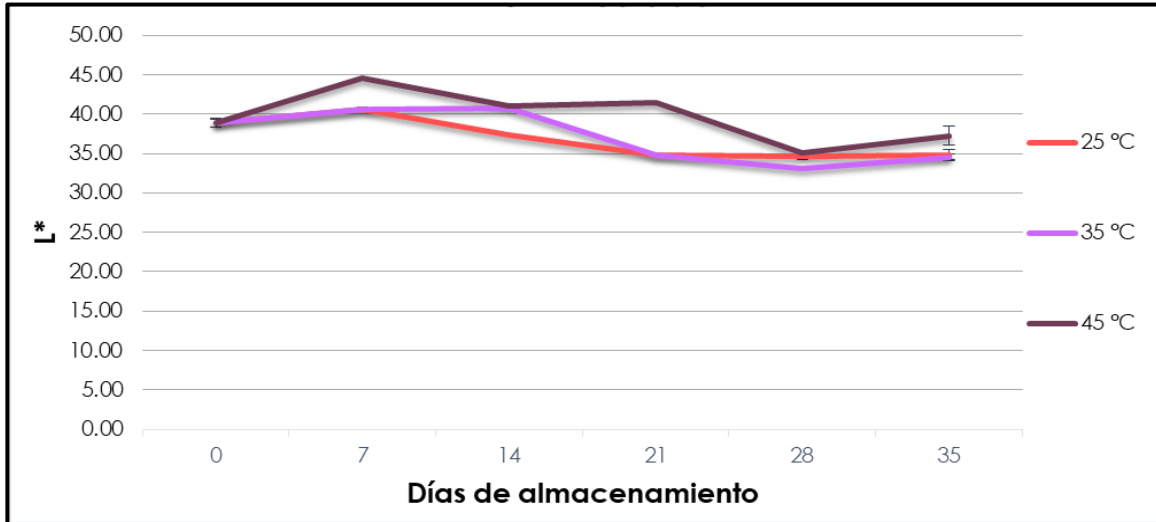


Figura 30. Evaluación de los cambios de la luminosidad durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cascara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.

La luminosidad de la bebida almacenada durante 35 días se observa en la figura 30 mostrando una ligera disminución al paso del tiempo del día 0 al día 35, para 25 °C un 10 %, 35 °C un 11 % y 45 °C un 4.2 % mostrando que los valores de *L se mantuvieron en el mismo tono de color durante todo el tiempo de almacenamiento. En 2013 Arrazola y colaboradores observaron un comportamiento similar en donde L* no cambio durante el almacenamiento en su estudios de obtención y evaluación de la estabilidad de antocianinas de berenjena en bebidas donde se evaluaron las temperaturas de 25 ° y 4 °C.



En la figura 31 se muestra el comportamiento de tono ($^{\circ}\text{Hue}$) de la bebida almacenada durante 35 días de vida de anaquel a las tres temperaturas de almacenamiento 25, 35 y 45 $^{\circ}\text{C}$.

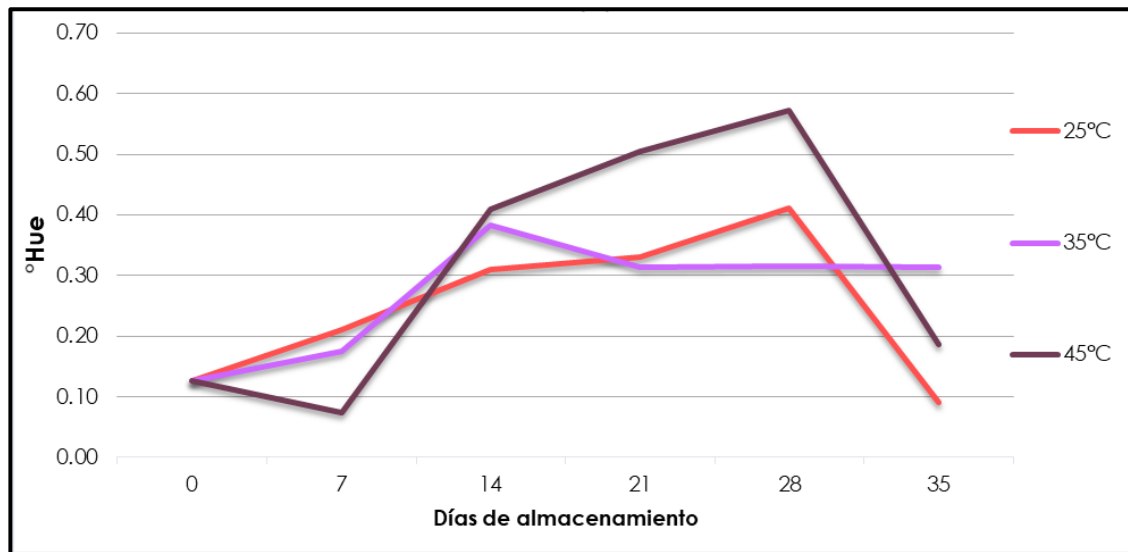


Figura 31. Evaluación de los cambios en los $^{\circ}\text{Hue}$ durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cascara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.

El valor de $^{\circ}\text{Hue}$ para la bebida almacenada a 25 $^{\circ}\text{C}$ mostró un ligero cambio respecto a las temperaturas de 35 y 45 $^{\circ}\text{C}$ disminuyendo un 30% pero al comparar este valor con los de las otras temperaturas no es un cambio muy notorio durante los días de almacenamiento mostrado que los tonos de todas la temperaturas entran en el intervalo de púrpura - rojizo.



En la figura 32 se muestra el comportamiento de croma de la bebida almacenada durante 35 días de vida de anaquel a las tres temperaturas de almacenamiento 25, 35 y 45 °C.

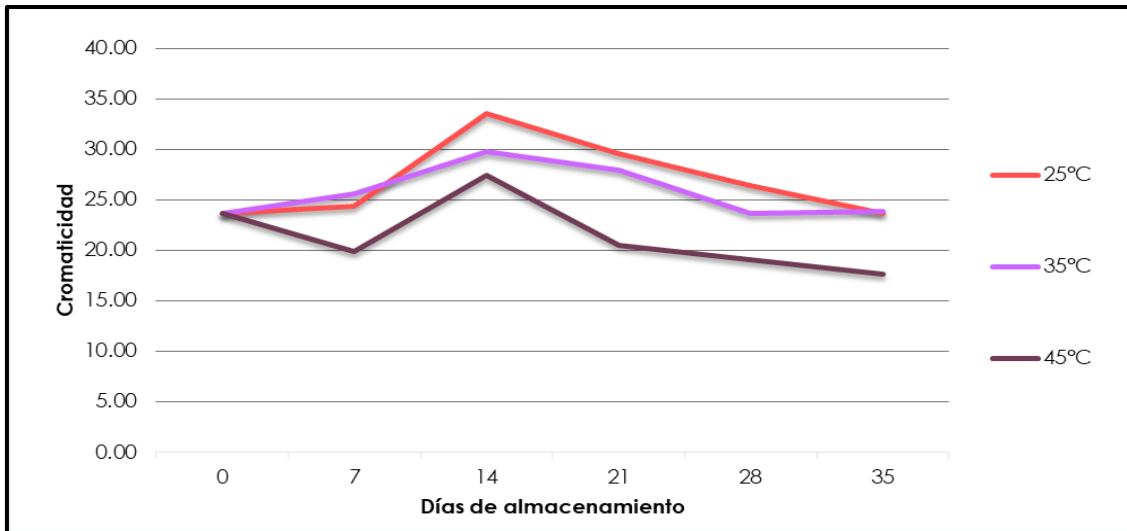


Figura 32. Evaluación de los cambios en la cromaticidad durante el almacenamiento de la bebida funcional adicionada con extracto de cascara de sandía rico en L-citrulina a tres diferentes temperaturas.

Los valores de croma no mostraron un cambio significativo, sin embargo se observa que para la temperatura de 45 °C hubo una disminución en cuanto al valor inicial, esto pudo ser debido a que estuvo expuesta la bebida a una temperatura mayor tornándose a un color más opaco. Diferentes estudios en bebidas muestran un comportamiento similar en este parámetro de acuerdo con Arrazola en 2013 dónde se evaluaron dos temperaturas de almacenamiento 25 °C y 4 °C para una bebida con antocianinas de berenjena.



5.4.6 Sensorial

Como se puede observar en la figura 33 para el día 7 de muestreo no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las temperaturas de 35 °C y 45 °C las cuales mostraron menor aceptación con promedios alrededor de 3 lo que nos indica que el olor fue indiferente para los panelistas. La temperatura de 25°C si presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con respecto a las demás ya que tuvo promedios alrededor de 4 lo que nos indica que fue de mayor agrado para los panelistas.

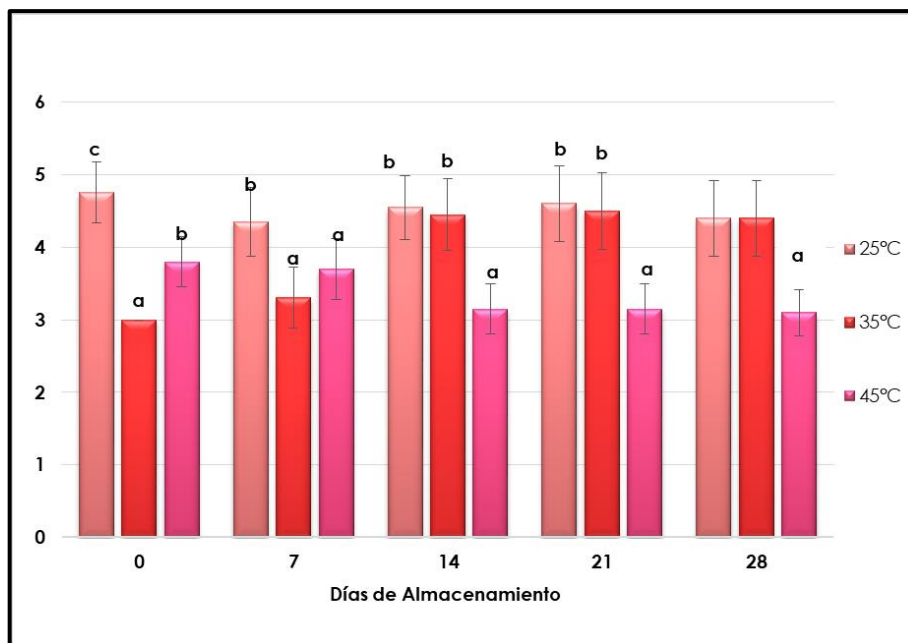


Figura 33. Evaluación sensorial del Olor de la bebida funcional adicionada con extracto de cáscara de sandía rico en L-citrulina durante la vida de anaquel. Las letras a, b y c indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las temperaturas de almacenamiento.

Por otro lado se observa que del día 14 al 28 de muestreo las formulaciones presentaron el mismo comportamiento, siendo las formulaciones de 25°C y 35°C las que no presentaron diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre ellas además de que obtuvieron promedios alrededor de 4, lo que indica que eran de agrado a los panelistas caso contrario de la temperatura de 45°C que si presentó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a las demás



temperaturas ya que obtuvo promedio de 3 que nos indica que fue indiferente para los panelistas.

Como se puede observar en la figura 34 en cuanto al color, durante el día 7 de muestreo no se presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las tres temperaturas de almacenamiento.

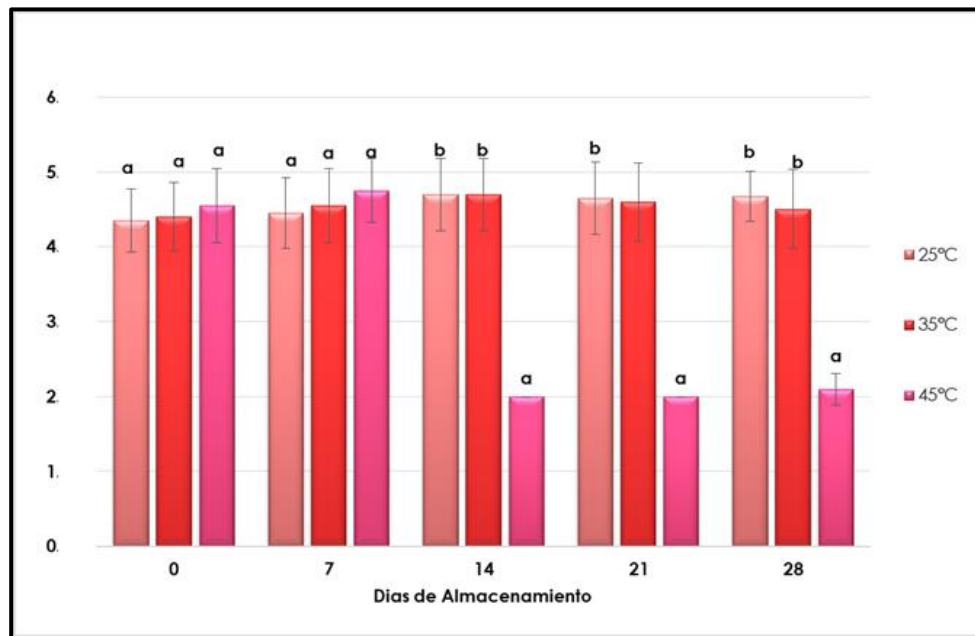


Figura 34. Evaluación sensorial del Color de la bebida funcional adicionadas con extracto de cáscara de sandía rico en L-Citrulina durante la vida de anaquel. Las letras a, b y c indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las temperaturas de almacenamiento.

Del día 14 al 28 de muestreo las bebidas almacenadas en las temperaturas de 25 °C y 35 °C si presentaron diferencia significativa ($p \leq 0.05$) con respecto a la bebida almacenada a 45 °C mostrando promedios alrededor de 4 indicando que el color de la bebida era de agrado a los panelistas en contraste con la temperatura de 45 °C que obtuvo promedios de 1 y 2 lo que indica que el color de la bebida llegó a disgustarles.

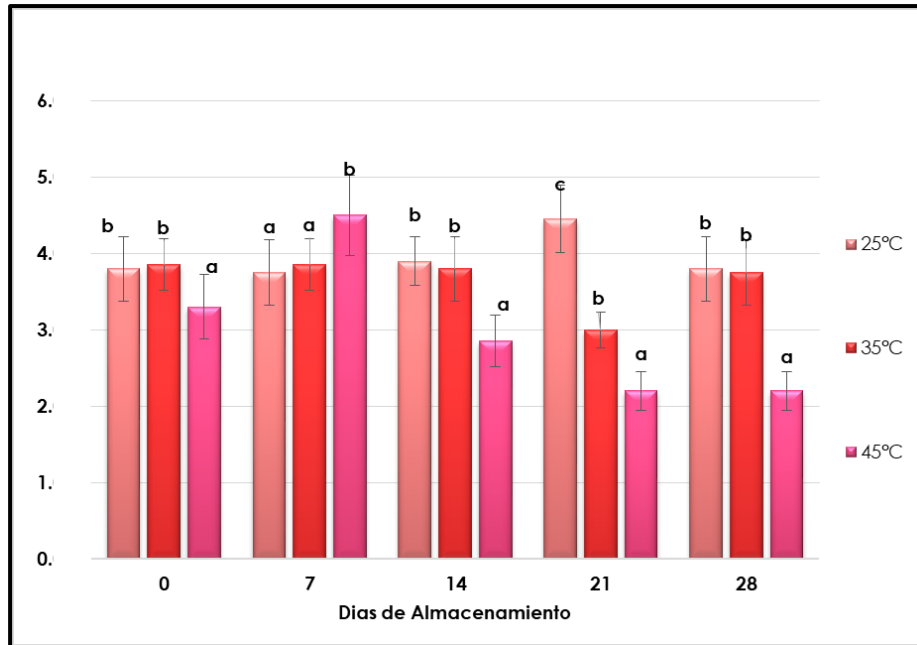


Figura 35 Evaluación sensorial del Sabor de la bebida funcional adicionadas con extracto de cáscara de sandía rico en L-Citrulina durante la vida de anaquel. Las letras a, b y c indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las temperaturas de almacenamiento.

En cuanto el sabor no existió diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre las temperaturas de 25°C y 35°C las cuales presentaron promedios alrededor de 4, lo que indica que fue de agrado para los panelistas. Este fenómeno se presentó durante todos los días de muestreo a excepción del día 21 en donde existió diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las tres temperaturas de almacenamiento, sin embargo la temperatura de 45°C fue la que mostró promedios alrededor de 2 y 3 lo que indica que la bebida llegó a disgustar ligeramente a los panelistas.

Por los resultados mostrados anteriormente respecto a la evaluación sensorial de la bebida durante el estudio de vida de anaquel se puede concluir que la bebida con mayor aceptación por los panelistas fue la almacenada a 25 °C ya que conservó de mejor manera las características organolépticas evaluadas.



5.4.7 Cálculo del tiempo estimado de la bebida funcional por medio de un modelo cinético y los parámetros de cinética de degradación.

En la siguiente tabla se muestran los datos de los coeficientes de correlación de los parámetros críticos evaluados.

Tabla 18.- Coeficientes de correlación de los parámetros críticos.

T (°C)	Coeficiente de correlación (R ²)					
	Citrulina	pH	tono	croma	L	ABT
25	0.4103	0.0104	0.0011	0.002	0.7675	0.1957
35	0.5663	0.002	0.575	0.0197	0.6408	0.434
45	0.7697	0.0011	0.2854	0.3901	0.3368	0.0063

Al observarse el comportamiento del parámetro L-citrulina correspondiente al modelo de orden uno, se procedió al cálculo de la energía de activación (Ea) por medio de la Ley de Arrhenius mostrándose en la tabla 19 los resultados de las constantes de velocidad de reacción y la Ea.

Tabla 19.- Constantes de velocidad de reacción y Ea de la bebida funcional.

T(°C)	1/T(°K)	Ln K	Ea (J/mol K)
25	0.0034	-3.8608	-1529.5
35	0.0032	-3.8743	
45	0.0031	-3.5344	

De acuerdo al comportamiento de la constante de velocidad se puede observar que a mayor temperatura, mayor es la degradación de la L-citrulina, siendo necesaria una Ea de -1529.5 J/mol K para que se dé la degradación de la L-citrulina de la bebida.

En la ecuación 4 se muestra el cálculo de vida de anaquel de la bebida funcional a partir de la energía de activación calculada.



Ecuación 4 *Tiempo de vida de anaquel* = $35e^{\left[\left(\frac{-1529.5}{8.3144}\right) \cdot \left(\frac{1}{298.15} - \frac{1}{308.15} - \frac{1}{318.15}\right)\right]} = 61 \text{ días}$

Cálculo del tiempo de vida de anaquel de la bebida funcional.

Este valor de vida de anaquel fue tomado como referencia en base a los componentes que manifiestan un cambio más temprano durante el tiempo de almacenamiento. Ya que no existe una restricción o dato en el que indique cuanto pueden degradarse antes de que causen su rechazo por lo que el resultado obtenido expresa que 61 días dura la bebida en las condiciones normales de almacenamiento (25 °C) y la bebida sufrirá un menor cambio que el almacenamiento a 35 y 45 °C en condiciones aceleradas de almacenamiento ya que como se pudo observar las temperaturas altas ejercen cierta influencia en los parámetros cinéticos de degradación considerando de igual forma que la bebida no contiene conservadores que prolonguen su vida útil.





6. Conclusiones

En base a los resultados anteriores, se concluye lo siguiente

Conclusión general: Mediante este proyecto de investigación pudimos estudiar que la cáscara de sandía es una fuente importante de L-citrulina, caso contrario del licopeno ya que no se logró obtener lo suficiente para cubrir la dosis diaria recomendada. Permittiéndose el desarrollo de una bebida adicionada con el extracto obtenido, correspondiente a la formulación de guayaba siendo la de mayor aceptación por los panelistas, evaluando posteriormente la vida de anaquel de la misma dando como resultado 61 días de vida útil.

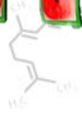
- La cáscara de sandía de la variedad Jubilee presentó una concentración de 10.69 mg/mL de L-citrulina y 0.12 mg /100g muestra de licopeno, compuestos que al ser extraídos brindan una oportunidad de desarrollo de un producto alimenticio que aporte un beneficio a la salud de la población y se contribuya al aprovechamiento de un residuo generado por el consumo de este fruto.
- El mejor método para la extracción de licopeno fue el método de extracción asistida por ultrasonido con una concentración de 80 % v/v de etanol obteniendo una concentración de 0.12 mg /100g de muestra, sin embargo la cantidad extraída de este compuesto fue muy baja, es por ello que no se consideró su adicción a la bebida ya que se requeriría gran cantidad de extracto para cubrir la dosis recomendada que es de 7-9 mg/día.
- El método con el mejor rendimiento de L- Citrulina dentro de los extractos fue el método de reflujo directo, obteniendo una concentración de 10.69mg/mL siendo eficaz para poder adicionar este compuesto a la bebida funcional cubriendo la dosis recomendada.



- De tres formulaciones propuestas para la elaboración de la bebida, la formulación compuesta por 79.7 % de guayaba, 10% de Jamaica, 2.5 % de jarabe de agave y 7.8% de extracto, presentó mayor aceptación por los panelistas.
- En la evaluación de la vida de anaquel de la bebida funcional a las temperaturas estudiadas 25, 35 y 45 °C se concluye que a temperaturas altas se obtiene un menor % de inhibición afectando la capacidad antioxidante de la bebida influyendo al igual el aumento de la temperatura en la degradación del compuesto L-citrulina.
- La bebida presentó un tiempo de vida útil de 61 días en condiciones normales de almacenamiento.



RECOMENDACIONES





7. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos en este trabajo se plantean las siguientes recomendaciones:

* Estudiar de diferentes variedades de sandía para comprobar en cuál de ellas se obtiene una mayor cantidad de los compuestos licopeno y L-citrulina.

*Obtención de los compuestos mediante otros métodos de extracción como centrifugación y fluidos supercrítico para evaluar el rendimiento.

*Realizar un análisis químico proximal de la bebida funcional para conocer su composición química y su aportación de nutrientes.

*Estudiar el comportamiento del compuesto L-citrulina a temperaturas de refrigeración durante el almacenamiento para evaluar la estabilidad del mismo.



8. Referencias:

- Abarca, P. (2017) Manejo agronómico para el cultivo de la sandía. Instituto de investigaciones agropecuarias. Chile.
- Acosta, G.F., Galván, R., Luján, M., Quiñones, F., Chavez, N., Pilar, J., (2003) Manejo del cultivo de Sandía en la región centro- sur del estado de Chihuahua recuperado de http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/2524/Manejo%20del%20cultivo%20de%20sandia%20en%20la%20region%20centro_sur%20del%20estado%20de%20chihuahua.pdf?sequence=1.
- Aggett, P.J., Antoine, J.M., Asp, N.G., Bellisle, F., Contor, L., Cummings, J.H., Howlett, J., Muller, D.J., Persin, C., Pijls, L.T., Rechkemmer, G., Tuijelaars, S., Verhagen, H. (2005) PASSCLAIM: consensus on criteria. *eur.j.nutr.* 44(Suppl.1), 5-30
- Agro Waste (2013) Extracción de compuestos de interés recuperado de: <http://www.agrowaste.eu/wp-content/uploads/2013/02/EXTRACCI%C3%93N-COMPUESTOS-INTER%C3%89S.pdf>. fecha de consulta:
- Alba, M.C. (2012). Productos milagro en México. Universidad Nacional Autónoma de México, 2, 1-17.
- Alimentos. (2018) Propiedades nutricionales que tienen los alimentos Recuperado de: <https://alimentos.org.es/carbohidratos-sandia>.
- Alsop P, Hauton D. (2016) Oral nitrate and citrulline decrease blood pressure and increase vascular conductance in young adults: a potential therapy for heart failure. *Eur J Appl Physiol*, 116, 1651–1661.
- Aràndiga, G. Díaz, S. (2008). Estudio del licopeno del tomate como colorante natural desde la perspectiva analítica e industrial.
- Arrazola G. Herazo, I., Alvis, A. (2013) Obtención y Evaluación de la estabilidad de antocianinas de Berenjena (*Solanum melongena L.*) en bebidas.



- ASERCA, (1999). La Sandía, una Tradición Exportadora. Revista Claridades Agropecuarias # 75. México, D.F.
- Azmir, J., I.S.M. Zaidul, M. M. Rahman, K. M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. H. A. Jahurul, K. Ghafoor, N. A. N. Norulaini, and A. K. M. Omar. (2013.) Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review. J. Food Eng. 117: 426-436.
- Bailey SJ, Blackwell JR, Lord T. (2015). L-Citrulline supplementation improves O₂ uptake kinetics and high-intensity exercise performance in humans. J Appl Physiol, 119, 385–395.
- Bortlik, K., Mortezaei, L., Saucy, F. (2003). *Procedimiento para la extracción de licopeno No. 2183471*. España: Oficina española de patentes y marcas.
- Boyde, T.R.C., Rahmatullah, M. (1980). Optimization of conditions for the Colorimetric determination of citruline, using diacetyl monoxime. Analytical Biochemistry, 107,424-431.
- Busso C.C.I (2016) Estabilidad de polifenoles y caracterización físico-química y sensorial en pulpas de frutos rojos en relación a los procesos tecnológicos para la obtención de alimentos e ingredientes alimenticios. [tesis]Universidad de Buenos Aires Facultad de Farmacia y Bioquímica, Argentina.
- Calvo, C. (2003). Colorantes funcionales. Alimentación equipos y tecnología ;22(180):87-92
- Canales, R. (2009). Paquete tecnológico para el cultivo de la sandía. Región de Murcia digital Sandía. España Recuperado de http://www.regmurcia.com/servlet/s.SI?sit=c,543,m,2715&r=ReP-19953-DETALLE_REPORTAJESPADRE. Fecha de consulta: 28/Nov/2017.
- Canales, R. (2015). La sandía en México, un breve panorama. Agricultura moderna recuperado de <https://www.agmoderna.com/2015/09/27/la->



- sand%C3%ADa-en-m%C3%A9xico-un-breve-panorama/. Fecha de consulta: 28/Nov/2017
- Cardona, M. Ríos, L. Restrepo, G.. (2006). Extracción del carotenoide licopeno del tomate chonto (*Lycopersicum esculentum*). Revista de la facultad de química farmacéutica, 11, 44-53.
 - Carmona, I. (2013). Utilización de los residuos de la industria del tomate para la obtención de compuestos bioactivos. Reporte N° 7 boletín informativo Agrimundo, Oficina de Estudios y Políticas Agrarias ODEPA, Fundación para la Innovación Agraria FIA, Agosto.
 - Casp A; Abril J. (2003). Procesos de conservación de alimentos. 2aed. Mundi-Prensa.
 - Collins JK, Perkins-Veazie P, Siddiq M, Dolan KD, Kelly KA, Heaps CL, Meininger CJ (2007). Dietary supplementation with watermelon pomace juice enhances arginine availability and ameliorates the metabolic syndrome in Zucker diabetic fatty rats. *J Nutr* 137:2680–268
 - Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología. (2011). Estudio de tendencias y oportunidades para el sector de alimentos procesados del Estado de México (pp. 12-30). México: FUMEC.
 - Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., & Sinigaglia, M. (2014). Functional Beverages: The Emerging Side of Functional Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12109>
 - Cutrufello PT, Gadomski SJ, Zavorsky G.S. (2015) The effect of L-citrulline and watermelon juice supplementation on anaerobic and aerobic exercise performance. *J Sports Sci*, 33, 1459–1466.
 - Desamero, V. (1993). Nutrient utilization in liquid/membrane system for watermelon micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33, 265–271.



- Duran, R., Villegas, M., & Nieves, I. (2017). Caracterización y extracción de citrulina de la corteza de la sandía (*Citrullus lanatus* "thunb") consumida en Valledupar. In *Temas Agrarios* (1st ed., pp. 62-69). Valledupar.
- Durand, G. (2009). Alimentos y Salud, alimentos funcionales (1st ed., pp. 6-40). México. Recuperado de :
<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www.ancefn.org.ar/acciones/alimentos/Expositores/Durand.pdf&ved=2ahUK Ewiz3t3AmlLdAhUBOawKHbNOAXcQFjAAegQIBBAB&usg=AOvVaw1UtGPvPfAdvV-fLfiP228j>. fecha de consulta: 30/Nov 2017
- EFSA. "Use of lycopene as a food colour" *The EFSA Journal* (2008) 674, 1-66.
- FF (1990) NMX-FF-075-1990, Fruta fresca.Sandía (*Citrillus Vulgaris* S.) especificaciones.
- Figueroa, A. (2016). Influence of L-citrulline and watermelon. *Current Opinion*, 20, 92–98
- Fish, W., Perkins-Veazie, P. y Collins, J. (2002). A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. *J. Food Comp. Anal*, 15, 309-317.
- Flam, B.R., Eichler, D.C., Solomonson, L.P. (2007). nítrico endotelial la producción de óxido está estrechamente unida al ciclo citrulina-NO, 17, 115 - 121.
- Garrido, A., Teijon, J., Blanco, D., Mendoza, C., Gutiérrez., y j. Ramírez. (2006) *Aminoácidos y Proteínas de fundamentos de bioquímica estructural*, Madrid, 2da.
- Giaconi, M.V. 1989. *Cultivo de hortalizas*, Editorial Universitaria, 3ª ed. ,Santiago. Chile. 308 p.
- Gomez, G. (1999). *Métodos de estudio de vida de anaquel de los alimentos* tesis de licenciatura. Universidad Nacional de Colombia Sede



- Manizales Facultad de Ciencias y Administración departamento de ciencias.
- Hernández. (2005) Evaluación Sensorial tesis de licenciatura .Facultad de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Nacional abierta y a distancia-UNAD.Bogota Recuperado de <http://www.inocua.org/site/Archivos/libros/m%20evaluacion%20sensorial.pdf>. fecha de consulta: marzo 2018
 - Horto (2014) Producción mundial de sandía. Diario digital de Actualidad Hortofrutícola. Recuperado de http://www.hortoinfo.es/index.php/4027-prod-mund-sandia-121214*. Fecha de consulta: 28 Noviembre 2017
 - Juárez, M. Olano, A. Morais, F. (2005): Alimentos funcionales. Ed. FECYT. Madrid
 - Kawasaki, S. Miyake C, Kouchi, T. Yokota, A. (2000) Responses of wild watermelon to drought stress: accumulation of an ArgE homologue and citrulline in leaves during water deficit. *Plant Cell Physiol*, 41, 864–873.
 - Konica Minolta Sensing Americas (2014) *Entendiendo el espacio de color CIEL*A*B* Recuperado de: <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/> fecha de consulta: marzo 2018.
 - Konijeti, R. Henning, S. Moro, A. Sheikh, A. Elashoff, D. Shapiro, A. Said, J. Heber, D. Cohen, P. Aronson, W. (2011) Chemoprevention of prostate cancer with lycopene in the tramp model. *Prostate*, 70, 1547-1554.
 - Kumcuoglu, S. Yilmaz, T. Tavman, S. (2009). Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes. In *Food Science and Technology* (14th ed., pp. 4102–4107). India: PMC.
 - Laines, J. A. Murillo, L.B. (2016) Efecto del procesamiento térmico sobre el poder antioxidante de los productos elaborados de la guanábana. Tesis de licenciatura Universidad de Guayaquil, Facultad de ingeniería química, Ecuador.



- Lorenz, M. Fechner, M. Kalkowsky, J. Fröhlich, K. Trautmann, A. Böhm, V.Liebisch, G. Lehneis, S. Schmitz, G. Ludwig, A. Baumann, G. Stangl, K. Stangl, V.(2012) Effect of lycopene on the initial state of atherosclerosis in New Zealand White (NZW) rabbits. PLoS One, 7.
- Macarulla, J.M. Goñi, F.M (1993). Biomoléculas: lecciones de bioquímica estructural recuperado de: https://books.google.com.mx/books?id=WUzrV3z3NogC&dq=la+citrulina+a+es+soluble+en+agua&source=gbs_navlinks_s. fecha de consulta : marzo 2017.
- Malvis, R.E.(2017) Estudio de vida de anaquel en bebidas saborizadas.(Tesina de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de México. México.
- Maroto, J.V. (1983). Horticultura Herbácea. Madrid, España: Mundi Prensa.
- McEneny ,J. Wade, L. Young, I.S. Masson, L. Duthie, G. McGinty, A. McMaster, C. Thies, F. (2012) Lycopene intervention reduces inflammation and improves HDL functionality in moderately overweight middle-aged individuals. J Nutr Biochem.
- Mendoza, D. (2017). Diseño de baño de pozo seco para la calibración metrológica de instrumentos de medición de temperatura con intervalo de operación de 50°C a 400°C. Instituto Politécnico Nacional, México.
- Mínguez-Mosquera, M. I. (1997). Clorofilas y Carotenoides en tecnología de alimentos. Universidad de Sevilla. España.
- Moinard, C. Maccario, J. Walrand, S. (2016) Arginine behaviour after arginine or citrulline administration in older subjects. Br J Nutr, 115, 399–404.
- Pomeranz, Y. Meloan, C.E. (2010) Food Analysis Theory and Practice Third Edition; Chapman & Hall, United States of America.



- Química Alkano (2016) Copyright Recuperado de: <http://quimicaalkano.com/product/l-citrulina/>.
- Re, R. Pellegrini, Ni. Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. (1999)., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*; 26: 1231–1237.
- Reardon, J. (2007). Food and Drug Protection Division. Department of Agriculture and Consumer Services, 20, 13-18.
- Reho, A.I. (2014) *Hortalizas*. México: Meister Media Worldwide Recuperado de <http://www.hortalizas.com/cultivos/hortalizas-lideres-sonorenses-generan-un-valor-de-produccion-superior-a-250-mdp-anuales/> Fecha de consulta: Noviembre 2017
- Rimando, A.M., Perkins-Veazie P.M. (2005) Determinación de citrulina en la corteza de la sandía, 1078, 196 - 200.
- Riofrío, A.J. Cruz, P.F., (2012) Obtención de aminoácidos a partir de la cascara de sandía. Tesis de licenciatura Universidad de Guayaquil, Facultad de ingeniería química, Ecuador.
- Roberfroid, M. B. (2000). Concepts and strategy of functional food science: The European perspective. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1660s-1664s.
- Rodriguez, I.Peña, D.Diaz, C. (2015).Extraccion de antioxidantes de polen apícola asistida por microondas y ultrasonido. Recuperado de : <http://bogota.unal.edu.co>. fecha de consulta: Noviembre 2017
- Rodríguez, R.Z. Robiana, M.M., Jaregui.H.U., Blanco.G.A., Reodriguez.C.J.E. (2014) Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes natrales. Estado actual y perspectivas. *CENIC Ciencias Químicas*, (45), pp-pp139-147.
- Rossell, J.B. Pritchard, J. L.R. (2013) *Analysis of Oilseeds, fats and Fatty Foods*; Elsevier Science Publishers Ltd, Ireland.



- Rubiano, S. (2006) Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. *ORINOQUIA*, 10,16-23.
- SAGARPA (2012) México principal exportador mundial de Sandía recuperado de <http://www.sagarpa.gob.mx/delegaciones/yucatan/boletines/paginas/201206B044.aspx> fecha de consulta: noviembre 2017
- Sánchez, W., Cortez, J. Solano., Vidaurre, J. (2015) Cinética de degradación térmica de betacianinas, betaxantinas y vitamina C en una bebida a base de remolacha (*Beta vulgaris L.*) y miel de abeja.
- Sastre Gallego, A. (2005) Nuevos alimentos. En *Tendencias en Alimentación Funcional*, eds. Serrano Ríos, M.; Sastre Gallego, A., y Cobo Sanz, J. M. You&Us, Madrid, pp. 1-14.
- SCF (1994) NOM-051-SCFI-1994, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados.
- SERNAC (2004). *Alimentos funcionales* Recuperado de: <http://www.administracion.usmp.edu.pe/institutoconsumo/wp-content/uploads/2013/08/Alimentos-funcionales.-2004-SENARC.pdf> fecha de consulta: noviembre 2017
- Serrano, J. (2016). La sandía: Química, Viagra y explosiones. *Ciencia en común*. Recuperado de : <http://cienciaencomun.wordpress.com/2016/06/15/quimica-sandia/> fecha de consulta: noviembre 2017
- SIAP (2015) Sandía: producto destacado donde Sonora es el líder. Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. Recuperado de <https://www.gob.mx/siap/articulos/sandia-producto-destacado-donde-sonora-es-lider?idiom=es> fecha de consulta: noviembre 2017
- Sierra, E. Venegas, D. (2016). *Optimización del rendimiento de extracción del aminoácido citrulina de la corteza de sandía (Citrullus Lanatus) obtenido por centrifugación utilizando la metodología de superficie de*



- respuesta (MSR)* tesis de licenciatura. Universidad popular del Cesar Facultad de Ingenierías y Tecnológica.
- SSA (1994) NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
 - SSA (1994) NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
 - SSA (2011) NOM-218-SSA1-2011 Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína, Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba.
 - Statista (2017) El portal de estadísticas recuperado de <https://es.statista.com/estadisticas/528167/produccion-de-sandias-en-el-mundo/>.
 - Sureda, A. Cordova A. Ferrer, M.D. et al. (2009) Effects of Lcitrulline oral supplementation on polymorphonuclear neutrophils oxidative burst and nitric oxide production after exercise. *Free. Radic. Res*, 43, 828–835.
 - Sureda, A. Pons, A. Arginine and citrulline supplementation in sports and exercise: ergogenic nutrients? *Med Sport Sci*. 2012; 59:18-28.
 - Tejion, J. R. Blanco, M. G, Agrasal, C. A y Olmo R. L. *Bioquímica estructural: Conceptos y tests*. 2 ed., Madrid, EDITORIAL TÉBAR, S.L, 2009, p. 386.
 - Tolosa, B. (2018). *Mintel tendencias de alimentación y bebidas 2017*. Recuperado de: <https://issuu.com/briantolosa/docs/mintel-tendencias-de-alimentacion>. fecha de consulta: marzo 2017
 - Torresani, M. (2009) Asociación entre riesgo cardiovascular y consumo de licopeno en mujeres pre y post menopáusicas. *Arch Latinoam Nutr*, 59, 120-17
 - Valdiviezo, J. (2010). *Extracción del carotenoide licopeno a partir de los rechazos post cosecha del mercado interno de Citrullus Lanatus (sandía)*



- para su futura aplicación en alimentos. (Licenciatura). Escuela Superior Politecnica del Litoral Argentina.*
- Valvidiezo, J, A. (2008). Extracción del carotenoide licopeno a partir de los rechazos post cosecha del Mercado interno de Citrullus Lanatus (sandía) para su futura aplicación en alimentos. Universidad superior politécnica del litoral, Ecuador.
 - Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasnic Sonochemistry*, 8, pp.303-313.
 - Vitale, A. Bernatene, E. Pomillo, A. (2010) Carotenoids in chemoprevention: Lycopene. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 44, 195-238.
 - Waliszewski, K. & Blasco, G. (2010) Propiedades nutracéuticas del licopeno. *Salud Pública México*, 52, 254-265.
 - Xu, Y. (2001). Perspectives on the 21st. century development of functional foods: bringing Chinese medicatet diet and functional foods. *International Journal of food Science and Technology*, 36: 229-242.
 - Yang, B. Y., Jiang, J., Shi, F., Chen, and M. Ashraf. 2011. Extraccion and pharmacological properties of bioactive compounds from longth (Dimocarpus long Lour) fruit review *Food Res.Int.*44:1837-1842.
 - Yokota, A. Kawasaki, S. Iwano, M. Nakamura, C. Miyake, C. Akashi. K. (2002) Citrulline and DRIP-1 protein (ArgE homologue) in drought tolerance of wild watermelon. *Ann Bot (Lond.)*, 89, 825–832.
 - Zhao, Y. Vanhoutte, P.M. Leung, S. (2015) Vascular nitric oxide: beyond eNOS. *J Pharmacol Sci*, 129, 83–94.
 - Zhu, J. Wang, C.G. Xu, Y.G. (2011). Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress. *Pharm Biol*, 49, 1144-1149.