



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“Efecto de nanopartículas de tomillo y
tratamiento con ultrasonido en la
inhibición del oscurecimiento enzimático
de puré de aguacate Hass”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ANDREA PÉREZ MENDOZA

ASESORES:

**DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA
DRA. MARÍA DE LOS ÁNGELES CORNEJO VILLEGAS**

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 2019



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.

AGRADECIMIENTOS

- Al proyecto PAPIIT IN 222520 “Manufactura, evaluación, caracterización y uso de sistemas nanoestructurados en el incremento de vida útil de alimentos” DGAPA-UNAM, por el financiamiento para la realización de este trabajo.
- El Programa Interno de Apoyo a Proyectos de Investigación (PIAPI 2060) de la UNAM: Nanosistemas y otras tecnologías emergentes para la conservación de alimentos, refrigerados y/o congelados.

LUGAR DE REALIZACIÓN DE LA TESIS

Laboratorio de Procesos de Transformación y Tecnologías Emergentes en Alimentos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán – UNAM.

DEDICATORIAS

A **DIOS** y a mi abuelita **Mari** por permitirme disfrutar de esta vida, por ponerme a las personas adecuadas en el camino, siempre estar en mi corazón y darme toda la fuerza necesaria para lograr mis metas.

A mis padres, **Eva Mendoza Madrigal** y **Eduardo Pérez Castañeda** por todo el esfuerzo y sacrificio que hacen día con día para que sea una persona plena, en todos los sentidos. Por apoyarme en mis momentos más difíciles y motivarme a perseguir siempre mis metas y sueños; a no rendirme tan fácilmente. Al amor incondicional que me tienen y que les tengo. Por siempre estar en cada paso que doy y apoyarme en cualquier decisión. Sepan que ustedes son mi motor y mi hogar. Por todo lo que me han enseñado porque sin ello, no sería la mujer realizada y feliz que soy ahora. No saben cuánto les agradezco. Este éxito es de los tres. ¡Los amo!

A mi hermana, **Daniela Pérez Mendoza** por todos los consejos que me das, por siempre creer en mí, ser la mejor hermana mayor que me pudo tocar porque me inspiras a ser mejor persona y a dar siempre lo mejor de mí. Tú también eres mi hogar y agradezco el apoyo que siempre me brindas. ¡Te amo hermana!

A la **Dra. María de la Luz Zambrano Zaragoza**, que me dio la oportunidad de realizar este trabajo y darme el impulso para completarlo. La accesibilidad cuando la necesitaba, por enseñarme y volverme a enseñar y por su paciencia. También a la **Dra. María de los Ángeles Cornejo Villegas** por compartir sus conocimientos, tiempo, consejos y apoyo. ¡Muchísimas gracias Doctoras!

A mis sinodales **I.A. Alfredo Alvarez Cárdenas, M. en C. María Guadalupe Amaya León, I.A. Miriam Edith Fuentes Romero** y al **Dr. Martín Ramón**

Porras Godínez por regalarme siempre unos minutos de su tiempo, aconsejarme con su experiencia y por la dedicación que me brindaron.

A mis maestros a lo largo de la carrera, que siempre compartían su experiencia, conocimientos, por darnos las herramientas y aspiraciones para que fuéramos los mejores ingenieros en alimentos.

A mis amigos **Ale, Fernando, Fidel, Gerardo, Kenia, Brenda, Sara y Bren R.** por sus risas, apoyos académicos y personales, por cada momento que pasamos juntos, mismos que nos ayudaron a crecer. Por las tardes o mañanas de estudio, por brindarme siempre su amistad y por hacer de esta etapa, una etapa inolvidable, siempre los llevaré en mi corazón. ¡Los quiero mucho!

A **CDLP** por acompañarme en cada momento, apoyarme cuando lo necesito, a soñar en grande, por todos los buenos momentos que vivimos y los que vamos a vivir. ¡Los quiero mucho y para siempre!

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** y a la **FES Cuautitlán**, es un honor haber sido alumna de esta máxima casa de estudio que me enseñó todo lo que soy como profesional y me brindó todo lo necesario para poder desarrollarme. Me impulsó siempre a dar lo mejor de mí para poder mejorar al país y al mundo. También por fortalecer mis valores y por conocer a personas increíbles. Nunca olvidaré de dónde vengo y dónde me formé.

ÍNDICE

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

I. ANTECEDENTES

1.1.	Generalidades del aguacate	1
1.1.1.	Definición	1
1.1.2.	Estructura del aguacate	2
1.1.3.	Composición química del aguacate	4
1.1.4.	Tasa de respiración y periodo climatérico	5
1.1.5.	Producción y comercialización del puré de aguacate	7
1.2.	Deterioro del puré de aguacate	10
1.2.1.	Polifenoles	11
1.2.2.	Polifenoloxidasas	13
1.2.3.	Peroxidasas	15
1.2.4.	Ácidos grasos	17
1.3.	Conservación del puré de aguacate	17
1.3.1.	Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos	18
1.3.2.	Ultrasonido	19
1.3.3.	Influencia del ultrasonido en la inactivación de enzimas	21
1.4.	Nanotecnología	22
1.4.1.	Nanopartículas	24
1.4.2.	Nanopartículas de alginato	25
1.4.3.	Aceite esencial de tomillo	27
1.5.	Envasado al vacío	29

II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1.	Objetivos	31
2.2.	Justificación	32
2.3.	Selección de variables	33
2.4.	Análisis estadístico	34
2.5.	Actividades preliminares	34
2.5.1.	Acondicionamiento de la cámara de refrigeración	34
2.5.2.	Selección de la materia prima	35

2.5.3. Selección de polisacárido y antioxidante	35
2.5.4. Determinación de frecuencia del ultrasonido	35
2.5.5. Preparación de las muestras	36
2.6. Actividades experimentales	37
2.6.1. Medición de color	37
2.6.2. pH	38
2.6.3. Aw	38
2.6.4. Pruebas texturales	38
2.6.5. Determinación de fenoles totales	38
2.6.6. Determinación de actividad polifenoloxidasas	39
2.6.7. Determinación de actividad peroxidasas	39
III. ANÁLISIS DE DATOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	
3.1. Resultados actividades preliminares	40
3.1.1. Acondicionamiento de la cámara de refrigeración	40
3.1.2. Selección de polisacáridos y antioxidantes	41
3.1.3. Selección de tiempos del ultrasonido	45
3.2. Resultados experimentales	46
3.2.1. Parámetro a*	46
3.2.2. Luminosidad	48
3.2.3. Delta E	49
3.2.4. Índice de oscurecimiento	51
3.2.5. Cambios en la actividad enzimática polifenoloxidasas	52
3.2.6. Cambios en la actividad enzimática peroxidasas	54
3.2.7. Cambios en la concentración de fenoles totales	56
3.2.8. Firmeza	57
3.2.9. Análisis de perfil de textura	58
3.2.10. Adhesividad	61
3.2.11. Cohesividad	64
3.2.12. pH	63
3.2.13. Actividad de agua (Aw)	65
CONCLUSIONES	67
REFERENCIAS	69

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1	Variedades de aguacate. 2
Figura 2	Partes del fruto de aguacate. 3
Figura 3	Mecanismo de reacción de polifenoloxidasas. 15
Figura 4	Estructura de fenoles. 12
Figura 5	Estructura de epicatequina y ácido caféico. 13
Figura 6	Mecanismo de reacción de polifenoloxidasas. 15
Figura 7	Representación esquemática de la técnica de emulsificación-gelificación interna utilizando alginato. 26
Figura 8	Acondicionamiento de la cámara de refrigeración. 34
Figura 9	Empleo del ultrasonido en puré de aguacate. 36
Figura 10	Preparación de puré de aguacate 37
Figura 11	Variación de la temperatura del espacio refrigerado. 40
Figura 12	Variación de la humedad relativa del espacio refrigerado. 41
Figura 13	Cambios en el índice de oscurecimiento con aceite esencial de tomillo aplicados al puré de aguacate. 42
Figura 14	Cambios en el índice de oscurecimiento con quitosán y α -tocoferol aplicados al puré de aguacate. 43
Figura 15	Cambios en el índice de oscurecimiento con alginato aplicados al puré de aguacate. 44
Figura 16	Cambios en el índice de oscurecimiento con ultrasonido a diferentes tiempos de sonicación. 45
Figura 17	Cambios en el parámetro a^* con diferentes tratamientos durante el almacenamiento. 46
Figura 18	Gráfica de color CIEL a^*b^* 47
Figura 19	Cambios en la luminosidad con diferentes tratamientos durante el almacenamiento. 49
Figura 20	Cambios en ΔE con diferentes tratamientos durante el almacenamiento. 50
Figura 21	Cambios en el índice de oscurecimiento con diferentes tratamientos durante el almacenamiento. 52
Figura 22	Cambios en la actividad polifenoloxidasas durante el almacenamiento. 53

Figura 23	Cambios en la actividad peroxidasa durante el almacenamiento.	55
Figura 24	Cambios en la concentración de fenoles totales durante el almacenamiento.	57
Figura 25	Cambios en firmeza con diferentes tratamientos durante el almacenamiento.	58
Figura 26	Cambios en la dureza correspondiente al primer ciclo en el ATP durante el almacenamiento.	59
Figura 27	Cambios en la dureza correspondiente al primer ciclo en el ATP durante el almacenamiento.	60
Figura 28	Cambios de adhesividad del puré de aguacate durante el almacenamiento.	61
Figura 29	Cambios en la cohesividad del puré de aguacate durante el almacenamiento.	63

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1 Composición química del aguacate variedad Hass.	5
Tabla 2 Producción de aguacate en México, 2019-2020.	9
Tabla 3 Factores y niveles de variación en el diseño experimental	33
Tabla 4 Cambios en el pH respecto al tratamiento y tiempo de almacenamiento.	64
Tabla 5 Cambios en la actividad de agua respecto al tratamiento y tiempo de almacenamiento.	65

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del aceite esencial de tomillo, alginato de sodio nanoparticulado e infiltrado por ultrasonido sobre la inhibición del oscurecimiento enzimático de puré de aguacate Hass estabilizado por 7 días a 2 °C al vacío, estableciendo el tratamiento más efectivo.

El puré pre-tratado fue muestreado en los días 1, 3 y 7 determinándose los cambios en indicadores de inactivación enzimática: color, actividad de agua, firmeza, análisis de perfil de textura, pH, concentración de fenoles y la actividad enzimática peroxidasa y polifenoloxidasas. Se analizaron 13 lotes: ultrasonido, alginato de sodio, aceite esencial de tomillo, ultrasonido-alginato, aceite de tomillo-alginato, aceite de tomillo-alginato-ultrasonido, aceite de tomillo-ultrasonido, nanopartículas a base de alginato; nanopartículas de alginato funcionalizadas con aceite esencial de tomillo, ultrasonido-nanopartículas a base de alginato, ultrasonido-nanopartículas de tomillo, nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido y el control. Los resultados obtenidos demostraron que las muestras tratadas con nanopartículas de aceite esencial de tomillo-ultrasonido-alginato de sodio, inhibieron el oscurecimiento enzimático de la enzima polifenoloxidasas de 3,000 U/mL a 2,000 U/mL y peroxidasa de 1,000 U/mL a 900 U/mL. En cuanto a los fenoles totales, cuatro lotes mantuvieron 1mgEAG/g de concentración de fenoles en el aguacate: nanopartículas de alginato de sodio, alginato de sodio, nanopartículas de alginato-ultrasónico y nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido. Los resultados indicaron que la aplicación de nanopartículas de aceite esencial de tomillo y ultrasonido, no disminuye significativamente ($<0,05$) la pérdida de firmeza evitando grandes modificaciones del pH, manteniendo así la calidad del aguacate. La actividad de agua no presentó ningún cambio significativo.

INTRODUCCIÓN

El aguacate (*Persea americana* var “Hass”) es una fruta tropical de alto valor comercial. La demanda del consumo a nivel mundial ha aumentado para el aguacate y los productos derivados de éste, ya que se reconoce como una buena fuente de ácidos grasos no saturados, fibra, vitaminas B y E, y otros nutrientes (Zhou et al., 2016).

En los últimos años, el incremento de los consumidores por alimentos con alta calidad y productos mínimamente procesados que no sólo sean convenientes, sino que también tengan un aspecto fresco, una textura no muy diferente a la del producto y libre de aditivos artificiales hace de los métodos de conservación una herramienta útil en la comercialización del aguacate (Woolf et al., 2013). La manera más utilizada de conservación del aguacate es la refrigeración o congelación; sin embargo, el fruto es susceptible al oscurecimiento enzimático y estos métodos no inhiben la actividad enzimática, además el producto presenta pérdida en sus propiedades como en la textura (Olaeta, 2003).

Las reacciones enzimáticas son relevantes en los alimentos porque producen compuestos altamente deseables pero también, algunos compuestos indeseables pueden derivar de ellos (Vanini et al., 2010). Cuando el aguacate se transforma en pasta o puré, el tejido presenta una rotura parcial y libera contenido celular, incluidas la polifenol oxidasa (PFO), peroxidasa (POD) y sus sustratos (compuestos fenólicos) causando la formación de pigmentos marrones. Tales reacciones ocurren en los alimentos durante las etapas de maduración, procesamiento y almacenamiento. Por lo tanto, la calidad del puré se deteriora y con ello la inactivación de la enzima se vuelve esencial para mantener la calidad (Velázquez y Hernández, 2010).

Las variaciones en la calidad del aguacate al ser procesadas pueden evitarse mediante tratamientos previos, puesto que es necesario que la industria alimentaria asegure un estado fresco al consumidor. Existen tecnologías emergentes; como el ultrasonido y la nanotecnología, que surgieron como una alternativa de conservación y procesamiento de alimentos, las cuales no modifican al alimento, manteniendo la composición nutrimental, así como las propiedades físicas y fisicoquímicas de este.

La nanotecnología, se ha convertido en una de las tecnologías más prometedoras para revolucionar la ciencia de los alimentos convencionales y la industria alimentaria. El procesamiento y envasado activo con sistemas nanoestructurados ha demostrado la importancia de ésta en los sistemas alimentarios. Dependiendo del método de preparación las nanopartículas tienen diferentes propiedades físicas, se les pueden incorporar diferentes extractos de plantas, lípidos, aceites esenciales, vitaminas, probióticos, enzimas (Aguilar-Méndez et al., 2008).

Los aceites esenciales, como el de tomillo, son extraídos de diferentes partes de plantas, y se usan como aditivos naturales en alimentos para reducir la proliferación de microorganismos y la producción de toxinas debido a su actividad antifúngica, antiviral, antibacteriana y antioxidante. Una manera de preservar las propiedades de éstos compuestos volátiles es la encapsulación (Bill et al., 2014). Este proceso mantiene las cualidades de los aceites esenciales. Las nanopartículas permiten una mayor penetración en las superficies y pueden ser biocompatibles con tejidos y células cuando se sintetizan con materiales que son biodegradables (Mora-Huertas et al., 2010).

A su vez, el ultrasonido también se considera como una tecnología emergente aplicada en la industria de alimentos que reduce la pérdida de calidad causada por tratamientos térmicos en el procesamiento y conservación de los alimentos, y es debido a la cavitación que genera efectos positivos en los cambios físicos, químicos y bioquímicos del alimento. Se ha demostrado que el ultrasonido aplicado al puré de aguacate inactiva enzimas, especialmente la polifenoloxidasa (Bi et al., 2015).

No obstante, el método de conservación más utilizado para el puré de aguacate es la refrigeración. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, es susceptible al oscurecimiento enzimático y no inhibe la actividad enzimática en el puré de aguacate. Por ello, las tecnologías emergentes junto con la refrigeración son una manera de maximizar la eficacia en la inhibición de la actividad enzimática, manteniendo la calidad y propiedades del alimento.

La actividad enzimática en el aguacate se evalúa con base en pruebas espectrofotométricas de polifenoloxidasas, peroxidasa y fenoles totales; estos dependen de la cantidad presente en el fruto. Dichos atributos están directamente relacionados con el índice de oscurecimiento y propiedades fisicoquímicas del puré de aguacate, tales como pH y la actividad de agua, los cuáles son indicativos de la vida útil. Por lo tanto, en este trabajo se evaluó el efecto de nanopartículas de aceite esencial de tomillo, el tratamiento ultrasónico, alginato de sodio nanoparticulado e infiltrado sobre la inhibición del oscurecimiento enzimático de puré de aguacate Hass estabilizado por 7 días a 2°C al vacío, estableciendo el tratamiento más efectivo.

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. Características del aguacate

1.1.1. Definición

El aguacate es nativo de América, su nombre se deriva del náhuatl “ahuacacuáhuatl” que significa árbol de los testículos donde “ahuacatl” significa testículo y “cuáhuatl” árbol. Su nombre científico es *Persea americana* y pertenece a la familia vegetal de las Lauráceas, la cual cuenta con más de 50 géneros, entre los que destaca *Persea*. Las especies de valor comercial del género *Persea* se encuentran en tres grandes razas que son la Mexicana, la Guatemalteca y la Antillana. Se diferencian en la altura de planta, en la forma y tamaño del fruto, color de follaje y adaptación a diferentes condiciones climáticas y de suelo (Moreno et al., 2010).

En la época colonial los españoles introdujeron el aguacate a otros países americanos y a Europa. A finales del siglo XIX y principios del XX el consumo de aguacate estuvo basado en la producción de plantas de las razas mexicanas y antillana. Posteriormente con la adopción de técnicas de propagación como el injerto y con el descubrimiento del aguacate “Fuerte” comenzó el establecimiento de las primeras huertas. En las décadas de los 50, 60 y 70's comienza el cultivo de las variedades Hass, Fuerte, Bacon, Pinkerton, Zutano y criollos raza mexicana que se presentan en la Figura 1 (Olvera, 2013).

Se han realizado varios estudios sobre la morfología y anatomía del desarrollo de la fruta de aguacate, que puede durar de seis a más de 12 meses dependiendo del cultivar y las condiciones de cultivo (Schaffer et al., 2013).

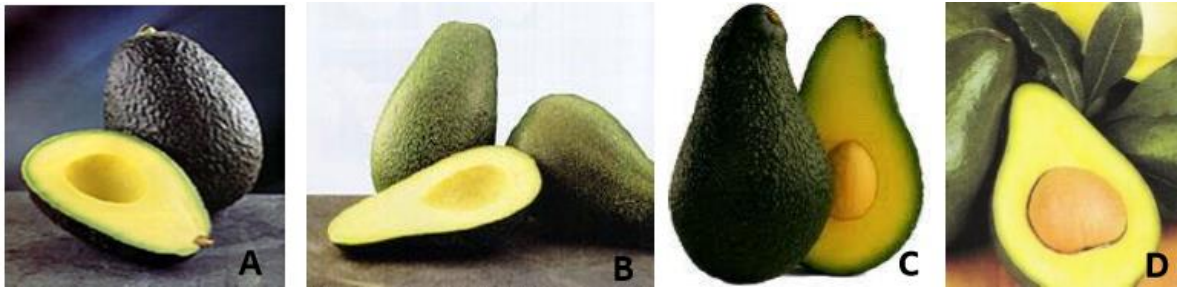


Figura 1. Variedades de aguacate (a) Aguacate Hass (b) Aguacate Fuerte (c) Aguacate Pinkerton y (d) Aguacate Bacon (Olvera, 2013).

La revisión sobre el desarrollo y maduración de la fruta de aguacate se centra principalmente en la fisiología de maduración, y que se ocupa principalmente de los aspectos bioquímicos del crecimiento de la fruta. La curva de crecimiento del fruto es sigmoideal cuando se mide por aumento de masa o volumen, aunque el crecimiento puede ralentizarse en invierno y reanudarse en primavera en climas fríos. En cuanto a la fruta carnosa, la mayoría de la división celular ocurre al principio de la vida del fruto, y el agrandamiento celular sigue, siempre y cuando el fruto se mantenga en el árbol (Schaffer et al., 2013). El aguacate maduro es una fruta extravagante en el mundo actual. Es grande, con una pulpa aceitosa, energéticamente rico y altamente nutritiva, que envuelve una semilla aparentemente innecesariamente grande, incomible, amarga y ligeramente venenosa, llena de reservas de almacenamiento y lista para germinar (Schaffer et al., 2013).

1.1.2. Estructura del aguacate

El aguacate (*Persea americana*), es una baya con mesocarpio y endocarpio carnosos que contiene una sola semilla representando del 15 al 16% del peso del fruto (García et al., 2000). En el aguacate el pericarpio está formado de tres capas: el exocarpo que comprende la cáscara, el mesocarpio pulposo que es la porción comestible de la fruta, y una capa interna delgada junto a la cubierta de la semilla que corresponde al endocarpio junto a la cubierta seminal (Barrientos et al., 2013), en la Figura 2 se pueden observar las partes mencionadas.

El exocarpo está formado de tejidos epidérmicos y es la capa que es removida cuando el fruto se pela, puede ser rugoso e irregular o completamente liso. Dicha irregularidad en los frutos es influida fuertemente por el ambiente: bajo condiciones de clima más fresco se pierde a cierto nivel esta rugosidad y en climas más cálidos es más rugoso el exocarpo. El grosor del exocarpo en las tres razas de aguacate es de la siguiente manera: raza Guatemalteca >raza Antillana>raza Mexicana (Barrientos et al., 2013).

La pulpa de todos los cultivares de aguacate exhibe una estructura celular de considerable uniformidad. El endocarpo del aguacate consiste en una capa frágil que es difícil de identificar en el fruto maduro, ya que este tejido está fuertemente asociado con la envoltura de la semilla (Barrientos et al., 2013).

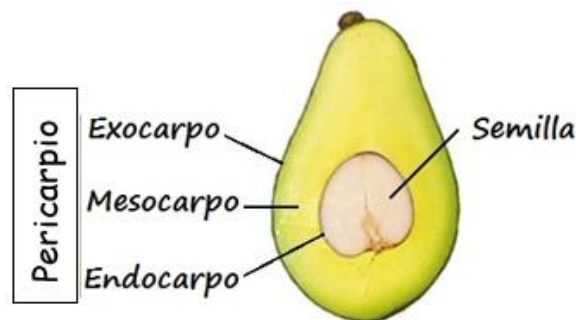


Figura 2. Partes del fruto de aguacate (Cummings y Schroeder, 2013).

En la antigüedad el aguacate se consumía fresco, ya que se suponía que era un alimento rico en energía. Es lógico que los primeros nativos americanos se hubieran sentido atraídos por este fruto debido a la composición que presenta, diferente a cualquier otra fruta, ya que contiene aceites, así como dos o tres veces más proteína. Es imposible saber en qué momento los aguacates pasaron de ser una fruta comida fresca a también un ingrediente en salsas, como puré y untado en tortillas de maíz. Se cree que ambos usos son de origen precolombino. Los primeros relatos españoles

incluyen referencias a su disfrute tanto endulzada con azúcar como un platillo dulce así como salado con sal y/o pimienta (Schaffer et al., 2013).

1.1.3. Composición química del aguacate

El aguacate es una fruta tropical de gran importancia económica, rica en vitaminas A y B, minerales y antioxidantes. También es una fuente de compuestos beneficiosos como carotenoides, fitoesteroles y tocoferoles. La fracción lipídica de la fruta de aguacate comprende aproximadamente 71% ácidos grasos mono-insaturados y 16% ácidos grasos saturados, este porcentaje depende de la variedad y estado de madurez (Cowan y Wolstenholve, 2016). Esta proporción ayuda a que los perfiles sanguíneos sean saludables en los consumidores, y aumenta la biodisponibilidad de las vitaminas solubles en grasa presentes en el propio aguacate. De acuerdo con Schaffer et al (2013) en la Tabla 1 se observa la composición química aproximada del puré de aguacate.

Los ácidos grasos insaturados no promueven la formación de colesterol y pueden ser una forma de la movilidad de las vitaminas liposolubles, ya que al contener compuestos lipofílicos bioactivos tienen actividad antioxidante y antiradicalaria (Villa et al., 2010). Otras cualidades que tiene el aguacate es que contiene altos valores de proteína para un fruto fresco, así como niveles altos en potasio por encima de otros frutos como el plátano y altos niveles de antioxidantes, como se mencionó anteriormente (Schaffer et al., 2013). Estudios de investigación sugieren que el consumo de aguacate reduce los riesgos de enfermedades cardiovasculares y ayuda en el control de peso y el envejecimiento saludable (Vargas et al., 2017).

El procesamiento post-cosecha del aguacate es complejo en comparación con otras frutas e implica un manejo adecuado de las frutas en la etapa correcta de madurez, embalaje específico, atmósferas y temperaturas de almacenamiento, distancia y tiempo de transporte, y manejo de plagas entre otros factores (Vargas et al., 2017).

Tabla 1. Composición química del aguacate variedad Hass (Schaffer et al., 2013).

Composición detallada de 100g de porción comestible	
Energía (kcal)	171
Agua (g)	73.6
Lípidos (g)	17
Carbohidratos totales (g)	6
Proteína (g)	2.2
Fibra (g)	1.5
Minerales (mg)	
Potasio	604
Fósforo	42
Calcio	10
Sodio	4
Hierro	0.6
Vitaminas (mg)	
Vitamina A	290
Ácido ascórbico	14
Niacina	1.6
Vitamina E	1.3
Vitamina B6	0.53
Ácido fólico	0.3
Riboflavina	0.2
Tiamina	0.1

El manejo inapropiado de la post-cosecha conduce a daños físicos y/o trastornos fisiológicos que degradan la calidad nutricional y comercial de los frutos (Vargas et al., 2017). Por ello, el manejo y conocimiento de la tasa de respiración del aguacate para poder procesarlo es de suma importancia.

1.1.4. Tasa de respiración y periodo climatérico

Una vez considerado como un fenómeno senescente, la maduración de la fruta se considera ahora como un proceso coordinado y genéticamente determinado de diferenciación de los tejidos. La maduración de la fruta es un proceso fisiológico crucial para las plantas, ya que representa la etapa terminal de desarrollo en la que se liberan las semillas maduras (Braverman, 2008). Por lo tanto, es el mecanismo responsable de las modificaciones en la bioquímica, fisiología y estructura del órgano de

maduración que se alteran en el desarrollo para influir en la apariencia, textura, sabor y aroma, que tienen el objetivo evolutivo de hacer que la fruta sea atractiva y apetecible, para atraer a una variedad de organismos dispersantes de semillas. Para cumplir con este papel reproductivo, las frutas maduras experimentan muchas modificaciones fisiológicas y bioquímicas que incluyen la conversión de almidón en azúcares, alteraciones en la biosíntesis y acumulación de pigmentos, biosíntesis de sabor y aromas volátiles y cambios en la estructura de la pared celular, metabolismo que se cree que resulta en la pérdida de firmeza de la pulpa (Goulao y Oliveira, 2008).

Desde el punto de vista hortícola y comercial, la maduración confiere atributos positivos y negativos a la fruta. La maduración afecta a diversas características nutricionales y de calidad, como el contenido y la composición de las fibras, el metabolismo de los lípidos y el nivel de varias vitaminas y antioxidantes. La maduración también confiere un sabor y un color deseables, pero los cambios en la firmeza de la fruta aumentan su susceptibilidad al ataque de patógenos y, en las últimas etapas de maduración o después de largos períodos de almacenamiento, confiere una textura indeseable a la percepción del consumidor (Cheftel y Cheftel, 2016). Estos aspectos son los principales contribuyentes a la pérdida de fruta en el período post-cosecha y tienen una importancia comercial y económica significativa. De hecho, el ablandamiento excesivo de las frutas es el principal factor responsable de las limitaciones de la vida útil, el transporte y el almacenamiento, de una mayor incidencia de daños físicos durante la manipulación y de una mayor susceptibilidad a plagas y enfermedades (Olivares, 2015). La firmeza y textura de la fruta también afectan la integridad de las frutas procesadas. Desde el punto de vista del consumidor, la textura es el principal atributo de calidad para la aceptación en el mercado. En la mayoría de los frutos, la calidad textural es generalmente más importante que las propiedades aromáticas y aunque los consumidores en diferentes países pueden tener preferencia diferente por los diversos atributos de calidad, existe una necesidad universal de producir frutos firmes, que están libres de trastornos fisiológicos y descomposición (Goulao y Oliveira, 2008).

El aguacate es una fruta de alta tasa metabólica, completando su maduración dentro de 5 a 7 días a 25°C, después de la cosecha. A diferencia de muchas otras frutas, la madurez del aguacate no ocurre en el árbol, sino que tiene lugar varios días después de la cosecha. Los cambios organolépticos propios de la maduración en los frutos climatéricos están relacionados con la tasa respiratoria mitocondrial del fruto y la síntesis de etileno (Herrera et al, 2017). El proceso de maduración post-cosecha, también llamado periodo climatérico, está relacionado con la cantidad de etileno circundante y endógeno, que aumentan la tasa de respiración (Cheftel y Cheftel, 2016). Durante este proceso, el aguacate sufre muchos cambios fisiológicos y bioquímicos, incluyendo biosíntesis y acumulación de pigmentos, vitaminas lipídicas, antioxidantes entre otros. En cuanto al aguacate Hass, Villa-Rodríguez et al, (2011) reporta que la maduración modifica el color de la piel de verde a púrpura/negro, debido a la acumulación de antocianinas.

De acuerdo con Ornelas y Yahia (2004), el aguacate es económicamente importante en México debido a su alta producción, consumo, comercialización nacional e internacional. México es el mayor productor de aguacate del mundo, y su producción se concentra en regiones distantes del consumidor final, lo que implica un manejo excesivo de la fruta para su distribución y venta, un proceso durante el cual la fruta puede madurar fácilmente, ya que, como lo mencionamos, el proceso de maduración de la fruta de aguacate está fuertemente ligado a un aumento de su intensidad respiratoria, que se ve fuertemente afectada por la temperatura y la concentración de etileno.

1.1.5. Producción y comercialización del puré de aguacate

El aguacate es una fruta tropical originaria de México. La mayoría de los aguacates disponibles en todo el mundo son los aguacates Hass. Aunque el aguacate se produce y se consume en gran medida en México, al menos otros diez países han estado produciendo un alto rendimiento de aguacate anualmente, incluyendo Chile, República Dominicana e Indonesia (Nurul et al., 2016).

Como se observa en la Figura 3, México es el principal productor y exportador de aguacate en el mundo (CIMA, 2019). En Enero de 2020, ocupó el primer lugar dentro de los productos agrícolas exportados, que dejó mayores ingresos al país y en la última década, la superficie sembrada promedio de aguacate nacional, fue de 241 mil 140 hectáreas, de las cuales se han cosechado 164 mil 346; 15 mil 161 más (10.2%) y una producción de 206 mil 466 toneladas (SADER, 2020).

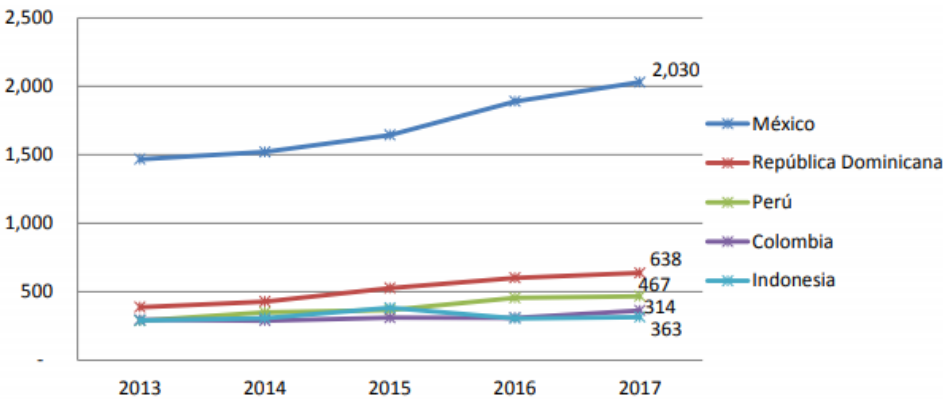


Figura 3. Producción mundial de aguacate 2013-2017. CIMA, (2019).

En 2017, México fue el principal exportador mundial de aguacate, participando con 44% del volumen mundial exportable y dadas a sus condiciones climáticas, México dispone de aguacate durante todo el año, acentuando su producción en el periodo de septiembre a diciembre y la producción difiere en los meses de mayo a agosto (CIMA, 2019). En la Tabla 2 se muestra la producción nacional de aguacate, liderada por Michoacán (94.6%) y Jalisco (4.7%).

En los últimos años, el desarrollo de la industria del aguacate en México se ha incrementado notablemente aunque la industria aguacatera es muy pequeña, hay grandes oportunidades de desarrollo, sobre todo con la diversificación de mercados y presentación final del producto, es decir no limitarse únicamente a la venta de producto

en fresco, si no también enfocar esfuerzos a la comercialización de productos procesados (Sánchez et al., 2017).

Tabla 2. Producción de aguacate en México, 2019-2020. SADER, (2020).

Estado	2019	2020	Variación		Part. % 2020
			Absoluta	%	
Nacional	205, 439	206,466	1.027	0.5	100.0
Michoacán	195, 042	195,366	324	0.2	94.6
Jalisco	8, 157	9,759	1,602	19.6	4.7
Oaxaca	752	848	96	12.8	0.4
Guerrero	378	420	42	11.1	0.2
Chiapas	0	57	57	NA	0.03
Guanajuato	100	16	-84	-84.0	0.01
Veracruz	305	0	-305	-100.0	0.0
Yucatán	706	0	-706	-100.0	0.0

La exportación en fresco a los Estados Unidos está creciendo en forma importante, al ampliarse las regiones exportadoras autorizadas e incrementarse los estados de ese país a los que se permite su importación. La exportación en fresco más la requerida para la producción de productos procesados de exportación (230,000 ton), representan un volumen de alrededor del 25 % de la producción nacional (Salazar et al., 2004).

México exportó 78 mil 863 toneladas de puré en 2018, lo que le dejó ingresos por 285 millones 607 mil dólares, informó el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). Estados Unidos es el único destino de las exportaciones mexicanas de la salsa que combina 90 por ciento de pulpa del fruto verde. El SIAP detalló en un documento que la venta de la emblemática salsa mexicana ha tenido un incremento de 104.6 por ciento desde 2013 y hasta 2018, al pasar de 38 mil 545 toneladas a 78 mil 863 toneladas (SADER, 2020).

Sin embargo, los productos congelados de aguacate, pueden ser almacenados por 8-10 meses, sin embargo su calidad comienza a decrecer después de los 3 meses de almacenaje. En todos estos productos cobra especial importancia el control del

oscurecimiento enzimático, el cual debe realizarse utilizando métodos que conserven al producto, ya que el uso de altas temperaturas afecta la calidad de la pulpa (Olaeta, 2003).

1.2. Deterioro en el puré de aguacate

Es frecuente observar, principalmente durante la conservación y el transcurso de las transformaciones tecnológicas fenómenos de oscurecimiento en los órganos vegetales carnosos (frutos y hortalizas). La aparición de pigmentos pardos, cuyo color acaba superponiéndose a los colores naturales, ocasiona importantes modificaciones de las cualidades organolépticas, generalmente con una depreciación de los órganos vegetales y de los productos que de ellos se deriva. Estos oscurecimientos son generalmente de origen enzimático, por lo que es muy importante conocer los mecanismos que intervienen para poder controlar su aparición (Tirilly y Bourergeois, 2001).

También existe una degradación oxidativa de compuestos fenólicos, participando dos enzimas que son muy relevantes en términos de calidad de frutos y vegetales, por la formación de melaninas que oscurecen los frutos. Estas enzimas son la polifenoloxidasas y la peroxidasa. A pesar de que las peroxidasas están ampliamente distribuidas en el reino vegetal, su papel en el oscurecimiento enzimático de frutos y vegetales esta todavía bajo discusión, debido a que el nivel de H_2O_2 interno en las plantas limita la actividad peroxidasa. Se ha propuesto que la polifenoloxidasas puede actuar como promotor de la peroxidasa puesto que en las reacciones de oxidación de compuestos fenólicos se genera H_2O_2 . El estado antioxidante de diferentes frutos y vegetales puede decrecer por la oxidación directa de estos en presencia de polifenoloxidasas y peroxidasas. Sin embargo, la principal enzima responsable del oscurecimiento enzimático es la polifenoloxidasas, aunque no debe ser excluido un posible efecto sinérgico entre polifenoloxidasas y peroxidasa (Morante et al., 2014).

Una de las problemáticas primordiales en la industrialización del aguacate es el deterioro que se manifiesta en un rápido oscurecimiento durante el procesamiento y

almacenamiento, fenómeno de oxidación bioquímica catalizada por enzimas específicas que están presentes en la misma pulpa (Amaya et al., 2008).

Los aspectos de mayor importancia del aguacate para su consideración son: el contenido de grasa, el tiempo de oscurecimiento y el porcentaje de pulpa o cantidad relativa al peso de la fruta que es aprovechable. El oscurecimiento que se observa en el puré de aguacate es el resultado de la oxidación de los fenoles, que se producen al estar en contacto con el aire, pero también en este deterioro se puede presentar el resultado de la reacción catalizada por la polifenoloxidasas y peroxidasa (Dorantes, 2000).

1.2.1. Polifenoles

Los polifenoles o compuestos fenólicos, son sustancias naturales que contribuyen a las propiedades sensoriales (color, sabor, aroma y textura) asociadas con la calidad de la fruta. La composición fenólica de los frutos está determinada por factores genéticos y ambientales, pero puede ser modificada por reacciones oxidativas. Se sintetizan durante el desarrollo de la planta, pero su síntesis se estimula en condiciones de estrés; cuando son expuestas a la radiación ultravioleta, daños fisiológicos por patógenos o algún otro tipo de estrés (biótico o abiótico), por la activación de la fenilalanina amonio liasa. Por lo tanto, estos compuestos juegan un papel en la defensa y los mecanismos de adaptación de las plantas (Valente y Queiros, 2013).

La composición de fenoles representa un grupo de metabolitos secundarios presentes en los tejidos vegetales, varía considerablemente según la especie de que se trate, grado de madurez de los frutos y manejo post-cosecha de los mismos. Además, para una misma especie el contenido de fenoles es dependiente de la variedad. En algunos frutos los niveles de fenoles aumentan a lo largo del desarrollo, alcanzándose los niveles más altos durante la recolección, mientras que para diferentes variedades el contenido de fenoles decrece hasta alcanzar el mínimo en el momento del cambio de color del fruto y después aumenta progresivamente alcanzando el máximo en la

recolección. Sin embargo, las fluctuaciones en los niveles de fenoles suelen ser pequeños durante la maduración independientemente de algunas variedades (Morante et al., 2014).

Los polifenoles estructuralmente contienen un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos sustituyentes que pueden variar desde moléculas simples hasta grandes compuestos polimerizados (Figura 4). Según su estructura, se clasifican en: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos y taninos (hidrolizables y condensados) (Salmerón, 2014).

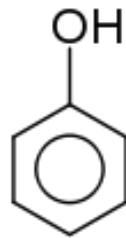


Figura 4. Estructura de fenoles (Salmerón, 2014).

Estudios de Golukcu y Ozdemir (2010), muestran que los principales compuestos fenólicos determinados en porciones comestibles frescas de frutas de aguacate fueron (–)-epicatequina, Figura 5 a), y rutina; como flavonoides y ácido caféico, Figura 5 b), y ácido protocatecuico; como ácidos fenólicos. Sin embargo, (–)-epicatequina fue el compuesto fenólico más abundante presente en puré de aguacate Hass (225,29 mg/kg) seguido por ácido caféico (16.25mg/kg).

En frutas como los aguacates, los compuestos fenólicos contribuyen a la formación de un color marrón, que se manifiesta después de que estos frutos se cortan o se almacenan durante mucho tiempo.

El parámetro de calidad más importante de la fruta y los productos de aguacate (puré) es el color. El color del producto cambia según la actividad enzimática y el contenido

fenólico de la fruta. Con la oxidación enzimática de los compuestos fenólicos catalizados por la enzima polifenoleoxidasa, con el tiempo se convierten en quinonas, una estructura polimerizada responsable del color marrón (Golukcu y Ozdemir, 2010).

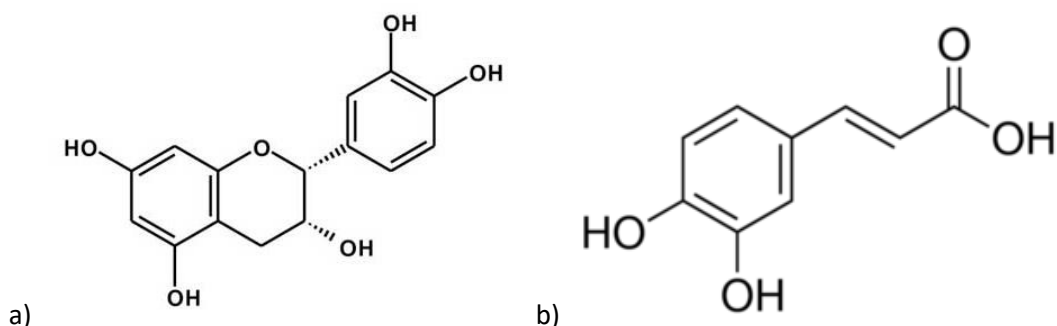


Figura 5 Estructura de epicatequina a) y ácido caféico b) (Golukcu y Ozdemir, 2010).

1.2.2. Polifenoloxidasa

La apariencia es el factor principal que determina la aceptación o rechazo de un alimento. Es por esta razón que uno de los principales propósitos y dificultades en la industria de alimentos es mantener el color durante el procesamiento y almacenamiento. Las reacciones de oscurecimiento enzimático en frutas y vegetales impresionan negativamente a los consumidores debido a la asociación que hacen entre el color y su calidad nutricional. El color de un alimento es un indicador de calidad. Una alteración que se manifiesta con el cambio de color, sabor e incluso pérdida nutricional es la que se conoce como oscurecimiento enzimático, reacción catalizada por la enzima polifenoloxidasa (Restrepo, 2012).

Valente y Queiroz (2013), describen que el oscurecimiento enzimático es un fenómeno que ocurre en muchas frutas y verduras, ricos en compuestos fenólicos; como papas, champiñones, manzanas, plátanos y aguacates. Cuando el tejido está magullado, cortado, pelado, o expuesto a cualquier condición anormal, se oscurece rápidamente

al exponerse al aire como resultado de la conversión de compuestos fenólicos en melaninas marrones.

Las polifenoloxidasas son metaloenzimas ampliamente distribuidas en la escala filogenética, encontrándose tanto en organismos procariotas como en eucariotas. Se trata de una enzima detectada en bacterias, hongos en algunos artrópodos, mamíferos y probablemente esté presente en todas las plantas (Morante et al., 2014). El control natural de la actividad de la polifenoloxidasa es mediante la compactación de sustratos. La enzima se encuentra en los plástidos y cloroplastos (en los vegetales superiores) y también en el citoplasma celular, mientras que los compuestos fenólicos que pueden servir de sustratos, para esta enzima, se acumulan en vesículas. Cuando se rompe la compactación por daño mecánico como pelado, corte, congelación y descongelación, se puede producir una reacción de oscurecimiento (Aranda, 2016).

El mecanismo de reacción de la polifenoloxidasa (Figura 6) se basa en la catálisis de dos etapas: oxidación de un monofenol a o-difenol y la subsiguiente oxidación de éste a o-quinona, actividad cresolasa y catecolasa respectivamente. Siguiendo un mecanismo ordenado, la enzima liga primero el oxígeno y después el monofenol. Se produce un cambio de valencia de los iones de cobre de Cu^{1+} a Cu^{2+} formándose un complejo que tiene un enlace O-O bien polarizado donde se produce la hidroxilación a o-difenilo. La oxidación del o-difenol a o-quinona finaliza el ciclo. La polifenol oxidasa es capaz de catalizar reacciones de oxidación de compuestos polifenólicos en presencia de oxígeno molecular y la presencia de los compuestos oxidados por la enzima son precursores de las reacciones de pardeamiento que ocurren en los procesos de pos-recolección y manipulación de frutas y hortalizas (Guerrero, 2009).

La inactivación de la polifenoloxidasa es necesaria para minimizar las pérdidas de producto causadas por el oscurecimiento. La investigación sobre la inactivación de la polifenoloxidasa en aguacate se ha realizado con varios métodos y tecnologías. Por lo general, se aplica el tratamiento térmico y la adición de agentes que evitan el oscurecimiento, pero varios investigadores han propuesto la aplicación de otros

métodos como alternativas al procesamiento térmico para la inactivación de esta enzima (Valente y Queiroz, 2013).

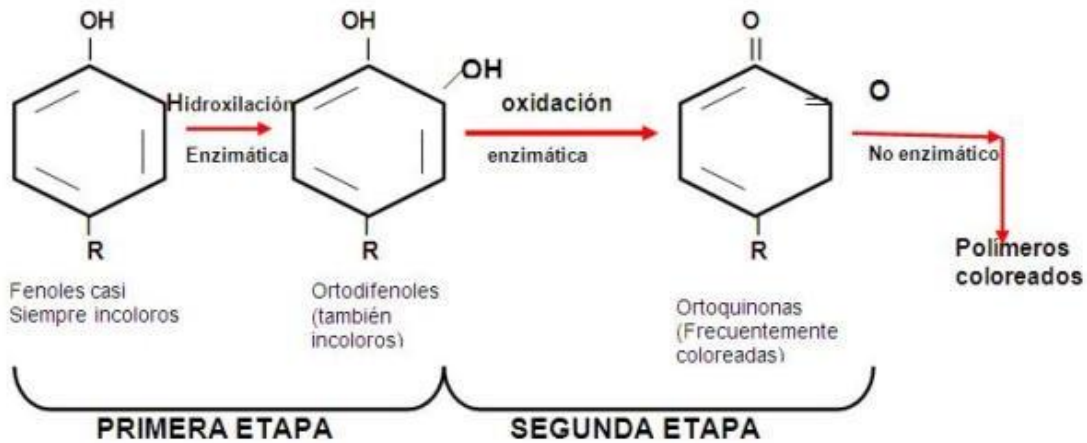


Figura 6. Mecanismo de reacción de polifenoloxidasas (Guerrero, 2009).

Los inhibidores de la actividad de la polifenoloxidasas pueden basarse en su modo de acción, por ejemplo, la exclusión de reactivos como el oxígeno, la desnaturalización de la proteína enzimática, la interacción con el grupo prostético de cobre y la interacción con sustratos fenólicos o quinonas (Valente y Queiroz, 2013). No obstante, el reto de comercializar el aguacate en forma procesada es difícil, ya que en la pulpa del aguacate no sólo se encuentra la enzima polifenoloxidasas sino que también es portadora de otra enzima llamada peroxidasa, que tiene reacciones de degradación por acción de esta enzima.

1.2.3. Peroxidasa

Las peroxidasas son enzimas hemoprotéicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal y se pueden encontrar en vacuolas, en la membrana celular, dentro y fuera de

la pared celular. Están involucrados en la regulación de la hormona vegetal, mecanismos de defensa, control del alargamiento celular, polimerización de extensión, enlaces de polisacáridos en la pared celular, biosíntesis de lignina y procesos de suberización. Contribuyen a cambios deteriorantes en el sabor, la textura, el color y el valor nutricional, tanto en alimentos crudos como frutas y verduras como en productos procesados. En la industria alimentaria, las peroxidasas han sido consideradas una de las enzimas más estables al calor en las plantas, y con un tratamiento térmico limitado pueden recuperar la actividad durante el almacenamiento, lo que resulta en la pérdida de sabor o el desarrollo de este. Las peroxidasas vegetales pueden catalizar el acoplamiento oxidativo de compuestos fenólicos utilizando H_2O_2 o peróxido de hidrógeno como agente oxidante. Las peroxidasas vegetales, en general, muestran una especificidad de sustrato muy amplia y, además, producen productos altamente reactivos, que posteriormente pueden participar en acciones no enzimáticas (Rojas et al., 2013). Al catalizar la oxidación de un compuesto, las peroxidasas utilizan peróxidos en una reacción de reducción-oxidación que une hidrógeno al compuesto y forma agua como un subproducto (Lisa, 2020).

El proceso catalítico de las peroxidasas ocurre a través de pasos secuenciales que comienzan con la interacción entre el sitio activo de la enzima y peróxido de hidrógeno, lo que oxida el átomo de hierro en el grupo hemo y genera un compuesto intermediario inestable conocido como compuesto I (CoI). La proteína oxidada (CoI) tiene, entonces, un grupo hemo con un átomo de hierro que pasó del estado de oxidación III al estado IV y para este proceso se redujo el peróxido de hidrógeno a agua. El compuesto I es capaz de oxidar a un sustrato donador de electrones, formando un radical de sustrato y convirtiéndose en una nueva especie química conocida como el compuesto II (CoII), que es posteriormente reducido por una segunda molécula de sustrato, regenerando el hierro en estado III y produciendo otro radical (Parada, 2019).

Debido a la gran importancia económica que el puré de aguacate tiene para México, la industria alimentaria está mostrando un notable interés en procesar este cultivo y mejorar su valor. Sin embargo, los productos de aguacate son bastante inestables

debido a la presencia de enzimas oxidativas como la peroxidasa, polifenoloxidasa y alto contenido de ácidos grasos en la pulpa (Rojas et al., 2013).

1.2.3. Ácidos grasos

La lipoxigenasa (LOX) es una enzima que se encuentra en muchas plantas y animales, que cataliza la oxigenación de ácidos grasos poliinsaturados para formar hidroperóxidos de ácidos grasos. Estos últimos están presentes en una amplia gama de órganos y tejidos biológicos, pero son particularmente abundantes en semillas leguminosas de grano (frijoles y guisantes) y en tubérculos. Lipoxigenasa de diferentes fuentes, cataliza la oxigenación en diferentes puntos a lo largo de la cadena de carbono, lo que se conoce como especificidad "posicional". Tal especificidad tiene implicaciones significativas para el metabolismo de los hidroperóxidos resultantes en una serie de metabolitos secundarios (Manovsky et al., 2015).

La lipooxigenasa (LOX) afecta primeramente la calidad nutrimental destruyendo los ácidos grasos esenciales, co-oxidando carotenoides y posteriormente la calidad sensorial generando malos olores y sabores. En el fruto también existe actividad enzimática hidrolítica (lipasas) las cuales causan la hidrólisis de los enlaces éster-ácido graso en los triglicéridos, dando como resultado ácidos grasos libres, diacilgliceroles, monoacilgliceroles y glicerol. La liberación de los ácidos grasos facilita y acelera las reacciones de auto-oxidación puesto que los radicales libres atacan más fácilmente a los mismos que a los triglicéridos. Ambos procesos (auto-oxidación y oxidación enzimática) dan como resultado la rancidez de puré de aguacate durante su almacenamiento (Velázquez et al., 2013).

La disminución significativa en el contenido de ácidos grasos del aguacate se relaciona con la degradación oxidativa de los mismos y también afecta la temperatura de almacenamiento en la que se encuentren los aguacates. Es por ello la importancia de controlar y aplicar métodos que hagan perdurar los productos derivados del aguacate, ya que al tener presencia de enzimas oxidativas es susceptible a cambios negativos que eviten que el consumidor confíe en el producto.

1.3. Conservación del puré de aguacate

El aguacate es un fruto muy apreciado, debido a su alto poder nutritivo se han probado algunos métodos de conservación, sin embargo, no se comercializa ampliamente en forma procesada por presentar un rápido oscurecimiento enzimático. Como se ha mencionado, las dificultades que se presentan al tratar de elaborar productos de aguacate son el oscurecimiento enzimático de fenoles, oxidación de lípidos, crecimiento microbiano, desarrollo de sabor y aroma desagradables durante los tratamientos térmicos alterando la calidad del fruto (Hernández, 2005). Pero estas problemáticas pueden ser controladas a través del uso de métodos químicos y físicos, a menudo empleados en combinación. Los métodos físicos comúnmente utilizados son: la aplicación de altas o bajas temperaturas, el oxígeno y el uso de atmósferas modificadas o envases al vacío (Guerrero, 2009). La utilización de los métodos químicos dependerá de lo que se desee inhibir, ya sea la enzima, el sustrato (oxígeno o compuestos fenólicos) o los productos del oscurecimiento (Guerrero, 2009). No obstante, la aplicación de estos métodos, ya sean físicos o químicos alteran al producto. Por ejemplo, el calor induce tanto la pérdida de vitaminas como la alta alteración del color, así como los cambios no deseables en el sabor del puré de aguacate (Soliva et al., 2001), por ello la aplicación de tecnologías emergentes que no influyan en la calidad del producto como lo es el empleo del ultrasonido, nanotecnología etc.

1.4. Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos

En los últimos años, ha aumentado considerablemente el interés general por consumir alimentos mínimamente procesados o procesados de una manera en que los componentes alimenticios se conserven. Se ha demostrado que diversos alimentos como las frutas, las verduras, los cereales, lácteos, entre otros, contienen componentes bioactivos que ayudan a regular nuestro organismo (Bigliardi y Galatib, 2013). Tradicionalmente los tratamientos térmicos como la pasteurización y esterilización eran métodos empleados para destruir microorganismos como enzimas,

siendo los responsable del deterioro de los alimentos. Sin embargo, su eficacia depende de la temperatura y el tiempo del tratamiento conduciendo a la pérdida de nutrientes, el desarrollo de sabores y colores indeseables y el deterioro de las propiedades organolépticas de los alimentos (Chemat et al., 2011). En este sentido, las tecnologías emergentes, surgieron con el objetivo de cubrir estas necesidades, ya sea reemplazando u optimizando las tecnologías convencionales.

De acuerdo con Moreno et al. (2018), estas tecnologías se pueden dividir en tecnologías térmicas y no térmicas, según el principio básico de acción. Dentro de las térmicas, encontramos el calentamiento por microondas, radiofrecuencias, infrarrojo y calentamiento óhmico, en donde el calentamiento se realiza de forma interna por fricción molecular, debido al paso de ondas electromagnéticas o corriente eléctrica. Por otro lado, las tecnologías no térmicas, utilizan diferentes principios de acción para eliminar la carga bacteriana patógena presente en los alimentos, como altas presiones hidrostáticas, pulsos eléctricos, luz ultravioleta, ultrasonido, nanotecnología y plasma en frío. Como resultado, según Chemat et al. (2011) , las nuevas tecnologías que se están desarrollando aseguran la preservación de los alimentos sin el uso de conservantes, manteniendo su valor y características organolépticas (textura, color, sabor), con un bajo consumo de energía, un costo competitivo, cuidando el medio ambiente y con un alto grado de seguridad.

Aunque el consumo fresco de aguacate sigue siendo el más demandado por el consumidor, las tecnologías emergentes como el ultrasonido, le ha permitido a la industria un desarrollo muy importante debido a las numerosas ventajas, como el retraso en el oscurecimiento del aguacate, se mantienen las propiedades del producto fresco; lo que significa una ventaja organoléptica y se evita o se minimiza el uso de conservantes; lo cual permite calificar al puré de aguacate como producto orgánico, natural y sin aditivos (Fernández et al., 2016).

1.4.1. Ultrasonido

Productos alimenticios, como frutas y verduras, grasas, aceites, azúcar, lácteos, carnes, café, harinas, vitaminas, proteínas, fibras, antioxidantes y otros compuestos orgánicos y minerales, deben ser procesados y conservados antes de comercializarse. Para ello se pueden llevar a cabo diferentes métodos como freído, sacado, filtración, esterilización, refrigeración, congelación, entre otros. Sin embargo, algunos alimentos, ingredientes y productos son térmicamente sensibles y vulnerables a los cambios químicos, físicos y microbiológicos, perdiendo así compuestos importantes para su conservación y aprovechamiento. Además de estos problemas, los métodos convencionales de procesamiento de alimentos, consumen tiempo y energía debido a los calentamientos prolongados, agitación y uso de grandes volúmenes de agua, generando una baja eficiencia de producción. Estas deficiencias han dado lugar al uso de nuevas tecnologías verdes y emergentes para el procesamiento, pasteurización y extracción, que implican menos tiempo, agua y energía (Chemat et al., 2011).

El ultrasonido es una tecnología basada en la emisión y recepción de ondas sonoras mecánicas, generalmente longitudinales que resultan imperceptibles al oído humano porque su frecuencia se encuentra por encima de los 20,000 ciclos por segundo (20kHz) (Villaseñor et al., 2012).

El ultrasonido es un método innovador utilizado para reducir la pérdida de calidad causada por el tratamiento térmico en el procesamiento y conservación de los alimentos. Se puede dividir en diferentes rangos de frecuencia y el rango más comúnmente utilizado en la tecnología de alimentos es de alta intensidad-baja frecuencia (20-100 kHz) con una potencia de 10-100 W / cm² (Cao et al., 2018). Chandrapala et al. (2012), establecen que en los últimos años, la tecnología del ultrasonido se ha utilizado como alternativa de procesamiento a los enfoques térmicos convencionales y Chemat et al. (2011), demuestran que las ondas ultrasónicas de alta intensidad pueden romper células y desnaturalizar enzimas, incluso el ultrasonido de baja intensidad es capaz de modificar el metabolismo de las células. El ultrasonido no solo puede pasteurizar sino también, puede preservar los alimentos mediante la

inactivación de enzimas y microorganismos a condiciones de temperatura, que pueden mejorar la calidad de los alimentos, además garantiza la estabilidad y la seguridad de los alimentos.

Entre otras ventajas del ultrasonido se incluyen: una mezcla y micro-mezcla más efectivas, rapidez en la transferencia de energía y masa, reducción de gradientes térmicos, de concentración y temperatura, extracción selectiva, tamaño reducido del equipo, control de extracción de procesos, aumento de la producción y eliminación de algunos pasos de proceso y como tecnología verde también ha atraído la atención de su papel en la sostenibilidad ambiental. Las aplicaciones de ultrasonido se basan en tres métodos diferentes: aplicación directa al producto, acoplamiento con el dispositivo y sumergimiento en baño ultrasónico (Chemat et al., 2011).

1.4.1.1. Influencia del ultrasonido en la inactivación de enzimas

Como ya se mencionó, la industria alimentaria ha confiado en métodos térmicos para inactivar microorganismos y enzimas como medio de preservación de alimentos, inactivando enzimas, matando microorganismos vegetativos y destruyendo algunas esporas. No obstante, estas prácticas causan la pérdida de las propiedades nutricionales y organolépticas de los productos alimenticios (Chandrapala et al., 2012).

Los microorganismos y las enzimas son los principales factores responsables del deterioro de los alimentos. Las enzimas presentes naturalmente en los alimentos, descomponen los nutrientes, por ejemplo la descomposición de las grasas por las lipasas o de las proteínas por las proteasas. El procesamiento térmico convencional mata a los microorganismos vegetativos y algunas esporas, e inactiva las enzimas. Sin embargo, el tiempo y la temperatura del proceso son proporcionales a la cantidad de pérdida de nutrientes, el desarrollo de sabores indeseables y el deterioro de las propiedades funcionales de los productos alimenticios y según Chemat et al. (2011), el ultrasonido es una de las nuevas técnicas de preservación que podría eliminar la actividad microbiana.

El efecto del ultrasonido en la inactivación de enzimas ha sido ampliamente estudiado, especialmente en polifenoloxidasas. De acuerdo con Cao et al. (2018) la inactivación de las enzimas podría deberse principalmente a los efectos físicos (cavitación, efectos mecánicos, choques mecánicos) y químicos (radicales libres debido a una reacción sonoquímica), implicando la formación, el crecimiento y la implosión de burbujas (Bi et al., 2015). Ésta inactivación también depende del fruto, la condición del tratamiento de sonicación como la frecuencia, intensidad, amplitud, temperatura y tiempo.

La efectividad del ultrasonido se basa en la cavitación generada por éste cuando las ondas de sonido pasan a través del medio. Cuando las ondas de sonido sinusoidal se transmiten a través de un medio líquido, propagan energía que se puede sentir a través de la vibración. Además, se produce un rápido aumento de la presión cuando la energía ultrasónica aumenta hasta cierto nivel. La transmisión de energía ultrasónica implica ciclos de compresión y expansión en las moléculas del medio a través del cual pasa. Este rápido ciclo de compresión y expansión causa cavitación, que es responsable de la ruptura celular, la descomposición de las microestructuras y la producción de radicales libres en el medio (Nahidul et al., 2014).

De acuerdo con Cao et al. (2018), la cavitación causada por la formación, el crecimiento y la implosión de pequeñas burbujas de gas o cavidades libera enormes cantidades de energía y produce un aumento de temperatura y presión a una micro escala, lo que produce pérdidas de la actividad enzimática, la producción de radicales libres que causan daño al ADN y la micro-transmisión, que causa el adelgazamiento de las membranas celulares, cruciales en la inactivación de enzimas.

1.4.2. Nanotecnología

La nanotecnología es definida por la Organización Internacional de Normalización (ISO), como la “aplicación del conocimiento científico para manipular y controlar la materia a nanoescala con el fin de hacer uso del tamaño y estructura dependientes de las propiedades y fenómenos, a diferencia de los asociados con átomos o moléculas individuales o con materiales a granel”. La palabra "nano" se refiere a una

milmillonésima parte de un metro (10^9 m) y la nanotecnología puede entenderse como la fabricación, caracterización y manipulación de partículas con tamaños menores a 100 nanómetros (Bouwmeester et al., 2014).

La agricultura y la producción de alimentos se han asociado directamente con el desarrollo y el bienestar humano, así como con el mantenimiento de los ecosistemas. Con el constante aumento de la población, los peligros ambientales actuales, el cambio climático mundial, la escasez de fuentes de energía y la contracción de la tierra cultivable, es indispensable el uso de tecnologías modernas para aumentar y mejorar la producción de alimentos y la calidad de los alimentos. El uso de la nanotecnología en el procesamiento de alimentos es aplicable en todas las etapas de producción, envasado, almacenamiento y transporte. Dicho esto, el uso de la nanotecnología, como en la detección y protección de cultivos, sistemas de administración de bioactivos, fertilizantes, pesticidas y fungicidas, menos uso de productos químicos agresivos en la cadena alimentaria, encapsulación de enzimas para diversos procesos, uso de nanosensores en el envasado y transporte de alimentos y uso de nanopartículas para detectar la contaminación alimentaria y la adulteración de alimentos, ha revolucionado la industria alimentaria en todo el mundo. El uso más prometedor de la nanotecnología en la producción de alimentos, es la funcionalidad que se puede lograr por las cantidades relativamente pequeñas de estas nanopartículas, sus reacciones interfaciales crecientes que mejoran la eficacia de su uso, y su fácil formulación y manejo así como el impacto en el medio ambiente (Naseer et al., 2018).

De acuerdo con Naseer et al. (2018), existe una amplia gama de nanotecnologías y materiales que se están desarrollando en un esfuerzo por tener un mayor control sobre las características de los alimentos. La incorporación de sustancias funcionales activas como antimicrobianos, antioxidantes, anti humectantes, saborizantes, colorantes, inhibidores del oscurecimiento, mantienen la integridad y estabilidad de estos compuestos sensibles contra la degradación durante el procesamiento y almacenamiento. Según Letchford y Burt (2006) estos nanomateriales se pueden encapsular, dispersar o absorber y pueden ser lípidos, polímeros y materiales

inorgánicos, lo que ha llevado a sistemas de administración que varían en sus propiedades fisicoquímicas y, por lo tanto, sus aplicaciones. Dentro de los sistemas de administración con función potencial como acarreadores de sustancias de interés alimenticio se encuentran: micelas, liposomas, nanoesferas, niosomas, nanoemulsiones, nanocápsulas, nanopartículas, nanopartículas de lípidos sólidos, microemulsiones y nanotubos de carbono (Zambrano- Zaragoza et al., 2013).

1.4.2.1. Nanopartículas

Las nanopartículas se definen como partículas sólidas o coloidales con un rango de tamaño de 1 a 100 nm. La estabilidad, la reactividad química, la fluidez, la opacidad y la resistencia del material de numerosos materiales se ven afectadas por el tamaño de las partículas. La diferente distribución de la forma y el tamaño de las partículas puede tener un impacto importante en muchos aspectos de los alimentos también, incluyendo características sensoriales como el sabor, textura, apariencia y funcionalidad del producto final (Kumari et al., 2020).

Kumari et al. (2020) nos dice que las características de encapsulación y liberación de partículas y actividad biológica de las partículas también se ven afectadas por el tamaño de las partículas. Las propiedades funcionales características de las nanopartículas se atribuyen a su mayor relación superficie-masa en comparación con los materiales voluminosos de mayor tamaño. Por ejemplo, la mayor superficie de nanopartículas por unidad de masa las convierte en agentes adecuados para las nanocápsulas que contienen compuestos bioactivos para su mejor entrega y actividad biológica dirigida a través de alimentos funcionales. Las propiedades únicas de los nanomateriales las consideran agentes potenciales con amplias aplicaciones en la industria alimentaria y en los sectores agrícolas y, por lo tanto, actualmente están disponibles en el mercado una serie de productos basados en nanomateriales (Chaudhry et al., 2008).

Dependiendo de la naturaleza, las nanopartículas se pueden agrupar en varias categorías, incluidas las nanopartículas inorgánicas, las nanopartículas orgánicas y las

nanopartículas orgánicas/inorgánicas o modificadas en superficie combinadas. Las nanopartículas inorgánicas consisten en óxidos metálicos u metálicos, como la plata, el oro, la sílice sintética amorfa, el óxido de zinc, el dióxido de titanio, los óxidos de aluminio, los hidróxidos de dióxido de cerio, el carbonato de calcio y los materiales a base de carbono, como los nanotubos de carbono, los fullerenes y el grafeno, y finalmente los nanopolímeros, nano-arcillas y nanocompuestos (Bouwmeester et al., 2014). Sin embargo, recientemente ha habido un interés emergente en el desarrollo de nanopartículas basadas en biomateriales. Los estudios han demostrado que una variedad de nanopartículas orgánicas y comestibles se pueden preparar a partir de ingredientes a base de alimentos, como polisacáridos, lípidos, proteínas, minerales y tensioactivos. La composición de una nanopartícula tiene un efecto considerable en sus propiedades fisicoquímicas (por ejemplo, densidad, reología, índice de refracción y polaridad); propiedades protectoras (por ejemplo, actividad antioxidante); propiedades de partículas (por ejemplo, tamaño, carga); características de encapsulación (por ejemplo, capacidad de carga, comportamiento de encapsulación y eficiencias de retención); y propiedades de liberación (por ejemplo, disparador, velocidad y extensión) (kumari et al., 2020).

Se han desarrollado muchos métodos para preparar nanopartículas; estos métodos se pueden clasificar en dos categorías principales según si la formulación requiere una reacción de polimerización o si se logra directamente de una macromolécula o un polímero preformado. Los métodos de polimerización pueden clasificarse adicionalmente en emulsión y polimerización interfacial, y existen dos tipos de polimerización en emulsión: orgánica y acuosa, según la fase continua. Las nanopartículas también se pueden preparar directamente a partir de polímeros sintéticos o naturales preformados y por desolvatación de macromoléculas (Pinto et al., 2006). Un ejemplo del uso de estos polímeros es al alginato de sodio y se ha demostrado que es uno de los materiales más prometedores y útiles, ya que está fácilmente disponible en la naturaleza y puede formar productos finales rentables.

1.4.2.2. Nanopartículas de alginato de sodio

El alginato de sodio es un polímero derivado de la sal del ácido algínico, polisacárido natural de los residuos de M ácido β -D-manurónico ligado por enlaces glucosídicos (1-4) con residuos G ácido α -L- gulurónico, derivado de las paredes celulares de algas marrones. El alginato de sodio es conocido como un biopolímero hidrófilo que tiene una función de recubrimiento debido a sus propiedades coloidales únicas, que incluyen su uso para espesar, formar suspensiones y geles, así como para estabilizar emulsiones (Díaz et al., 2012).

El alginato de sodio es un polímero soluble en agua que se gelifica en presencia de cationes multivalentes como el calcio. Las partículas de alginato generalmente se producen por extrusión gota a gota de solución de alginato de sodio en solución de cloruro de calcio. El tamaño de partícula de alginato depende del tamaño de la gota extruida inicial. Las partículas más pequeñas producidas tienen un tamaño mínimo de 1 a 5 μm , obtenido por atomización con aire. La preparación de nanopartículas de alginato se logra en una solución acuosa diluida de alginato de sodio en la que se induce la gelificación mediante la adición de una baja concentración de calcio. Esto conduce a la formación de grupos invisibles de geles de alginato de calcio. En un avance adicional, las partículas de alginato se han producido utilizando un método modificado de emulsificación/gelificación interna como se ilustra en la Figura 7. La preparación de nanopartículas de alginato a través de este método no requiere equipo especializado y puede realizarse a temperatura ambiente (Pinto et al., 2006).

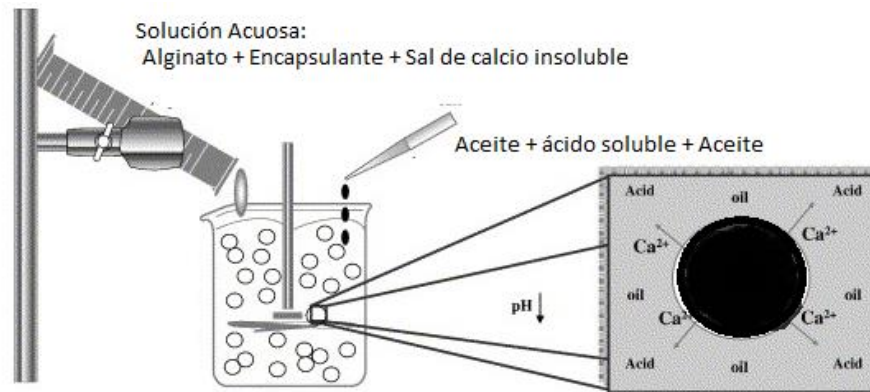


Figura 7. Representación esquemática de la técnica de emulsificación-gelificación interna utilizando alginato (Pinto et al., 2006).

La nanoformulación con alginato de sodio es una herramienta valiosa para la encapsulación de agentes bioactivos que sirve como sistema funcional en las aplicaciones alimenticias y farmacéuticas. Además, estudios por Hassani et al. (2020) apuntan a que la preparación de nanopartículas de alginato de sodio como estabilizador ha demostrado una potencial actividad antibacteriana, ya que el alginato de sodio es un buen portador de compuestos bioactivos como antioxidantes, antimicrobianos, ácidos orgánicos, enzimas y potenciadores de la textura.

La incorporación de aceites esenciales de plantas, extractos o sus componentes fenólicos puede resultar prometedora para retardar el crecimiento microbiano y la oxidación de lípidos, mejorar la calidad sensorial y aumentar la vida útil de los alimentos frescos (Shahbazi y Shavisi, 2019).

1.5. Aceite Esencial de Tomillo

El creciente interés en el uso de conservantes naturales en diferentes industrias, como una alternativa para los aditivos sintéticos, ha llevado a nuevas investigaciones de caracterizaciones de productos naturales biológicamente activos. En consecuencia, el término "biológicamente activo" incluye todos los beneficios y actividades relacionados

con la utilización de estos compuestos. La importancia que estos derivados naturales han ganado, no sólo se debe a su contenido de compuestos volátiles biológicamente activos, sino también a su uso, como ingredientes aditivos, en la producción de alimentos procesados, productos farmacéuticos, cosméticos y otros productos para la salud, ya sea directa o indirectamente (Rashed et al., 2020).

Rashidimehr et al. (2019) nos dice que actualmente, hay una serie de maneras de controlar el crecimiento de microorganismos patógenos en los productos alimenticios. Una de las formas es el uso de aceites esenciales. Los aceites esenciales son extractos aromáticos aceitosos obtenidos de diferentes partes de plantas, como flores, hojas, madera, corteza, raíces, semillas o cáscaras, que exhiben propiedades bactericidas o bacteriostáticas. Los aceites tienen propiedades bioactivas, por ejemplo, antimicrobianas, antivíricas, antifúngicas y antisépticas. Los aceites esenciales contienen una mezcla compleja de compuestos no volátiles y volátiles que normalmente se extraen de diferentes partes de las plantas (Ryu et al., 2018).

El tomillo (*Thymus vulgaris* L.) es una hierba que se ha utilizado durante mucho tiempo como agente aromático (Giarratana et al., 2016), y también tiene actividades inhibitorias contra varias bacterias y levaduras. Los aceites esenciales de algunas especies de tomillo se caracterizan por la presencia de una alta concentración de los monoterpenos fenólicos isoméricos timol y/o carvacrol mostrando actividad antimicrobiana contra muchas bacterias y hongos (Chang et al., 2015). Sin embargo, se ha informado que el tomillo contiene diferentes proporciones de componentes activos según la temporada, la ubicación, el método de extracción y las partes de la planta de las que se extrajo (Ryu et al., 2018).

La actividad antifúngica del aceite de tomillo está bien documentada y se ha demostrado que inhibe el crecimiento fúngico de *Colletotrichum gloeosporioides* *in vitro* o *in vivo* en los cultivares de aguacate Hass. También se demostró que la aplicación de aceites esenciales de tomillo mejoraba las actividades de las enzimas de defensa (peroxidasas), enzimas antioxidantes (catalasas) así como los fenoles totales. Se utilizan para mejorar la apariencia de los alimentos y para preservar la calidad de

la fruta. Por lo tanto, la incorporación de aceite de tomillo podría ser un método eficaz para controlar su alta volatilidad, minimizando así las pérdidas y mejorando su efectividad que cuando se aplica directamente sobre la superficie de la fruta (Bill et al., 2014).

Sin embargo, sus propiedades presentan ciertos obstáculos para su incorporación en matrices de alimentos, ya que son mezclas complejas de compuestos lábiles y volátiles que son susceptibles a la oxidación y degradación cuando se exponen a la luz UV, O² y altas temperaturas. Estas características, junto con su baja solubilidad en agua y baja estabilidad significan que estas sustancias deben protegerse cuando se utilizan en aplicaciones (Miranda-Linares et al., 2020). Una de las técnicas más importantes y más efectivas para superar tales restricciones es incorporar los aceites esenciales en los sistemas de suministro de nanopartículas utilizando polímeros moleculares de grado apropiado y seguro. Como biopolímero generalmente reconocido como seguro (GRAS), el alginato de sodio es uno de los biopolímeros más importantes que se han utilizado con éxito como emulsionante debido a sus propiedades fisicoquímicas deseables que contribuyen significativamente a mejorar la eficiencia y el rendimiento de las emulsiones (Rashed et al., 2020), como lo mencionamos anteriormente.

1.6. Envasado al vacío

Según Ahmad y Siddiqui (2015), el empaquetado de alimentos se refiere a la tecnología y el material para proteger los productos para su distribución, almacenamiento, venta y uso. También se puede definir como el arte, la ciencia y la tecnología para garantizar la entrega segura de un producto al consumidor final en condiciones óptimas, a los costes generales mínimos. Después de la cosecha y el montaje, el siguiente trabajo importante para cualquier cultivador de frutas o comerciante es el empaquetado en un recipiente adecuado antes de su almacenamiento y comercialización. El objetivo principal de esta función es la protección de los productos durante el transporte, almacenamiento y comercialización del consumo.

Desde el comienzo de la era de la globalización y la urbanización, la preferencia de los consumidores por alimentos seguros y de alta calidad está en aumento. Los alimentos, una vez envasados correctamente, dependiendo de su composición y una gama de factores extrínsecos, pueden durar desde pocas horas hasta días e incluso meses dependiendo de su vida útil. Hay posibilidades de que un producto alimenticio entre en contacto con agentes físicos, químicos y biológicos durante la manipulación, preparación o transporte. El embalaje facilita que los productos alimenticios conserven su textura y frescura. Además, evita el alcance de la contaminación que puede surgir cuando se mantiene en contacto con otros productos alimenticios o partes de material en cualquier punto de la cadena de suministro de alimentos. Por lo tanto, el mercado actual exige una gama de requisitos y especificaciones para el envasado y etiquetado de alimentos. También sirve como una herramienta preventiva para garantizar que el producto esté sellado en todas las etapas de distribución hasta que sea abierto por el usuario final, asegurando cero derrames y comprobando los problemas asociados con la manipulación (Kalpana et al., 2019).

La prolongación de la vida útil de frutas y verduras frescas o secas ha sido la principal preocupación en el pasado reciente y se han desarrollado varias técnicas, de las cuales, el envasado al vacío de alimentos procesados se está convirtiendo en una de las herramientas importantes (Deepa et al., 2013), aumentando el valor de los productos procesados y la disponibilidad de éstos durante todo el año (Padmanaban et al., 2014). El envasado al vacío es el procedimiento que permite reducir el nivel de oxígeno en un envase sellado. El ambiente anaeróbico del envasado al vacío impide el crecimiento de microorganismos que se descomponen, especialmente los aeróbicos, que son responsables de los cambios de color, olor y textura (Deepa et al., 2013).

El producto se coloca en un paquete hecho de una película de baja permeabilidad al oxígeno, el aire se evacua y el paquete se sella. La presión en el interior rara vez es mucho menor que la de la presión atmosférica. Este proceso se usa ampliamente para envasar productos sensibles al oxígeno (Padmanaban et al., 2014). Por lo tanto, las

frutas frescas pueden beneficiarse potencialmente de esta tecnología, considerando que el oxígeno es uno de los sustratos de las reacciones de oscurecimiento. Sin embargo, las frutas envasadas al vacío deben controlarse rigurosamente, teniendo en cuenta que los bajos niveles de oxígeno obtenidos podrían inducir un metabolismo fermentativo (Denoya et al., 2015).

CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1. Objetivos

a) Objetivo general

Evaluar el efecto de nanopartículas de aceite esencial de tomillo y tratamiento con ultrasonido en puré de aguacate Hass, mediante parámetros asociados al oscurecimiento enzimático: color, textura, fenoles y actividades peroxidasa y polifenoloxidasas, durante el almacenamiento a 2°C y envasado al vacío estableciendo el tratamiento más efectivo para la inhibición del oscurecimiento enzimático.

b) Objetivos particulares

- Diferenciar el efecto del tratamiento con nanopartículas de aceite esencial de tomillo y ultrasonido sobre los cambios de pH y actividad de agua analizando la influencia sobre el comportamiento del puré de aguacate envasado al vacío y refrigerado a 2 °C.
- Determinar los cambios de color en función a los parámetros L*, a*, b*, mediante pruebas espectro colorimétricas para obtener las concentraciones de nanopartículas y/o aceite esencial de tomillo que disminuyan el índice de oscurecimiento.
- Analizar los cambios texturales en el puré de aguacate, debido al efecto de los tratamientos y envasado al vacío, analizando su influencia en parámetros de calidad del producto, determinando su firmeza, dureza, adhesividad y cohesividad por pruebas de penetración y análisis de perfil de textura, durante la conservación en refrigeración del producto.

- Correlacionar el efecto de la incorporación de nanopartículas de aceite esencial de tomillo y ultrasonido sobre los cambios en contenido de fenoles y actividad enzimática de peroxidasa y polifenoloxidasas asociados a la inhibición del oscurecimiento enzimático analizando la efectividad de los tratamientos.

2.2. Justificación

El puré de aguacate es un producto de alta demanda a nivel mundial, siendo Estados Unidos de América el principal consumidor de este producto y México el principal productor y exportador. Sin embargo, existe cierta inestabilidad en dicho producto debido a la presencia de enzimas oxidativas como la peroxidasa y polifenoloxidasa que van degradando sus propiedades sensoriales y va perdiendo aceptabilidad al consumidor. Otro factor importante que hay que tener en cuenta, es la conservación del puré de aguacate, ya que la refrigeración y el envasado al vacío por sí solos limitan el tiempo de vida útil alterando sus propiedades.

Por esta razón, es importante evaluar nuevas formas de mantener sus características de calidad adicionando en lo posible productos de origen natural que promuevan el mantenimiento del color y textura durante el almacenamiento en refrigeración. En este sentido, la nanotecnología representa una alternativa para incorporar ingredientes naturales como el aceite de tomillo con mayor efectividad y en menor concentración en relación con el activo sin encapsular. Adicionalmente, el ultrasonido representa un método eficaz para inhibir el oscurecimiento causado por las enzimas oxidativas presentes en el aguacate. Existen otros adyuvantes del proceso, como el alginato de sodio, el cual funciona como agente estabilizador potencializando su actividad antimicrobiana obteniendo así el mayor tiempo de conservación del puré durante su almacenamiento.

En la actualidad, en la producción de puré de aguacate no se ha estudiado el comportamiento del metabolismo de fenoles durante la etapa de estabilización del producto ni analizado los parámetros de calidad físicos, fisicoquímicos y texturales durante el almacenamiento con métodos mínimamente destructivos. Además de que

existe escasa información acerca de la aplicación de tratamientos en el puré de aguacate utilizando tecnologías emergentes.

2.3. Selección de variables

Tabla 3. Factores y niveles de variación en el diseño experimental.

Factor de variación	Nivel de variación	No de Réplicas	Variable Dependiente	Variable de respuesta	Técnica/Instrumento
Tratamientos sin nanopartículas	Con ultrasonido	3	Concentración de fenoles totales	Oscurecimiento enzimático	Folin- Cicalteu (Espectrofotómetro UV-VIS 10s)
	Sin ultrasonido		Polifenol-oxidasa	Actividad enzimática	Espectrofotometría (Espectrofotómetro UV-VIS 10s)
			Peroxidasa		
Nanopartículas de alginato	Con ultrasonido	3	Índice de oscurecimiento	Colorimetría	Colorimetría (Colorímetro Minolta CM-600)
	Sin ultrasonido		pH	pH	Potenciómetro
Nanopartículas de aceite esencial de tomillo	Con ultrasonido	3	Actividad de agua	Actividad de agua	Medidor de actividad de agua (Novasina <i>LabSwift-aw</i>)
	Sin ultrasonido		Textura	Dureza Cohesivi-dad Adhesivi-dad Firmeza Elastici-dad	Análisis de perfil de textura (Texture Analyzer CT3 Brookfield)

Se seleccionaron tres factores de variación (Tratamientos sin Nanopartículas, Nanopartículas y Nanopartículas con aceite esencial de tomillo), se estudiaron sus efectos con y sin tratamiento ultrasónico para cumplir con los objetivos planteados. Se realizaron pruebas al producto para desarrollar el análisis del efecto de estos factores,

cabe destacar que para monitorear las muestras de puré de aguacate se evaluaron los días 1, 3 y 7 a 2 °C, posteriormente al tratamiento y envasado al vacío. En la Tabla 3 se presentan los factores de variación.

2.4. Análisis estadístico

La comparación de los tratamientos se llevó a cabo realizando un ANOVA empleando el software estadístico MINITAB ®18, para realizar la diferenciación de medias se realizó una prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

2.5. Actividades preliminares

2.5.1. Acondicionamiento de la cámara de refrigeración

Se utilizó para este propósito una cámara de refrigeración comercial ubicada en el laboratorio 16 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Campo 4. Se determinó la temperatura y humedad relativa dentro de la cámara en dos posiciones con dos termopares USB (EL-USB-2, Lascar Electronics, Pensilvania, E.U.) como se muestra en la Figura 8. Los datos de temperatura y humedad fueron registrados durante 7 días a cada hora.



- Termohigrómetro 1
- Termohigrómetro 2

Figura 8. Acondicionamiento de la cámara de refrigeración.

2.5.2. Selección de la materia prima

Los aguacates variedad Hass, fueron adquiridos cada 7 días en lotes de 1 kg, en un centro de distribución de frutas del área (Cuautitlán Izcalli, Estado de México), se seleccionaron con base en su tamaño, estado de madurez, apariencia libre de daños mecánicos, fisiológicos, microbianos, requisitos mínimos que especifica la NMX-FF-016-2002.

2.5.3. Selección de polisacáridos y antioxidantes

Con la finalidad de establecer la concentración de antioxidante y polisacáridos adecuados para ser empleados en la inhibición del oscurecimiento enzimático se preparó puré de aguacate adicionado con uno de los siguientes componentes: quitosan (2 %) utilizado por su alto valor antimicrobiano (Alarfaj, 2019), alginato de sodio (0.6 %) polímero que ayuda a proteger la estabilidad del aceite esencial de tomillo sin que éste se volatilice (Miranda-Linares et al., 2020) , α -tocoferol (0.01 %) antioxidante natural que interviene en la oxidación de alimentos (Yan et al., 2019) y aceite esencial de tomillo (200 μ L) que ayuda a inhibir la actividad de la enzima peroxidasa (Bill et al., 2014). El monitoreo de los cambios asociados a estos ingredientes se llevó a cabo durante 5 h tomando muestreos cada hora. Los efectos fueron analizados estadísticamente en función a los resultados obtenidos del índice de oscurecimiento (apartado 2.6.2) en las muestras estudiadas.

2.5.4. Determinación de frecuencia del ultrasonido

Para realizar la sonicación del puré de aguacate se utilizó un procesador ultrasónico portátil marca HIELSCHER, modelo UP200Ht con el sonotrodo de 14 mm. Se escogieron tres tiempos con la finalidad de identificar el que presentara menor índice de oscurecimiento (20 s, 30 s y 1 min) y también se realizó la prueba aplicando pulsos por 20 y 30 s. Ambas pruebas se realizaron a 20 W de potencia de acuerdo a estudios realizados por Bi et al. (2015). La Figura 9 muestra un ejemplo de cómo fue usado el ultrasonido.



Figura 9. Empleo del ultrasonido en puré de aguacate.

2.5.5. Preparación de las muestras

Los aguacates de variedad Hass fueron lavados, se eliminó el pericarpio y semilla para preparar el puré con la pulpa de aguacate. Se pesaron 100 g de pulpa y se añadió el alginato de sodio, aceite esencial de tomillo o las nanopartículas con aceite esencial de tomillo, previamente preparadas, para su posterior homogenización en un sistema de molienda, Figura 10. Una vez obtenido el puré, para los tratamientos con ultrasonido, se prosiguió a su sonicación a la frecuencia y tiempos seleccionados.

El envasado se realizó en una campana Multivac[®] ejerciendo una presión de 50 mBar, empleando bolsas de polietileno de alta densidad de 10 x 15 cm, colocando 25 g de producto por muestra. El polietileno de alta densidad tiene una densidad de 0.941-0.965 g/cm³; con alto grado de cristalinidad y aspecto ceroso (Roca, 2005). Una vez envasadas fueron distribuidas homogéneamente en la cámara de refrigeración a 2°C (+/-1°C) y 60-90% de humedad relativa para su respectivo muestreo (1, 3 y 7 días).



Figura 10. Preparación de puré de aguacate.

2.6. Actividades Experimentales

2.6.1. Medición de color

Los cambios de color fueron medidos con un colorímetro Minolta CM-600, previamente calibrado con una placa blanca como referencia. El software del equipo proporcionó los datos de las coordenadas L , a^* y b^* . Las muestras fueron medidas directamente del envase, ya que proporcionaban resultados menores del parámetro a^* influyendo directamente en el índice de oscurecimiento con respecto a los medidos con un vidrio de reloj que presentaban resultados mayores. Con las coordenadas obtenidas, se pudo obtener delta E (ΔE) y el índice de oscurecimiento (IO), los cuales fueron determinados mediante las ecuaciones empleadas por Soliva et al. (2001) y Zambrano-Zaragoza et al. (2014), respectivamente. Cabe destacar que la ecuación 2 se utiliza para sustituir el valor de x en la ecuación 1 y así sacar el índice de oscurecimiento.

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5}$$

$$IO = \frac{100(x - 0.31)}{0.172} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$$x = \frac{a^* + 1.75L^*}{5.645L^* + a^* - 3.012b^*} \quad \text{Ecuación 2}$$

2.6.2. pH

La determinación de pH fue realizada empleando un potenciómetro digital marca Hanna Instruments modelo HI213, calibrado con soluciones buffer 4 y 7 en la escala de pH, antes de realizar la prueba de cada muestra. Las muestras fueron pesadas (4 g) y diluidas en agua destilada (15 mL) para su medición.

2.6.3 Actividad de agua

Para la determinación de la actividad de agua, se utilizó un higrómetro marca Novasina. Fueron pesados aproximadamente 2 g de muestra y se llenaron las cápsulas del equipo hasta la marca límite para que la muestra no tuviera contacto con los sensores del equipo.

2.6.4. Pruebas texturales

Se utilizó el Texturómetro Analyzer CT3 Brookfield para determinar la firmeza del puré de aguacate, según las siguientes especificaciones: valor meta 5 mm, carga de activación 0.07 N y velocidad de prueba de 2 mm/s. Se empleó un punzón de punta plana con un diámetro de 38.1mm y 20 mm de largo. El análisis de perfil de textura se obtuvo mediante dos ciclos con un tiempo de espera entre cada ciclo de 0.5 s y se ocupó un cilindro de acrílico de 25.4 mm de diámetro. Las muestras se colocaron en frascos pequeños con el fin de facilitar la entrada de las sondas y se realizó por triplicado cada prueba.

2.6.5. Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles totales se llevó a cabo por el método de Folin Cicalteu descrito por Zhou et al, (2016). Fueron homogenizados de 3 g de muestra con 15 mL de metanol por 1 h, posteriormente la muestra fue centrifugada y así se obtuvo el extracto. Una vez obtenido el extracto, se mezcló 1000 μ L con 200 μ L de reactivo de Folin por 3 min, después se le incorporaron 2.4 mL de agua y 2 mL de carbonato de

sodio. Se dejó reposar en la oscuridad durante 1 h. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro marca Genesys 10S UV-VIS.

2.6.6. Determinación de actividad polifenoloxidasas

La enzima polifenoloxidasas fue extraída mezclando 5 g de muestra con 15 mL de una disolución de cloruro de sodio (0.1 M) y 0.1% de polivinilpirrolidona por 15 minutos. Después esta mezcla fue centrifugada a 7,000 rpm durante 15 min. Con el extracto obtenido se determinó la absorbancia por espectrofotometría empleando como referencia 2.9 mL de catecol con citrato-fosfato buffer pH 6 y se añadió 2.9 mL a las muestras de ésta solución y 100 μ L de extracto de aguacate. Una unidad de actividad enzimática se definió como un aumento de 0.1 en la absorbancia a 420 nm por minuto (Bi et al., 2015).

2.6.7. Determinación de actividad peroxidasa

La actividad peroxidasa fue determinada empleando guayacol como sustrato oxidable en presencia de peróxido de hidrogeno. Previo a la medición, 5 g de muestra fueron homogeneizados con 15 mL de una disolución de cloruro de sodio (0.1 M) y 0.1% de polivinilpirrolidona por 15 min se centrifugó a 7,000 rpm durante 15 min para obtener el extracto. El extracto fue obtenido con ayuda de una jeringa, ya que habo separación de fases y sólo se necesitaba el extracto.

El cambio en absorbancia fue determinado en función al tiempo, empleando una celda blanco a la que se le añadieron 2.9 mL de guayacol y 1.8 mL de peróxido de hidrógeno, las muestras fueron tratadas de la misma forma adicionando 50 μ L de extracto para llevar a cabo la reacción de oxidación sustrato-enzima.

CAPÍTULO III. ANÁLISIS DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Resultados actividades preliminares

3.1.1. Acondicionamiento de la cámara de refrigeración

Los valores registrados en los termohigrómetros durante 7 días fueron analizados determinando la variabilidad en los resultados. Los productos fueron almacenados en la primera y segunda rejilla del refrigerador ya que los resultados no variaron según la posición, como se observa en la Figura 11; existiendo variaciones debido a la simulación de la apertura de la cámara de refrigeración al tomar muestras envasadas para su posterior estudio en los días 0, 3 y 7. La máxima temperatura que se obtuvo fue de 4.5°C y la mínima de -1.5°C, teniendo un promedio de 2°C.

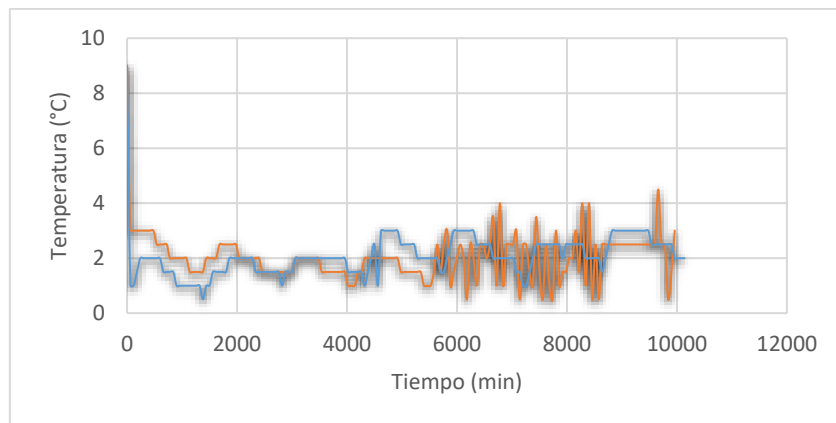


Figura 11. Variación de la temperatura del espacio refrigerado.

— Termohigrómetro posición 1 — Termohigrómetro posición 2

En la Figura 12 se muestra el registro de humedad relativa, encontrándose valores de 65 al 75 % a los que se recomienda el almacenamiento de puré de aguacate para evitar riesgo de daños por frío.

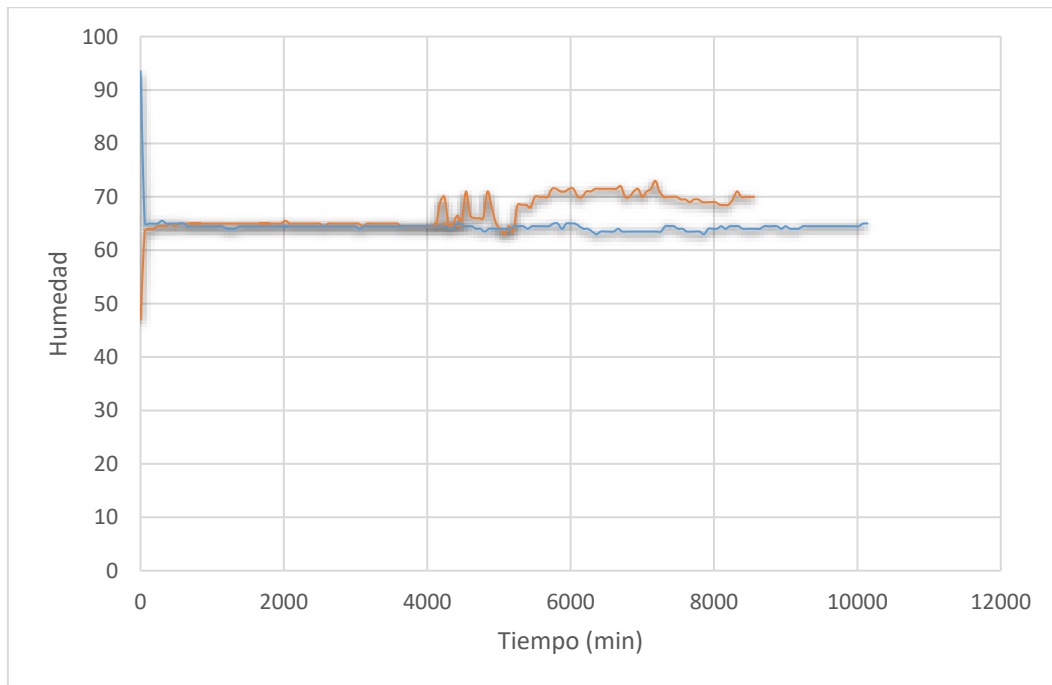


Figura 12. Variación de la humedad relativa del espacio refrigerado.

— Termohigrómetro posición 1 — Termohigrómetro posición 2

3.1.2. Selección de polisacáridos y antioxidantes

Los tratamientos fueron realizados con respecto a puré de aguacate control, es decir sin ningún tratamiento salvo la reducción de tamaño. En la Figura 13, se muestran los cambios en el índice de oscurecimiento con datos L^* , a^* y b^* para la mezcla de aceite de tomillo con puré de aguacate empleando propilenglicol, observándose que las muestras con aceite esencial de tomillo presentaron los mejores resultados, debido a que al ser adicionado no afectó el color inicial del puré de aguacate, comprobando su eficacia en la inactivación de enzimas. En cambio al incorporar propilenglicol se

aprecia que este polisacárido no hace sinérisis con el aceite de tomillo, acelerando la oxidación en el puré de aguacate.

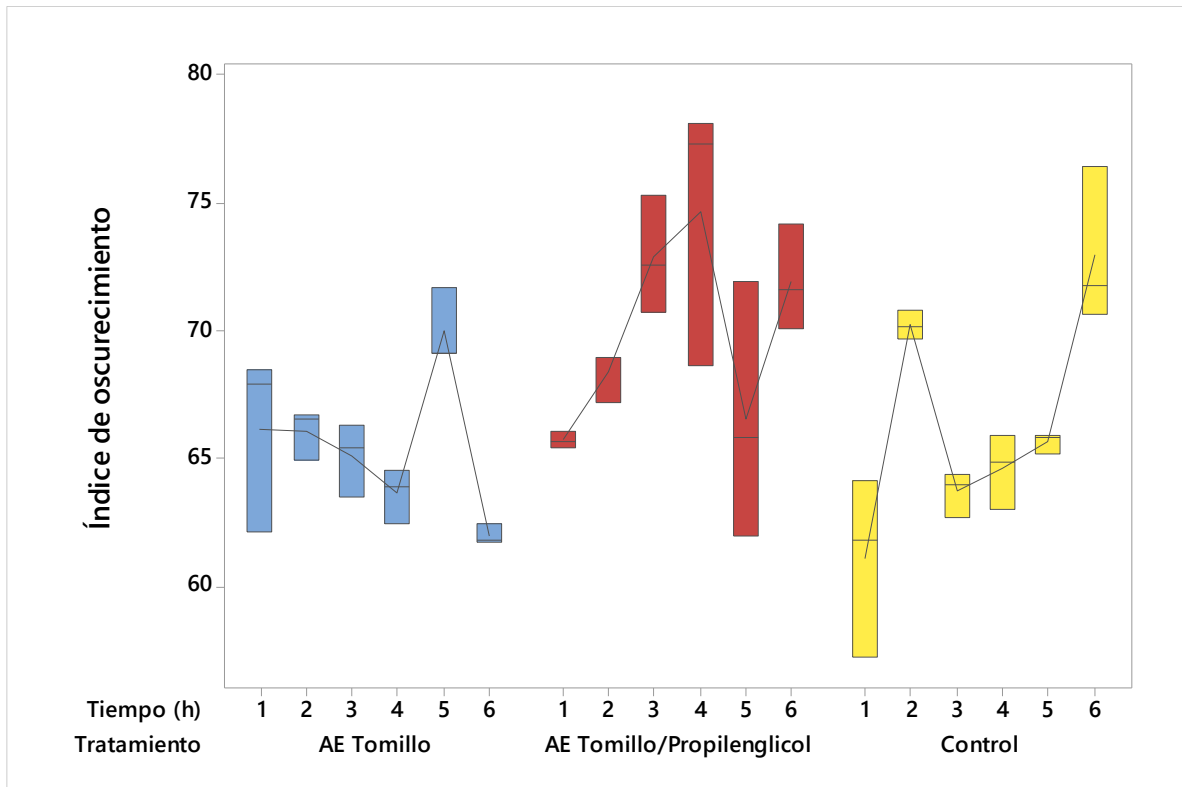


Figura 13. Cambios en el índice de oscurecimiento con aceite esencial de tomillo aplicados al puré de aguacate.

Otra característica del aceite esencial de tomillo, es que los compuestos fenólicos presentes en el extracto no son buenos sustratos de polifenoloxidasas, lo cual se ve reflejado en menor potencial de oscurecimiento enzimático del producto (Velázquez et al., 2013).

También fue estudiado el empleo de quitosán y α -tocoferol, los resultados se muestran en la Figura 14. Las muestras con quitosán elevaron el índice de oscurecimiento, no

teniendo ningún efecto sobre el puré de aguacate, ya que presentó los mismos resultados que el puré de aguacate sin tratamiento, yendo de 75 a 85. El α -tocoferol, también conocido como vitamina E, ayudó a que el puré de aguacate no tuviera oscurecimiento, pero si lo comparamos con los resultados obtenidos con aceite esencial de tomillo no fueron suficientes (Figura 13). Se optó por usar el aceite esencial de tomillo para potencializar su eficacia y aplicarlo en el puré de aguacate.

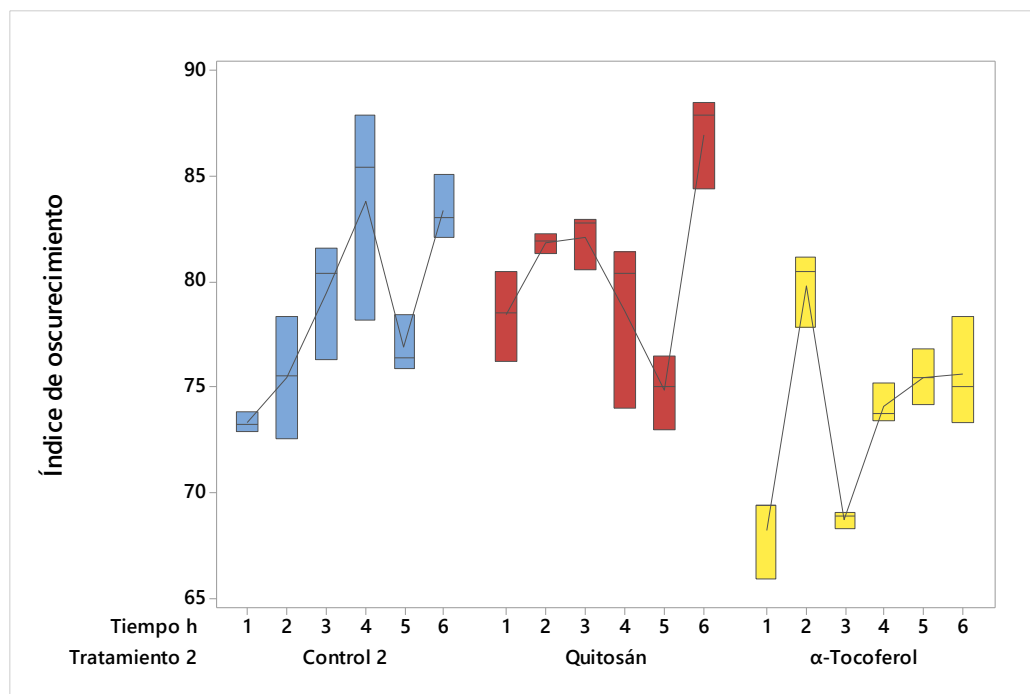


Figura 14. Cambios en el índice de oscurecimiento con quitosano y α -tocoferol aplicados al puré de aguacate.

Al comparar los polisacáridos, quitosán y alginato de sodio, los valores del alginato van desde los 70-73, por debajo de los valores obtenidos del quitosán (75-85), por lo que se escogió el alginato de sodio como polisacárido (Figura 15). Ambos polisacáridos se han probado como recubrimiento de frutas mínimamente procesadas, ya que debido a la naturaleza hidrofílica, los recubrimientos a base de polisacáridos pueden

proporcionar una barrera mínima de humedad, sin embargo, las propiedades de barrera de los gases modifican de manera deseable la atmósfera y aumentan la vida útil sin la creación de condiciones anaeróbicas severas. Por su parte, el alginato de sodio mantiene las propiedades mecánicas, espesor, permeabilidad y opacidad, influyendo por lo tanto, en parámetros como la pérdida de peso, el pH, los sólidos solubles totales, color y la firmeza y el quitosán brinda más ventajas sobre la actividad microbiana (Yousufa et al., 2018). Los resultados obtenidos permitieron descartar al quitosán como polisacárido soporte, ya que no brindaban los parámetros que se necesitan en la formación de nanopartículas funcionalizadas con aceite de tomillo.

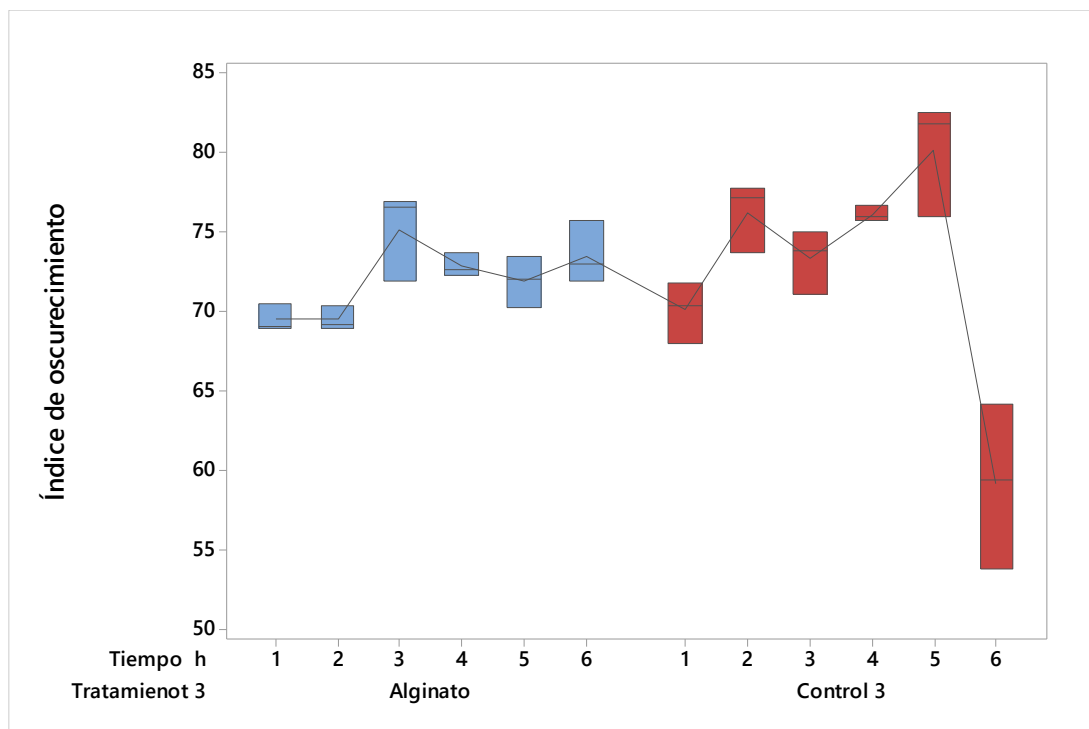


Figura 15. Cambios en el índice de oscurecimiento con alginato de sodio aplicado al puré de aguacate.

3.1.3. Selección de tiempos del ultrasonido

La Figura 16, muestra los cambios del índice de oscurecimiento en función a los diferentes tratamientos con respecto al control. La mayor velocidad de oscurecimiento la tuvo el aguacate tratado con pulsos de 20 s y sin pulsos a 20 s, sin embargo el tratamiento por 30 s fue el que presentó la menor velocidad. Otros estudios obtuvieron diferentes resultados con la misma frecuencia que se aplicó al puré de aguacate no teniendo efecto significativo, pero al aplicarlo a estas condiciones el incremento en el índice de oscurecimiento se debe a la liberación de fenoles por la generación de radicales libres y a la degradación de la clorofila. La razón de ésta degradación es debida al efecto de cavitación del ultrasonido, que podría inducir degradación química (generación de radicales libres) y mecánica de las biomoléculas (Bi et al., 2015).

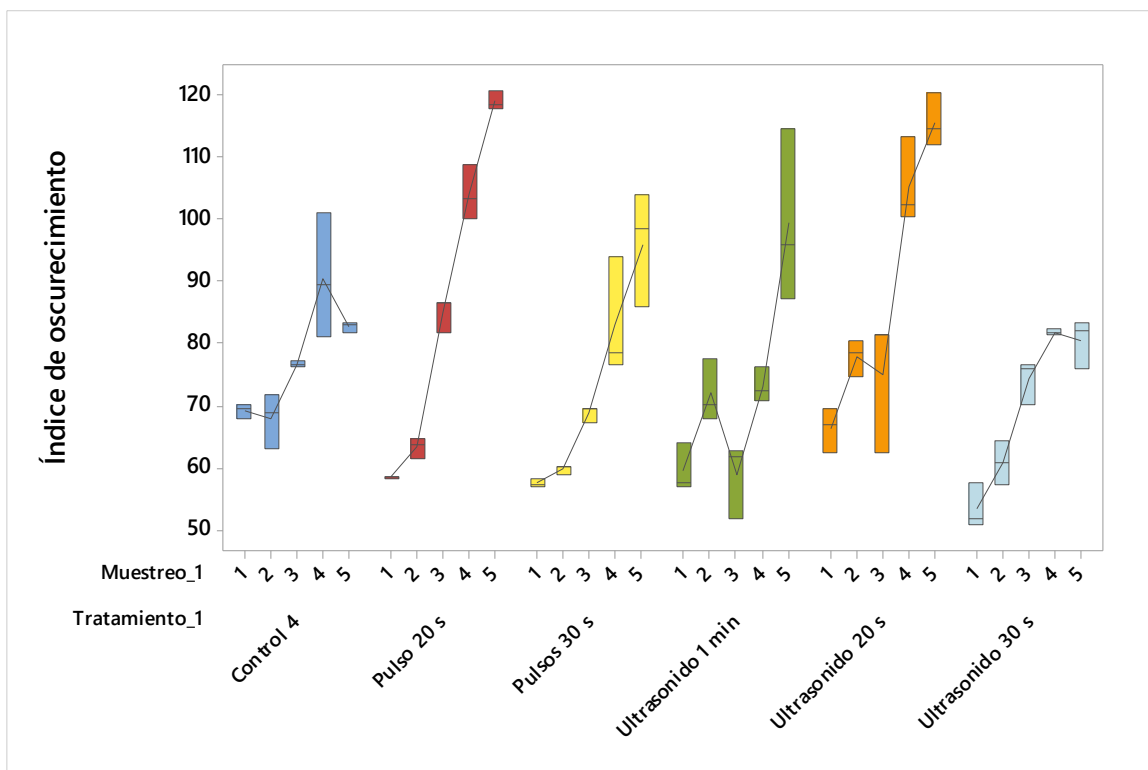


Figura 16. Cambios en el índice de oscurecimiento con ultrasonido a diferentes tiempos de sonicación.

3.2. Resultados experimentales

3.2.1. Parámetro a^*

La Figura 17, muestra los cambios en valores de a^* asociados al empleo de diferentes tratamientos con respecto a las muestras control. Los tratamientos con alginato-tomillo y alginato-tomillo-ultrasonido tienen valores de entre -9 y -8 en las muestras recién tratadas, valores que se fueron incrementando durante los 7 días en que se monitorearon las muestras con la finalidad de establecer la efectividad de los tratamientos.

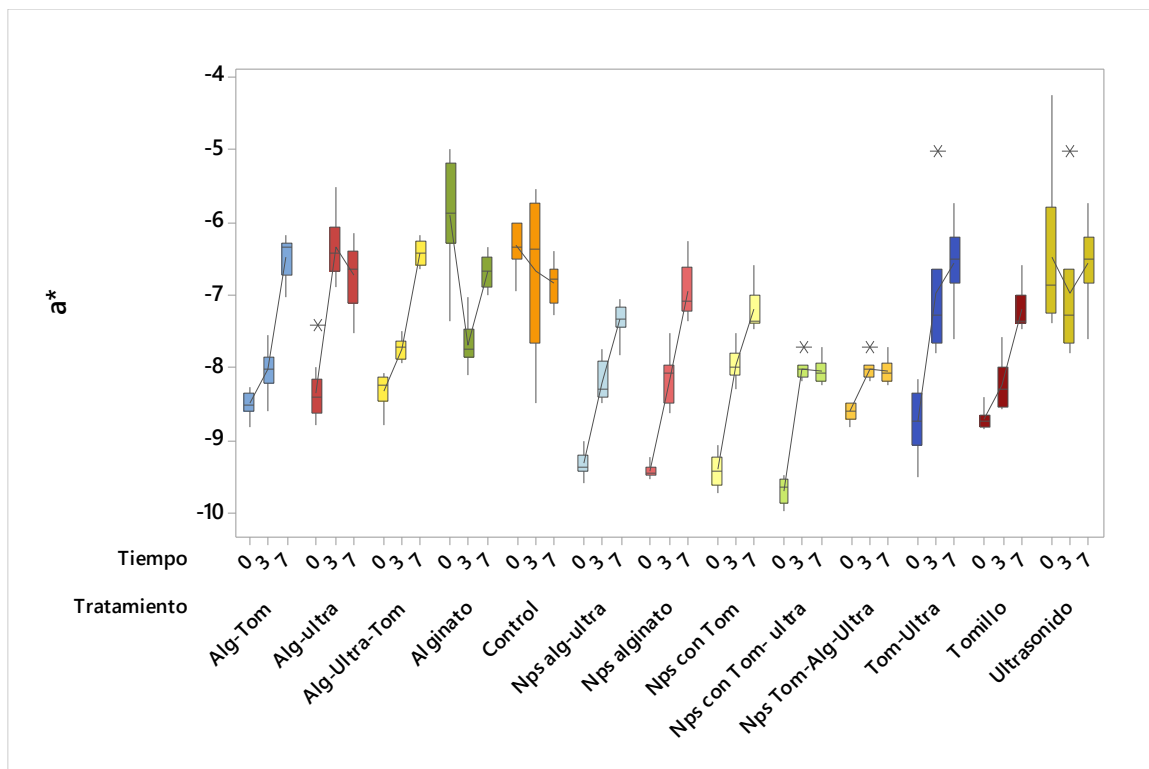


Figura 17. Cambios en el parámetro a^* con diferentes tratamientos durante el almacenamiento.

El control y el ultrasonido no tuvieron diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$), ya que mantuvieron el mismo valor de a^* durante los 7 días de

almacenamiento, al igual que las nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido. Aunque los dos primeros lotes presentaron más pérdida de color en el puré. Las muestras tratadas con nanopartículas de alginato-ultrasonido, nanopartículas de alginato, nanopartículas de alginato-tomillo y tomillo-ultrasonido tienen una disminución gradual conforme pasan los días de almacenamiento, en donde al primer día de muestreo presentan resultados de -9.5 y al séptimo día empiezan a perder la intensidad en el color verde, acercándose a valores más positivos, indicando que el puré de aguacate va perdiendo intensidad en el color. Por último se observa que los tratamientos con nanopartículas de alginato-tomillo-ultrasonido muestran valores de -9.8 al primer día de su muestreo, sin embargo, el valor disminuye al tercer día y se mantiene en -8 hasta el último día de almacenamiento sin diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$).

Valores que se alejan de cero significan que tienen un color más verde y valores que se acercan más, tienen una tonalidad más rojiza (Rettig, M y Hen, K. 2014), en este caso el cambio de color indica oscurecimiento enzimático en el puré de aguacate.

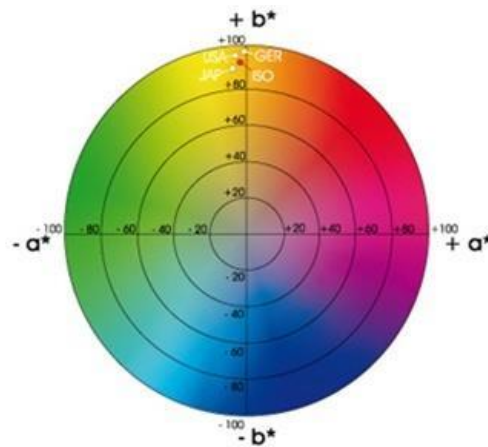


Figura 18. Gráfica de color CIEL*a*b*

Un comportamiento similar es obtenido por Zhou et al. (2016), que estudiaron el cambio en los parámetros L^* y a^* , aplicando microondas al puré de aguacate durante el almacenamiento, donde los valores de a^* aumentan significativamente en los primeros días, después los valores de a^* se mantienen constantes hasta el último día de almacenamiento mostrando resultados más positivos, acercándose al color rojo, representado en la gráfica de color en la Figura 18, resultado causado por el oscurecimiento enzimático en el puré de aguacate.

3.2.2. Luminosidad

La Figura 19, muestra los cambios en la luminosidad del puré de aguacate, donde el tratamiento con alginato-tomillo no presenta diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$), aumentando su luminosidad de 64 a 66 conforme pasan los días. En el control, y en los tratamientos con nanopartículas de alginato y nanopartículas de alginato-ultrasonido se observa que en el primer día de muestreo la luminosidad presenta valores de 60 y al tercer día de almacenamiento los resultados aumentan a 67 y se mantienen constantes hasta el séptimo día del monitoreo de su comportamiento, sin diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$) entre ellas.

Se presenta también que los tratamientos de alginato-ultrasonido-tomillo, nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido, tomillo y alginato no muestran diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$), ya que sus valores se mantienen en el mismo rango. Los tratamientos con nanopartículas de alginato-tomillo y nanopartículas de alginato-tomillo-ultrasonido presentan un aumento del 4% en la luminosidad por lo que no hay diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$). Por último, en los resultados de ultrasonido se observa que en el primer día de almacenamiento su luminosidad es de 69 pero conforme pasaron los días de almacenamiento este valor disminuyó, comportamiento diferente al resto de los tratamientos.

Los resultados obtenidos de luminosidad indican la intensidad lumínica en el aguacate, es decir, su grado de claridad (X-Rite, Incorporated. 2002). También es un excelente

índice de evaluación de color en frutas y vegetales ya que se puede asociar con el oscurecimiento enzimático causado por enzimas contenidas en el fruto o vegetal (Aguayo et al. 2014).

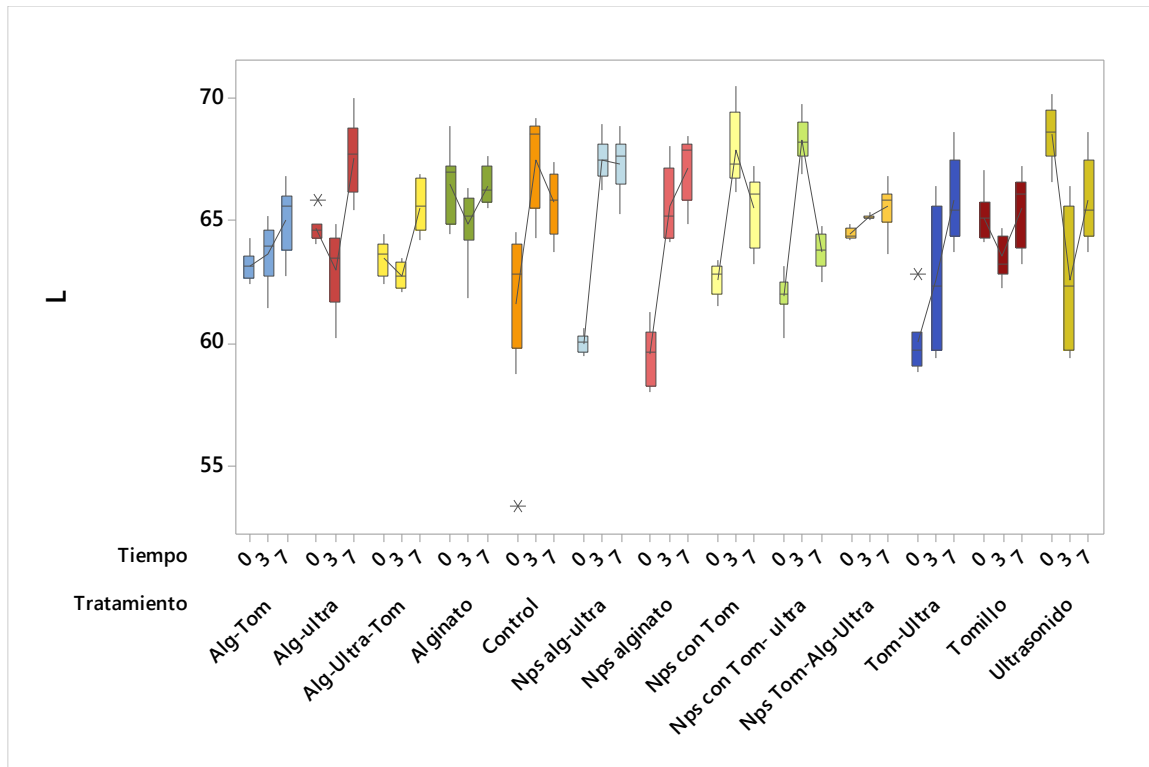


Figura 19. Cambios en la luminosidad con diferentes tratamientos durante el almacenamiento.

Velázquez, et al. (2013), demostraron que el uso de aceites antioxidantes naturales, como el romero y tomillo en el puré de aguacate y tratados a altas presiones, no tienen diferencias significativas en la luminosidad de las muestras, sin embargo, presentan cambios colorimétricos más relevantes en los valores del parámetro a^* . Otro estudio escrito por Bi et al. (2015), obtienen resultados similares, ya que al aumentar los valores de L^* , los parámetros de a^* y b^* disminuían empleando ultrasonido en el puré de aguacate, los resultados de L^* aumentaron debido a la degradación química o mecánica de las biomoléculas causadas por la cavitación.

3.2.3. ΔE

Los resultados de la Figura 20 presentan la cuantificación en los cambios de color en el puré de aguacate. Los tratamientos con alginato-tomillo, alginato-ultrasonido, alginato-tomillo-ultrasonido, tomillo-ultrasonido y tomillo, presentan una ligera variación con respecto al tiempo de almacenamiento, ya que sus valores iniciales empiezan en uno y terminan en dos al último día de muestreo, por lo tanto, no presentan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$). Por otro lado, se observa una ligera disminución en los valores de ΔE del control y en los tratamientos con alginato, nanopartículas de alginato, nanopartículas de alginato-ultrasonido y ultrasonido, donde en el primer día los valores son de 2 a 3 y en el último día es de uno.

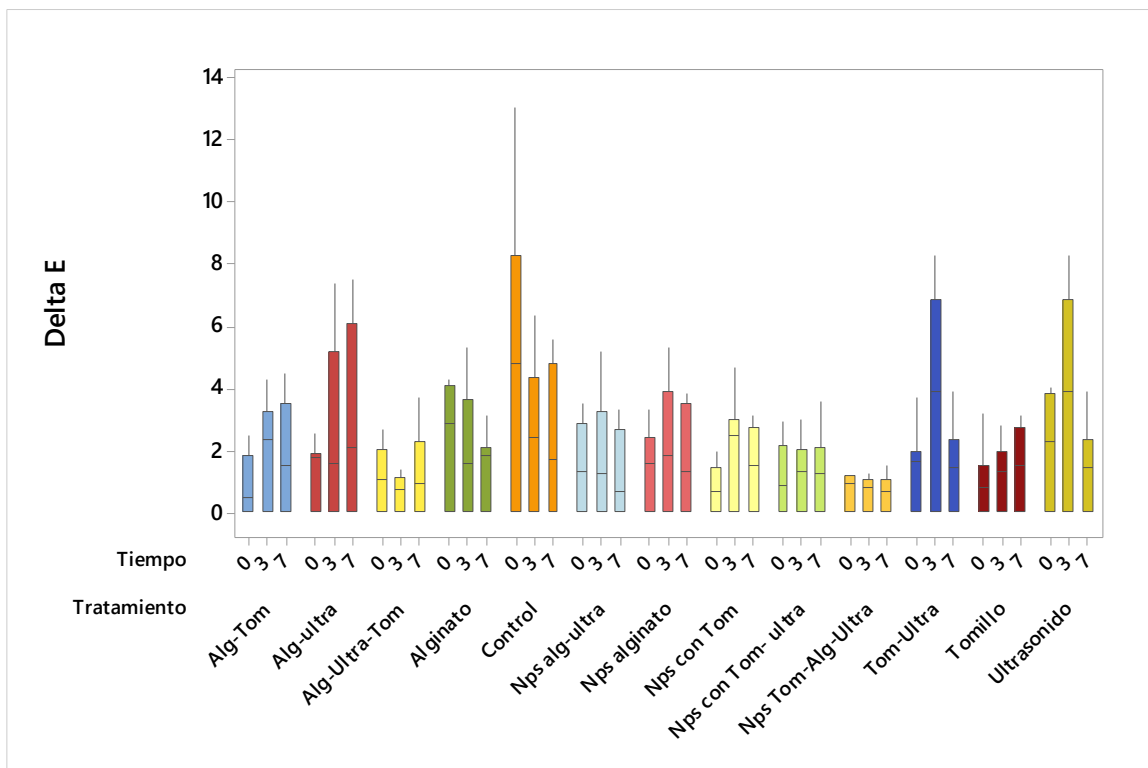


Figura 20. Cambios en ΔE con diferentes tratamientos durante el almacenamiento.

Por último, se observa que los resultados de alginato-ultrasonido-tomillo, nanopartículas de alginato-ultrasonido y tomillo-ultrasonido no presentan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$) manteniendo el mismo valor de uno durante los siete días de almacenamiento.

Los resultados son similares a los obtenidos por Soliva et al. (2001), donde ΔE es altamente relacionado con la luminosidad, los valores incrementan ligeramente y esta evolución la asocian al tipo de oxidante y a los factores en conjunto que afectan el oscurecimiento enzimático.

3.2.4. Índice de oscurecimiento

El índice de oscurecimiento representa el color marrón real del puré de aguacate causado por reacciones enzimáticas y no enzimáticas (Cefola et al., 2012). En la Figura 21 el gráfico de caja muestra los resultados que se obtuvieron del índice de oscurecimiento de cada tratamiento. En las muestras de alginato, alginato-tomillo-ultrasonido, nanopartículas de tomillo-ultrasonido y nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido los valores del índice de oscurecimiento, no presentan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$), ya que desde el primer día de monitoreo hasta el último día los resultados se comportan de la misma manera. En contraste, los tratamientos con alginato-tomillo en los primeros días de almacenamiento presentan valores del índice de oscurecimiento de 24 y conforme pasan los días de almacenamiento se observa un aumento progresivo llegando a valores de 31. Mismo comportamiento presentan los resultados de tomillo-ultrasonido, tomillo y ultrasonido.

Las muestras que presentan un comportamiento similar son las tratadas con nanopartículas de alginato, nanopartículas de alginato-ultrasonido y el control, aumentando sus valores un 75% en el día tres y se mantiene este valor hasta el día 7 de almacenamiento sin diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$).

Un estudio realizado por Zambrano-Zaragoza et al. (2014), donde utilizaban nanorecubrimientos con α -tocoferol y goma xantana, demostraron un incremento en el parámetro de a^* lo que asociaban también al aumento en el índice de oscurecimiento.

Obtuvieron resultados similares que van desde los 20 hasta los 48 y esto debido a la rápida absorción de las nanoemulsiones.

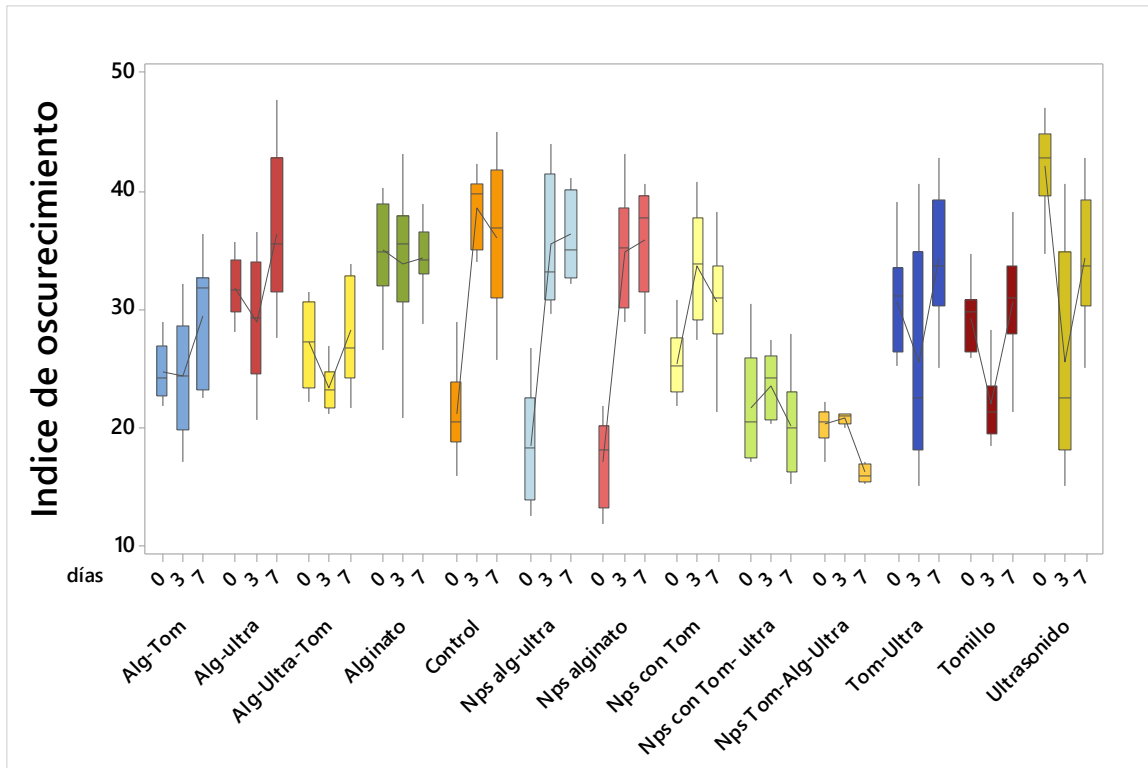


Figura 21. Cambios en el índice de oscurecimiento con diferentes tratamientos durante el almacenamiento.

En este trabajo, respecto a los días de almacenamiento, se observa que en general, los tratamientos con alginato-tomillo-ultrasonido, nanopartículas con tomillo-ultrasonido y nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido presentaron el menor índice de oscurecimiento con respecto a los demás tratamientos. Estos lotes presentan la combinación de tres de las tecnologías que mejoran o retardan la actividad de enzimas oxidantes, así como la concentración de fenoles totales (Bill et al., 2014) contribuyendo a que el índice de oscurecimiento no aumentara.

3.2.5. Cambios en la actividad enzimática polifenoloxidasas

La Figura 22 presenta los resultados obtenidos de la actividad polifenoloxidasas correspondientes a los tratamientos aplicados durante siete días de almacenamiento siguiendo la metodología previamente descrita. Se observa que los tratamientos con alginato-tomillo, alginato-ultrasonido-tomillo, tomillo y el control presentan el mismo comportamiento alcanzando valores máximos al tercer día de almacenamiento y al séptimo día hay una notable disminución. El único lote que presenta una disminución conforme pasan los días son las nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido.

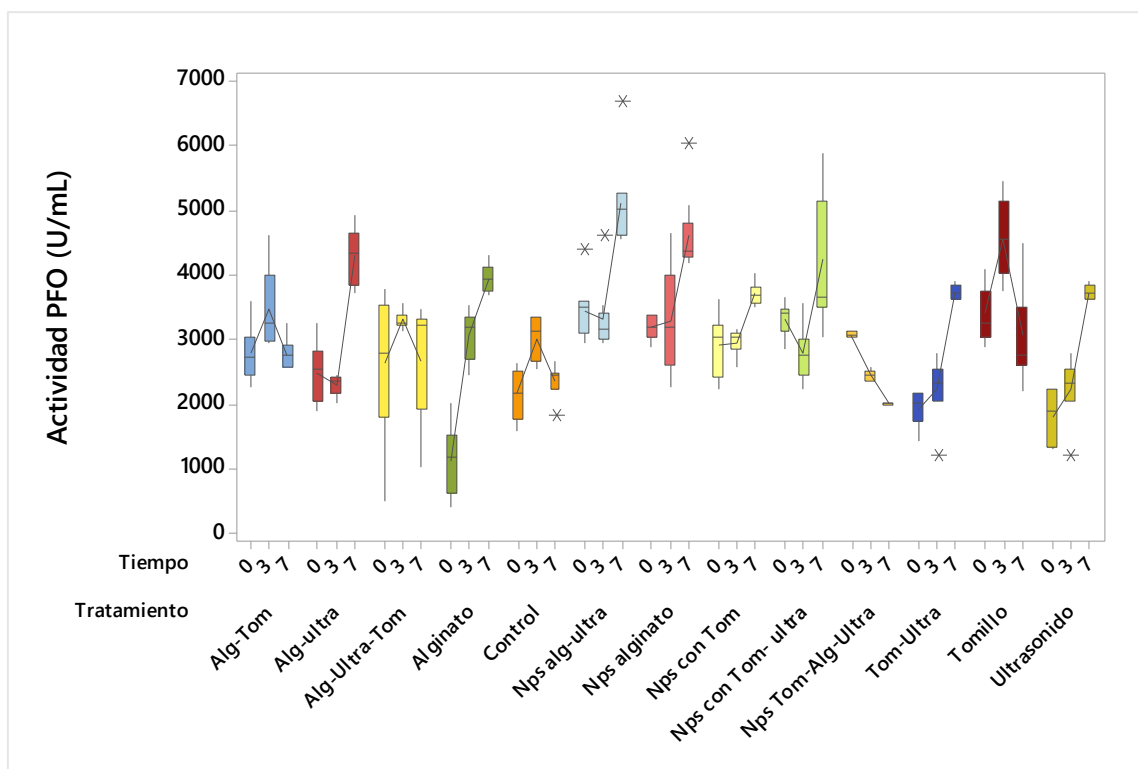


Figura 22. Cambios en la actividad polifenoloxidasas durante el almacenamiento.

El efecto de inhibición observado se debe a la reducción de las orto-quinonas generadas por la acción de la enzima sobre los compuestos fenólicos. Según Selvam et al. (2013), el comportamiento de los componentes del aceite esencial del tomillo,

muestran la capacidad de aumentar los niveles de antioxidantes (polifenoles, flavonoides, antocianinas) previniendo la degradación de éstos metabolitos secundarios y la capacidad de absorción de oxígeno en los tejidos de las plantas promoviendo una mayor actividad de polifenoloxidasas.

Con respecto a los demás tratamientos hubo un incremento significativo de la actividad polifenoloxidasas, lo que coincide también con el índice de oscurecimiento ya que este se incrementó en proporción a la actividad polifenoloxidasas. La causa del aumento de la actividad de la enzima polifenoloxidasas en los tratamientos con ultrasonido es debido a la liberación de la enzima debido a la ruptura de las células, facilitando la liberación de compuestos fenólicos, dando lugar a una mayor actividad de la polifenoloxidasas. El aumento en las actividades de las enzimas es parte de la respuesta del estrés de la planta a un estímulo mecánico, lo que sugiere daño físico y permeabilización de las células por medio del ultrasonido (Bi et al., 2015).

Blach et al. (2007), relacionan otra de las causas en el aumento de la actividad polifenoloxidasas con la acción en el último paso de polimerización de los alcoholes cinamáticos para formar ligninas, evidenciando la responsabilidad del proceso de lignificación en el oscurecimiento de tejidos sometidos a daño mecánico y almacenamiento durante periodos determinados y asocian el aumento de la actividad de la polifenoloxidasas con la lignificación de la pared celular en respuesta al corte y estrés.

3.2.6. Cambios en la actividad enzimática peroxidasa

La Figura 23 muestra los resultados obtenidos en donde los tratamientos de alginato presentan un aumento en la actividad peroxidasa desde el tercer día de almacenamiento. El valor más alto registrado es presentado por nanopartículas de tomillo.

Por otro lado, el control, las nanopartículas de tomillo-ultrasonido y tomillo-ultrasonido se aprecia un notable incremento en el día 3 de almacenamiento y éste disminuye al

día 7. Los tratamientos que presentan una actividad de la enzima peroxidasa más bajos son el alginato-ultrasonido-tomillo y las nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido. Estos últimos lotes junto con alginato-tomillo, alginato-ultrasonido, nanopartículas de alginato-ultrasonido, nanopartículas de alginato, tomillo y ultrasonido presentan el mismo comportamiento al disminuir la actividad peroxidasa conforme pasa el tiempo de almacenamiento.

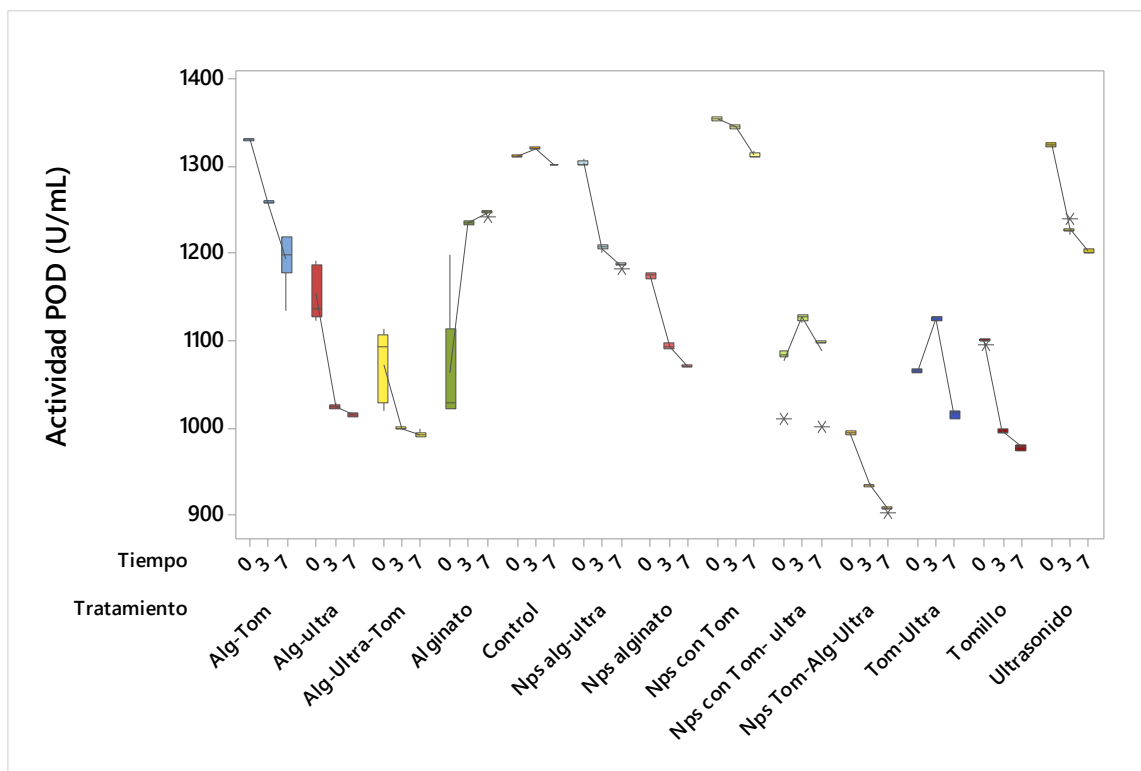


Figura 23. Cambios en la actividad peroxidasa durante el almacenamiento.

Cabe destacar que varios autores atribuyen el oscurecimiento enzimático en el aguacate por efecto de la polifenoloxidasas y no de la peroxidasa debido a la poca disponibilidad de peróxido de hidrógeno a nivel interno, sin embargo Luna (2012), propuso que la polifenoloxidasas podría actuar como promotora de la actividad peroxidasa, por generar H_2O_2 durante la oxidación de algunos compuestos fenólicos.

En primer lugar la polifenoloxidasas genera H_2O_2 dependiendo de la estructura del fenol y finalmente las quinonas generadas serán sustratos peróxido de peroxidasas, por lo que se produce un efecto sinérgico entre ambas enzimas en la aparición del oscurecimiento (Tomás-Barbrán y Espín, 2001).

3.2.8. Cambios en la concentración de fenoles totales

En la Figura 24, se muestra el contenido de fenoles totales en el puré de aguacate con los diferentes tratamientos obtenidos por medio de la técnica previamente descrita durante el periodo de almacenamiento.

Las muestras con alginato-tomillo, alginato-ultrasonido-tomillo, nanopartículas de tomillo, nanopartículas de tomillo-ultrasonido, nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido y tomillo presentaron un descenso de la concentración de fenoles a lo largo del periodo de almacenamiento. Según Arévalo-Galarza et al. (2002), este comportamiento es normal debido a que los compuestos fenólicos son convertidos a quinonas los cuales se polimerizan y forman grandes cadenas poliméricas que sirven en autodefensa de la planta; sin embargo, desde el punto de vista alimenticio esto no es agradable ya que pierde calidad y valor nutricional.

El puré de aguacate tratado con alginato-ultrasonido, tomillo-ultrasonido y ultrasonido presentan un incremento en la concentración de fenoles totales durante el periodo de almacenamiento, conduciendo a la polimerización de los fenoles en la pared celular, proceso conocido como lignificación (Selvam et al., 2013). Un estudio realizado en 2018 por Cao et al., presenta el mismo comportamiento al tratar puré de aguacate con ultrasonido, aumentando la concentración de fenoles totales debido a la ruptura mecánica de la pared celular del aguacate.

La concentración de fenoles totales durante los 7 días de almacenamiento en puré de aguacate tratados con alginato, nanopartículas de alginato con y sin ultrasonido, así como las nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido no presentan diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$) con respecto al tiempo. En contraste, disminuyen la concentración en comparación a la muestra control.

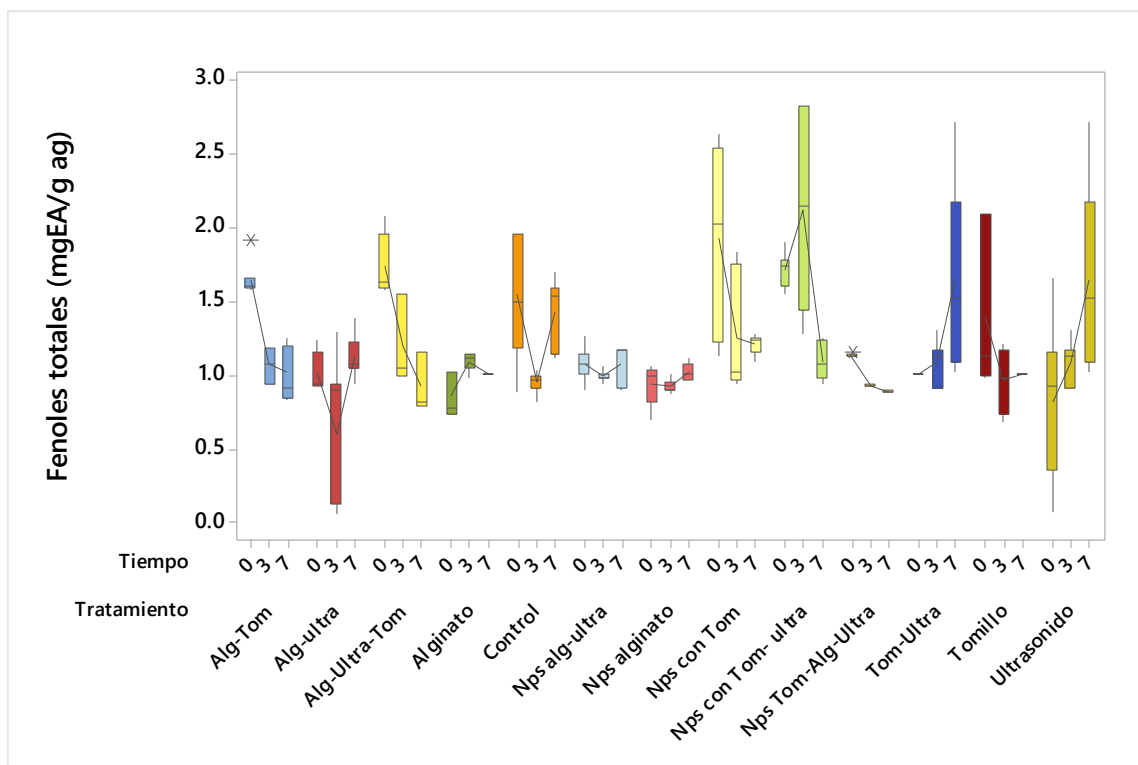


Figura 24. Cambios en la concentración de fenoles totales durante el almacenamiento.

3.2.9. Firmeza

La firmeza es el resultado de la degradación de la pared celular que resulta por la adición de cualquier tratamiento, lo que acelera la actividad metabólica y la pérdida de agua en los productos. De acuerdo con la Figura 25, durante el muestreo del puré de aguacate en almacenamiento, los resultados no presentan diferencias estadísticamente significativas entre cada tratamiento, pero refiriéndose a los días de almacenamiento, sí existe una diferencia.

En los tratamientos con alginato-tomillo se observa un ligero aumento de la firmeza en el transcurso del tiempo de almacenamiento, mismo comportamiento observamos en los lotes con nanopartículas de alginato-ultrasonido, nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido y nanopartículas de tomillo-ultrasonido mostrando un efecto benéfico ayudando a reducir la pérdida de firmeza en el puré de aguacate manteniendo

la estructura celular del fruto. Efecto contrario apreciamos en los tratamientos con alginato-ultrasonido, alginato-ultrasonido-tomillo, alginato, control, nanopartículas de alginato, nanopartículas con tomillo, tomillo-ultrasonido, tomillo y ultrasonido presentando una disminución gradual en los valores de firmeza después de los siete días de almacenamiento.

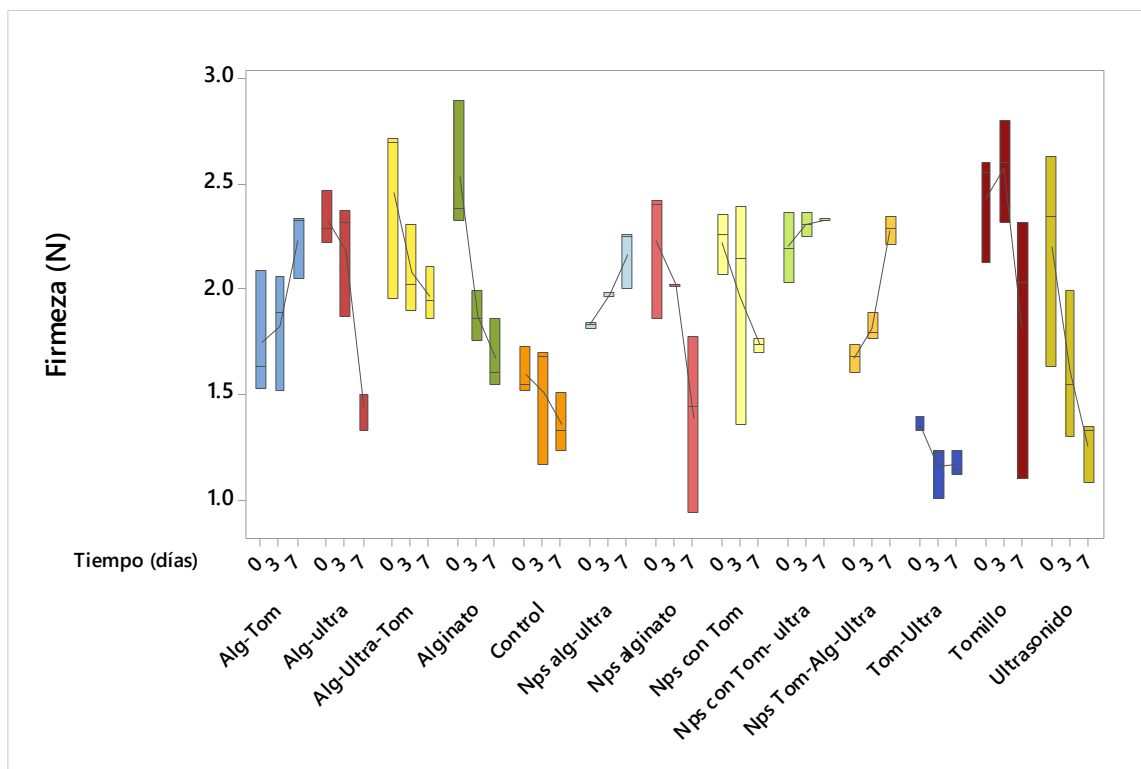


Figura 25. Cambios en firmeza con diferentes tratamientos durante el almacenamiento.

El ablandamiento es el principal aspecto del proceso de maduración en los frutos de aguacate, como consecuencia de modificaciones en la composición y estructura de la pared celular. Los cambios ocurridos son debidos a la hidrólisis de los compuestos pécticos presentes en la pared celular, por la acción de enzimas pectinasas, poligalacturonasas, celulasas y amilasas, asociados a la pérdida de turgencia celular

debida a la transpiración, dando como resultado final el ablandamiento de los frutos de aguacate (Márquez et al., 2014).

3.2.10. Análisis de perfil de textura

En la Figura 26 se observan los cambios en la dureza correspondiente al primer ciclo en el APT durante el almacenamiento a 2°C de puré de aguacate envasado al vacío con diferentes tratamientos, que representa la fuerza que se requerirá durante la primera mordida y la Figura 27 representa los cambios en la dureza correspondiente al segundo ciclo en el ATP que significan la fuerza necesaria para alcanzar una deformación.

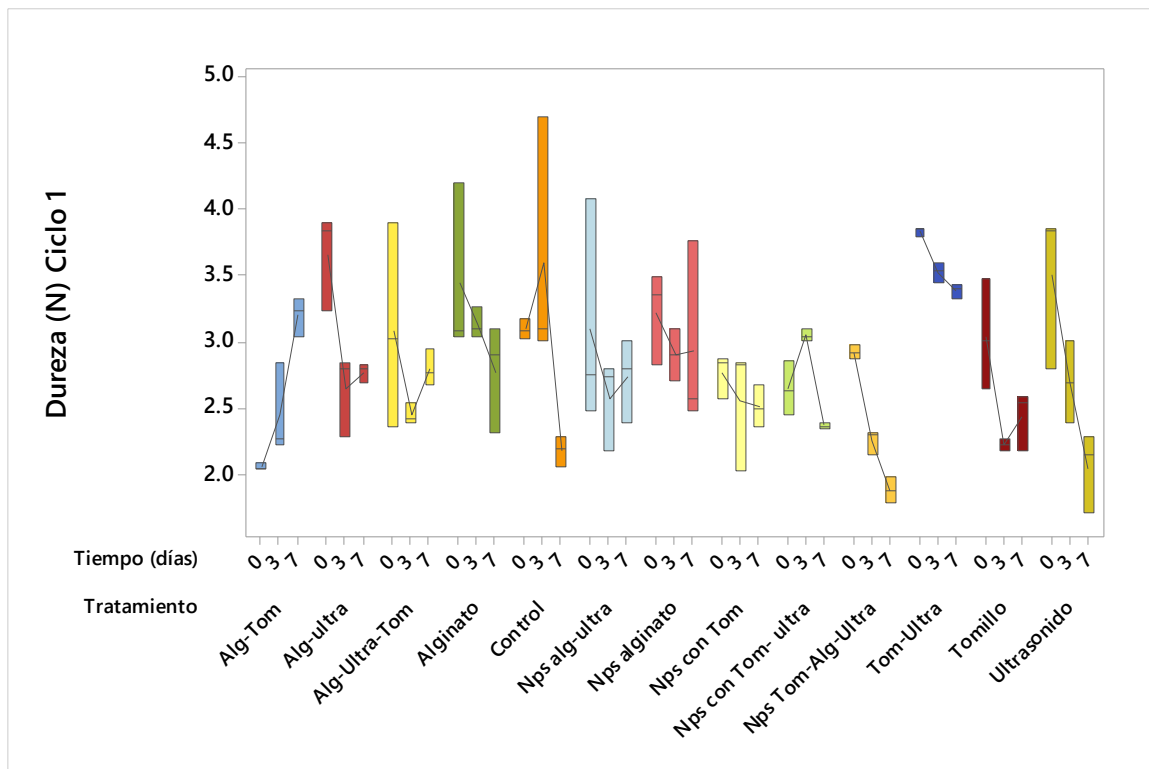


Figura 26. Cambios en la dureza correspondiente al primer ciclo en el ATP durante el almacenamiento.

Para la dureza del ciclo 1 no se observan diferencias significativas en el análisis estadístico para los tratamientos de alginato, nanopartículas de alginato-ultrasonido, nanopartículas de alginato, nanopartículas de tomillo y tomillo. En la muestra con alginato-tomillo se presenta un ligero aumento de dureza debido a que el alginato brindó una ligera rigidez al puré de aguacate.

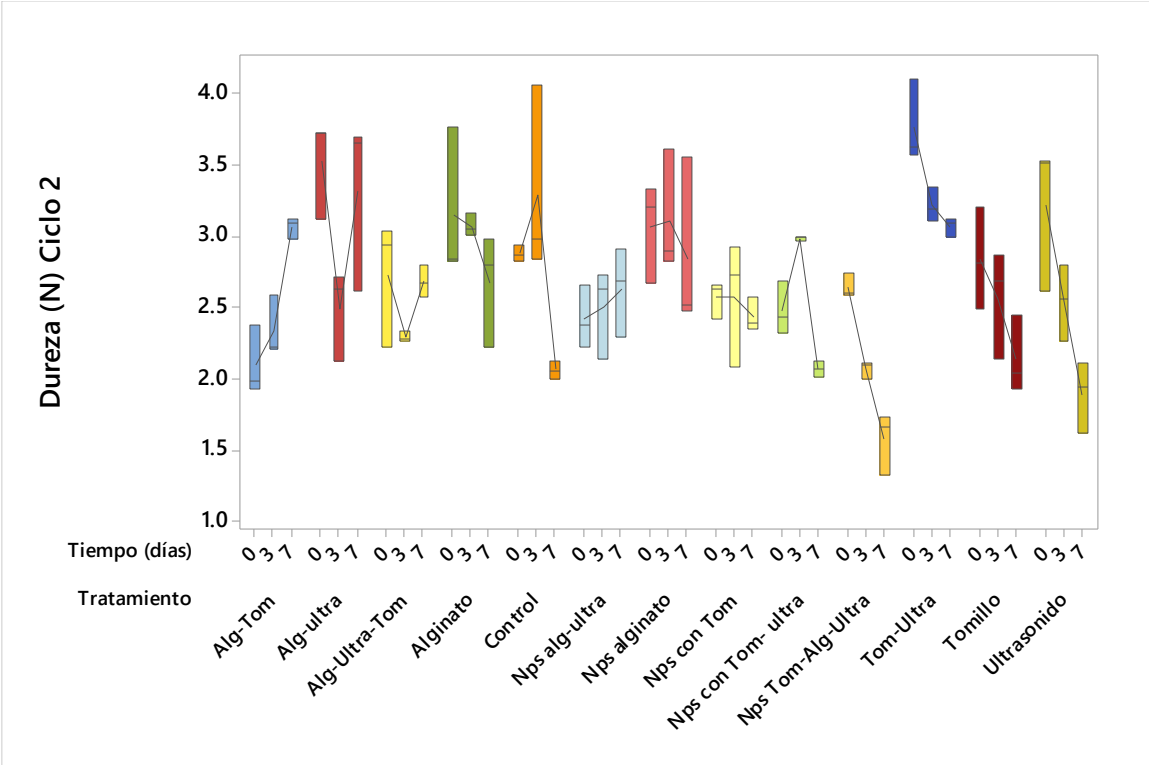


Figura 27. Cambios en la dureza correspondiente al segundo ciclo en el ATP durante el almacenamiento.

La Figura 27, muestra los cambios en dureza en el segundo ciclo de compresión durante el almacenamiento de puré de aguacate. Se observa que las muestras con alginato-ultrasonido, alginato, control, nanopartículas de alginato, nanopartículas de tomillo, nanopartículas de tomillo ultrasonido, nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido, tomillo-ultrasonido, tomillo y ultrasonido, al someterlos a la segunda

compresión, la dureza presenta una leve disminución en los resultados. Esto se debe a la consistencia que le brinda el aceite esencial de tomillo, el alginato de sodio, el ultrasonido y las nanopartículas, ya que al añadirlas al puré de aguacate pierde la consistencia inicial, haciéndolo más suave al paladar. Cabe destacar que la dureza del puré de aguacate no presenta diferencias significativas del ciclo 1 al 2, esto quiere decir que aun añadiendo ingredientes que brinden suavidad al producto, la muestra retiene su capacidad de recuperación tras ser sometida a una fuerza.

3.2.11. Adhesividad

La Figura 28 muestra los cambios de adhesividad en puré de aguacate almacenados a 2°C.

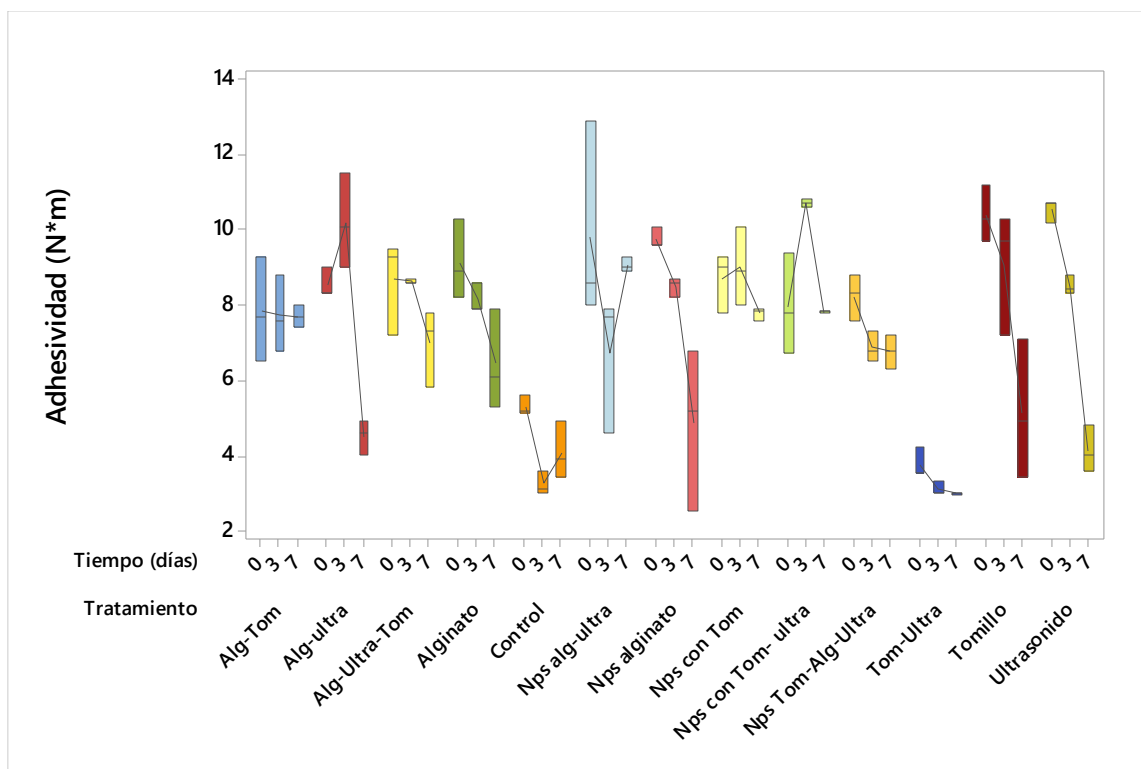


Figura 28. Cambios de adhesividad del puré de aguacate durante el almacenamiento.

Los tratamientos con alginato-tomillo, nanopartículas de tomillo y tomillo ultrasonido se presentaron sin diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0.05$) durante el almacenamiento, en valores de entre 8, 9 y 3, respectivamente. Por su parte, la adhesividad del puré tratado con alginato-ultrasonido, alginato-tomillo-ultrasonido, alginato, nanopartículas de alginato, nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido, tomillo y ultrasonido presenta una disminución gradual conforme los días de almacenamiento. Los valores de adhesividad más bajos se presentaron en los lotes de puré de aguacate a los cuales se les incorporaron aceite esencial de tomillo con ultrasonido y el control, es importante resaltar que los resultados obtenidos indican que la textura del puré para estos tratamientos se pueden adherir con facilidad al paladar al momento de consumirlo. En cambio, los demás tratamientos presentan una adhesividad entre 6 a 12, indicando que el trabajo que se necesitó para separar la placa del puré costó menos trabajo.

3.2.12. Cohesividad

En la Figura 29 se observan los cambios en la cohesividad del puré de aguacate almacenados a 2°C. El lote tratado con alginato-tomillo, no presenta diferencias estadísticamente significativas ($\alpha = 0.05$) con valores de entre 0.8 y 0.7. Comportamiento similar se presentó en los tratamientos con nanopartículas de alginato-ultrasonido, nanopartículas de alginato, nanopartículas de tomillo-ultrasonido, nanopartículas de tomillo-alginato-tomillo y ultrasonido. Sin embargo su cohesividad fue de 0.7 a 0.6. Los cambios presentados representan la fuerza con la que están unidas las partículas, límite hasta el cual puede deformarse antes de romperse, indicando que las partículas en el tratamiento de alginato-tomillo-ultrasonido están fuertemente unidas debido al efecto que el ultrasonido tiene sobre el polisacárido y el aceite esencial de tomillo. En cambio si no se aplica el polisacárido (alginato) este pierde la unión entre las partículas del aceite de tomillo con el aguacate perdiendo también su firmeza.

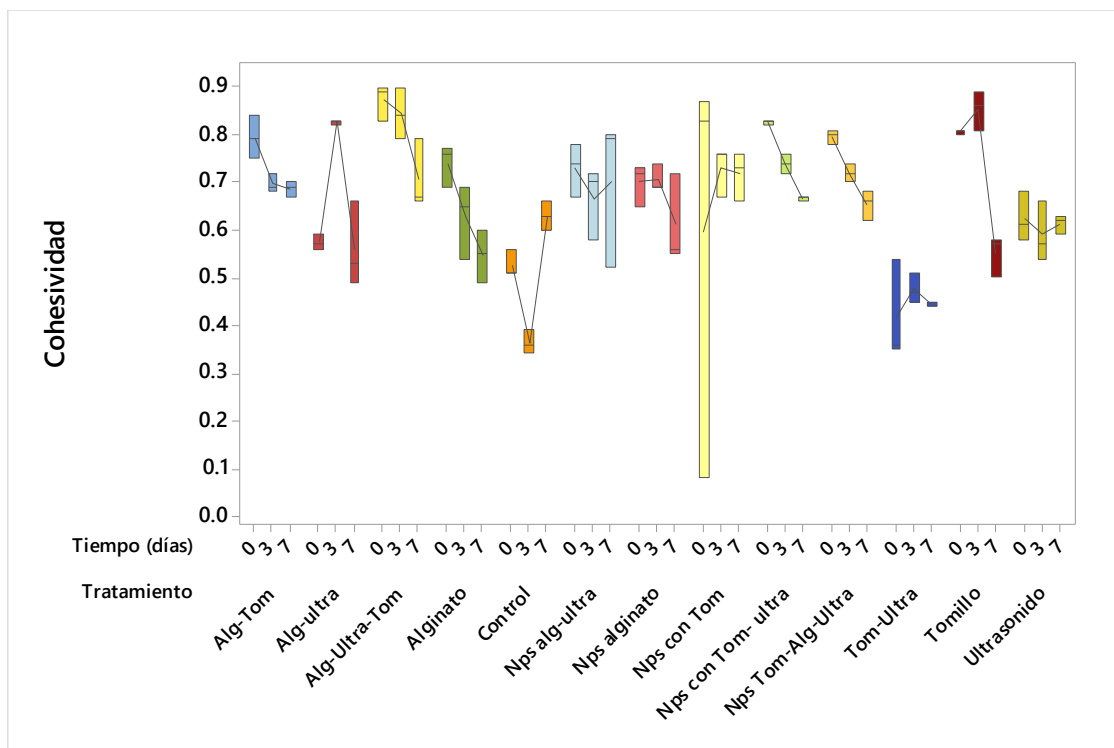


Figura 29. Cambios en la cohesividad del puré de aguacate durante el almacenamiento.

3.2.13. pH

Los análisis de pH durante el periodo de almacenamiento para los diferentes tratamientos se presentan en la Tabla 4. De acuerdo con Aguirre et al. (2017), el puré de aguacate tiene un pH característico cercano a la neutralidad, como lo muestran la mayoría de los tratamientos y su valor disminuye gradualmente conforme los días de almacenamiento transcurren debido a la adición de ácidos presentes en los mismos extractos.

Los resultados obtenidos, que van de 7.13, siendo el valor más alto y 5.14 el más bajo, afines a los resultados reportados por Henríquez et al. (2012), permiten proponer que los cambios en los valores de pH que se observaron durante el almacenamiento de los diferentes tratamientos de puré de aguacate, se atribuyen a la liberación de ácidos

orgánicos hacia la matriz del puré. El tratamiento con ultrasonido muestra el valor de pH inicial más alto (7.13), seguido por alginato-ultrasonido (7.02) y aceite esencial de tomillo (7.01). Siguiendo su comportamiento todos los lotes presentan un descenso en el pH para el séptimo día, que podemos relacionarlo con la inactivación de la actividad enzimática de la polifenoloxidasasa (Vanini et al., 2010).

Tabla 4. Cambios en el pH respecto al tratamiento y tiempo de almacenamiento.

Tratamiento	Día 0		Día 3		Día 7	
	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	Σ
Control	6.96	0.088	6.64	0.034	5.49	0.074
Ultrasonido	7.13	0.07	6.82	0.05	5.84	0.01
Alginato de sodio	6.9	0.18	6	0.027	5.36	0.027
Alginato - ultrasonido	7.02	0.09	6.34	0.03	5.62	0.02
Tomillo	7.01	0.05	6.11	0.05	5.91	0.015
Tomillo-ultrasonido	6.80	0.06	6.82	0.05	5.52	0.02
Alginato-tomillo	6.62	0.04	6.21	0.05	5.55	0.017
Alginato-tomillo-ultrasonido	6.75	0.05	6.02	0.04	5.55	0.017
Nps de tomillo	6.79	0.016	6.23	0.025	5.91	0.12
Nps de tomillo-ultrasonido	6.84	0.04	6.18	0.01	5.74	0.017
Nps de tomillo-alg	6.91	0.015	6.92	0.06	6.41	0.02
Nps de alginato-tomillo-ultrasonido	6.81	0.04	6.38	0.011	6.59	0.03
Nps de alginato	6.24	0.015	6.02	0.02	5.92	0.012

Los resultados obtenidos en este trabajo no presentan diferencias estadísticamente significativas y son similares a estudios realizados en 2013 por Velázquez et al. En los que se concluye que la mínima variación de pH no representa influencia significativa sobre los atributos de calidad y vida útil del puré de aguacate. Aunque para potencializar la inactivación de enzimas como la polifenoloxidasas, se necesita reducir el pH a los valores alejados de su actividad y estabilidad óptimas.

2.2.14. Actividad de agua (Aw)

La actividad del agua constituye un parámetro crítico porque influye en la seguridad y las propiedades mecánicas de los productos alimenticios (Dantas et al., 2018).

Tabla 5. Cambios en la actividad de agua respecto al tratamiento y tiempo de almacenamiento.

Tratamiento	Día 0		Día 3		Día 7	
	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ
Control	0.97	0.0005	0.976	0.001	0.975	0.002
Ultrasonido	0.975	0.003	0.974	0.001	0.974	0.001
Alginato de sodio	0.976	0.001	0.976	0.0005	0.973	0.001
Alginato -ultrasonido	0.973	0.001	0.973	0.002	0.972	0.001
Aceite esencial de tomillo	0.973	0.001	0.974	0.001	0.975	0.001
Tomillo-ultrasonido	0.971	0.002	0.972	0.001	0.972	0.0005
Alginato-tomillo	0.971	0.001	0.971	0.001	0.971	0.001
Alginato-tomillo-ultrasonido	0.974	0.002	0.973	0.001	0.973	0.001
Nps de tomillo	0.970	0.0005	0.970	0.001	0.970	0.001
Nps de tomillo-ultrasonido	0.970	0.001	0.970	0.001	0.970	0.001
Nps de tomillo-alginato	0.972	0.001	0.972	0	0.972	0.001
Nps de tomillo-alginato-ultrasonido	0.972	0.001	0.972	0.001	0.972	0.0005
Nps de alginato	0.970	0.001	0.970	0.002	0.970	0.001

De acuerdo a los resultados de la Tabla 5 obtenidos durante el muestreo de la experimentación, los tratamientos control, alginato de sodio, alginato-ultrasonido, ultrasonido, tomillo-ultrasonido y alginato-tomillo-ultrasonido presentan una disminución durante los 7 días de almacenamiento, debido a que la aplicación de ultrasonido rompe la estructura del puré de aguacate causando un proceso de desecación y los tratamientos con alginato disminuyen debido a que este polisacárido ocupa el agua habida en el puré, dándole cierta estructura.

La actividad de agua del puré de aguacate con alginato de sodio-tomillo, nanopartículas de tomillo, nanopartículas de tomillo-ultrasonido, nanopartículas de tomillo-alginato, nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido y nanopartículas de alginato se mantuvieron estables durante los siete días de almacenamiento, lo cual implica que no se tuvieron diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0.5$) en ese periodo.

Los resultados mencionados anteriormente, comprueban que ninguno de los tratamientos modificó las propiedades coligativas, reológicas ni de textura, ya que éstas dependen del contenido de agua en el alimento, aun cuando este influye definitivamente en las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas del propio alimento (Badui, 1999).

CONCLUSIONES

La actividad de agua del puré de aguacate disminuye con el tratamiento ultrasónico durante su almacenamiento al vacío y refrigerado, sin embargo se demostró que el procesamiento con nanopartículas de aceite esencial de tomillo solas y en conjunto con el ultrasonido y el alginato, contribuye a mantener la integridad del puré de aguacate conservando su consistencia. A su vez, el pH presentó un descenso en todos los tratamientos y el proceso combinado con nanopartículas de aceite esencial de tomillo alginato y ultrasonido presentaron una correlación positiva en la estabilidad del puré de aguacate.

La presencia de nanopartículas de aceite esencial de tomillo, alginato y la sinergia con el ultrasonido fueron efectivos en la conservación del color verde en el puré de aguacate, así como en la luminosidad y por lo tanto en el ΔE . Por lo que en estos resultados la adición de nanopartículas de alginato-tomillo-ultrasonido y alginato-tomillo-ultrasonido disminuyeron el índice de oscurecimiento.

La presencia de alginato-aceite esencial de tomillo, nanopartículas de tomillo-ultrasonido y nanopartículas de alginato-ultrasonido en conjunto con el vacío, resultaron favorables en la firmeza del puré de aguacate, contribuyendo también de manera positiva en la dureza, adhesividad y cohesividad del puré.

Se logró preservar el contenido de compuestos fenólicos en el puré de aguacate incorporando nanopartículas de tomillo-alginato-ultrasonido, nanopartículas de alginato y alginato de sodio, ambas con y sin ultrasonido. La actividad de la polifenoloxidasasa con alginato-aceite esencial de tomillo-ultrasonido y alginato, presentó la menor actividad enzimática. En cuanto a la actividad peroxidasa con los tratamientos

de nanopartículas de aceite esencial de tomillo con alginato y ultrasonido, la combinación de alginato con aceite esencial de tomillo y ultrasonido, y alginato con ultrasonido inactiva esta enzima.

De esta manera las tecnologías emergentes, como la aplicación de nanopartículas, ultrasonido, el vacío así como el empleo de polisacáridos, resulta favorable en la inhibición del oscurecimiento enzimático causado; principalmente, por la polifenoloxidasas y peroxidasas en el puré de aguacate, cuyo consumo y comercialización está limitado por su rápido oscurecimiento por contacto directo con el aire y también causado por refrigeración del fruto, comprometiendo la calidad del producto.

REFERENCIAS

- Aguayo, I., Oliu, G., Belloso, O. y Soliva, R. (2014). Impact of pulsed light treatments on quality characteristics and oxidative stability of fresh-cut avocado. *LWT- Food Science and Technology*, 59, 320-326.
- Aguilar-Méndez, M. A., Martínez, E., Tomás, S., Cruz, A., Fonseca, M. (2008). Gelatin starch films: physiochemical properties and thier application in extending the postharvest shelf life of avocado (*Persea americana*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 185-193.
- Aguirre, J., Ventura, J., Martínez, G., Ruelas, X., Rojas, R., Rodríguez, R. y Aguilar, C. (2017). Effects of a natural bioactive coating on the quality and shelf life prolongation at different storage conditions of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass. *Food Packaging and Shelf Life*, 14, 102-107.
- Ahmad, M.S. y Siddiqui, M.S. (2015). Packaging of Fresh Fruits. Capítulo VIII del libro *Postharvest Quality Assurance of Fruits*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Alarfaj, A. (2019). Preparation, characterization and antibacterial effect of chitosan nanoparticles against food spoilage bacteria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(2), 1273-1278.
- Amaya, E., Tarkus, R y Dominguez, M. (2008). Extracción y caracterización cinética de la enzima polifenoloxidasasa del aguacate (*Persea americana* Miller) var. Hass. *Revista de la Facultad de Ingeniería Química*, 47, 10-16.
- Aranda, M. (2016). Modelado de la deshidratación de las tiras de pulpa de aguacate variedad Hass (*Persea americana* Mill.) por medio de un secado convectivo, bajo la influencia de un pretratamiento osmótico (Licenciatura). UNAM. México.
- Arévalo-Galarza, L., Saucedo-Veloz, C., Bustos-Ramírez, E. y González-Hernández, H. (2002). Maduración de frutos de aguacate Hass tratados con radiación gamma. *Agrociencia*, 36 (6), 667-673.
- Badui, S. (2006). Química de los alimentos. México, D.F: Pearson.
- Barrientos, A., García, E. y Avitia, E. (2013). Anatomía del fruto de aguacate, ¿drupa o baya? *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2(2), 189-198.

- Bi, X., Hemar, Y., Balaban, M. y Liao, X. (2015). The effect of ultrasound on particle size, color, viscosity and polyphenol oxidase activity of diluted avocado puree. *Ultrasound Sonochemistry*, 27, 567-575.
- Bigliardi, B., Galatib, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31, 118-129.
- Bill, M., Sivakumar, D., Korsten, L. y Thompson, A. (2014). The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. *Crop Protection*, 64, 159-167.
- Blach, D., Pinzón, M., y Donado, J. (2007). Evolución del color y la actividad enzimática (polifenoloxidasas y peroxidasa) en rodajas de carambolo (*Averha Carambola* L.) fresco-cortado durante su almacenamiento en atmósfera modificada. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 16 (2), 127-129.
- Bouwmeester, H., Brandhoff, P., Marvin, H., Weigel, S. y Peters, R. (2014). State of the safety assessment and current use of nanomaterials in food and food production. *Trends in Food Science & Technology*, 40, 200-210
- Braverman, J. (2008). Introducción a la bioquímica de los alimentos. 33 ed. España, Barcelona: Omega, p. 355.
- Cao, X., Cai, C., Wang, Y. y Zheng, X. (2018). The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 169-178.
- Cefola, M., D'Antuono, I., Pace, B., Calabrese, N., Carrito, A., Linsalata, V., & Cardinali, A. (2012). Biochemical relationships and browning index for assessing the storage suitability of artichoke genotypes. *Food Research International*, 48, 397-403.
- CIMA. (2019). Reporte del mercado del Aguacate, 2019. Disponible en: <http://www.cima.aserca.gob.mx>
- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S. y Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing e Food quality assurance and food safety. *Trends in Food Science & Technology*, 26, 88-98.
- Chang, Y., McLandsborough, L. y McClements, D. (2015). Fabrication, stability and efficacy of dual-component antimicrobial nanoemulsions: Essential oil (thyme oil) and cationic surfactant (lauric arginate). *Food Chemistry*, 172, 298-304.
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., De Laurence, C. Aitken, R. y Watkins, R. (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives and Contaminants*, 25, 241-258.

- Cheftel, J y Cheftel, H. (2016). Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Volumen I. México, D.F: Acribia, p. 333.
- Chemat, F., Zill-e-Humma, Kamran, M. (2011). Application of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (4), 813-835).
- Cowan, A. y Wolstenholme, B. (2016). Avocado. Encyclopedia of Food and Health. *Food Science*. 294-300.
- Cummings, K., y Schroeder. (2013). Anatomy of the avocado fruit. California. *Avocado Society Yearbook*, 26, 56-64.
- Dantas, D., Pasquali, M., Cavalcanti, M., Duarte, M. y Lisboa, H. (2018). Influence of spray drying conditions on the properties of avocado powder drink. *Food Chemistry*, 266, 284-291.
- Deepa, G., Chetti, M., Khetagoudar, M y Adavirao, G. (2013). Influence of vacuum packaging on seed quality and mineral contents in chilli (*Capsicum annum* L.). *Journal of Food Science and Technology*, 50, 153-158.
- Denoya, G., Vaudagna, S. y Polenta, G. (2015). Effect of high pressure processing and vacuum packaging on the preservation of fresh-cut peaches. *Food Science and Technology*, 64, 801-806.
- Díaz, H., Serrano, M. y Valero, D. (2012). Alginate Coatings Preserve Fruit Quality and Bioactive Compounds during Storage of Sweet Cherry Fruit. *Food and Bioprocess Technology*, 5 (8), 2990-2997.
- Dorantes-Alvarez, L. (2000). Color of Minimally Processed Fruits and Vegetables as Affected by Some Chemical and Biochemical Changes. In: Minimally Processed Fruits and Vegetables, Alzamora, S.M., M.S. Tapia and A. Lopez-Malo (Eds.). Aspen Publishers, Inc., EUA., pp: 111-116. Eds. 7:111–126.
- Fernández, F., Oliveira, V., Gómez, W. y Rodríguez, C. (2016). Degradation kinetics of vitamin E during ultrasound application and the adjustment in avocado puree by tocopherol acetate addition. *Food Science and Technology*, 69, 342-347.
- García, J., Ramos, M. y Mora, J. (2000). Estructura de la semilla del aguacate y cuantificación de la grasa extraída por diferentes técnicas. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 5, 123-128.
- Giarratana, F., Muscolino, D. y Valle, S. (2016). Antimicrobial activity of combined thyme and rosemary essential oils against *Listeria monocytogens* in Italian mortadella packaged in modified atmosphere. *Journal of Essential Oil Research*, 28(6), 467-474.

- Golukcu, M. y Ozdemir, F. (2010). Changes in phenolic composition of avocado cultivars during harvesting time. *Chemistry of Natural Compounds*, 46, (1).
- Goulao, L y Oliveira, C. (2008). Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science and Technologies*, 19, (1), 4-25.
- Guerrero, A. (2009). Inhibición de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas extraída del banano (*Cavendish Valery*) mediante sistemas bifásicos acuosos con isoespintanol y ácido ascórbico. (Maestría). Universidad Nacional de Colombia.
- Hassani, A., Mahmood, S., Enezei, H., Aslina, S., Ali, H., Faris, A., Hagar, A., Almonem, A. y Nabeel, W. (2020). Formulation, characterization and biological activity screening of sodium alginate-gum arabic nanoparticles loaded with curcumin. *Molecules*, 25.
- Henríquez, L., Patiño, J. y Salazar, J. (2012). Aplicación de la ingeniería de matrices en el desarrollo de aguacate Hass (*Persea americana Mill.*) mínimamente procesado adicionado con vitamina C y calcio. *Revista Lasallista de Investigación*, 9(2), 44-54.
- Hernández, E. (2005). Evaluación del pardeamiento enzimático durante el almacenamiento en congelación del puré de palta (*Persea americana Mill.*) var. Hass. (Tesis de licenciatura). UNALM. México, Monterrey.
- Herrera, J., Salazar, S. Martínez, H. y Ruiz, J. (2017). Indicadores preliminares de madurez fisiológica y comportamiento postcosecha del fruto de aguacate Méndez. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 40 (1): 55 – 63.
- Kalpana, S., Priyadarshini, S.R., Leena, M., Moisés, J. A., Anandharamakrishnan, C. (2019). Intelligent packaging: Trends and applications in food systems. *Trends in Food Science and Technology*, 93,145-157.
- Kumari, S., Yadav, B. y Yadav, R. (2020). Synthesis and modification approaches for starch nanoparticles for their emerging food industrial applications: A review. *Food Research International*, 128.
- Letchford, K. y Burt, H. (2006). A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures. Micells, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharm and Biopharm.* 65, 259-569.
- Lisa, P. (2020) Peroxidase. *Salem Press Encyclopedia*.
- Luna Riguelme, M. C. (2012). Influencia de los factores pre y postcosecha en la calidad de la lechuga IV Gama (Doctorado). Universidad de Murcia, España.

- Manovsky, L., Smedzieva, V. y Yotova, L. (2015). Investigation on isolated and purified Lipoxygenase from avocado in the presence of Linolenic acid. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 50, (3), 249-254.
- Márquez, C., Yepes, D., Sánchez, L., y Osorio, J. (2014). Changes physical-chemical of avocado (*Persea Americana Mill. cv. "Hass"*) in postharvest for two municipalities of Antioquia. *Temas Agrarios*, 19 (1), 32-47.
- Miranda-Linares, V., Quintanar, D., Del Real, A., Zambrano-Zaragoza, M.L. (2020). Spray-drying method for the encapsulation of a functionalized ingredient in alginate-pectine nano-and microparticles loaded with distinct natural actives: Stability and antioxidant effect. *Food Hydrocolloids*, 101.
- Mora-Huertas, C. E., Fressi, H., Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 358 (1-2), 132-142.
- Morante, J., Agnieszka, A., Bru-Martínez, R., Carranza, M., Pico, R. y Nieto, E. (2014). Distribution, location and inhibitors of polyphenol oxidases in fruits and vegetables used as food. *Science and Technology*, 7(1), 23-31.
- Moreno, L., Hernández, H., Gutiérrez, A. y Villanueva, S. (2018). Tecnologías emergentes para la conservación de los alimentos funcionales. *Appetite*. 44, 299–308.
- Moreno, S., Rocha, A., Alvarado, M. A., Salgado, M. y Pinson, E. (2010). Importancia histórica y socioeconómica del aguacate. Capítulo 1 del libro *Aguacate: Variedades, cultivo y producción en Nuevo León*. México.
- Nahidul, Md., Zhang, M. y Adhikari, B. (2014). The inactivation of enzymes by ultrasound- A review of potential mechanisms. *Food Reviews International*, 30 (1), 1-21.
- Naseer, B., Srivastava, G., Shafiq, O., Ahmad, S. y Younis, Y. (2018). Importance and health hazards of nanoparticles used in the food industry. *Nanotechnology Reviews*. (7).
- Nurul, O., Marina A. M. y Sakinah, H. (2016). The effect of avocado puree as fat replacer on the physical quality of muffin. *Malaysian Applied Biology*, 45, (2), 11-16.
- Olaeta, J.A. (2003) Industrialización del aguacate: estado actual y perspectivas futuras. *Proceedings V World Avocado Congress*, 749-754.
- Olivares, J., (2015). Conservación de pulpa y mitades de aguacate cosechadas con dos índices de madurez y almacenadas en atmosfera modificada y refrigeración (Licenciatura). Universidad Católica de Valparaíso. Chile.

- Olvera, M. (2013). Inactivación de la enzima polifenol oxidasa en un aderezo de aguacate, mediante un tratamiento térmico. *Actas V Congreso Mundial del Aguacate*. México, D.F. p. 761-768.
- Ornelas, J. y Yahia, E. (2004). Effects of prestorage dry and humid hot air treatments on the quality, tryglycerids and tocopherols contensts in Hass avocado fruit. *Journal of Food Quality*, 27, 115-126.
- Padmanaban, G., Singaravelu, K. y Thirumaran, S. (2014). Increasing the shelf- life of papaya through vacuum packing. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 163-167.
- Parada, R. (2019). Peroxidasa: estructura, funciones y tipos. Disponible en: <http://lidefar.com>
- Pinto, C., Neufeld, R. y Ribeiro, A., Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechonlogy, Biology and Medicine*, 2 (1), 8-21.
- Rashed, M., Ali, A., Ghaleb, A., Rui, F., YongHua, D., Qin, W. y WanHai, Z. (2020). Synergistic effects of amorphous OSA-modified starch, unsaturated lipid-carrier, and sonocavitation treatment in fabricating of *Lavandula angustifolia* essential oil nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*. 151,702-712.
- Rashidimehr, A., Fazlara, A., Zarei, M., Pourmedhdi, M. y Noshad, M. (2019). Use of essential oils and vacuum packaging as a way to extend shelf life of burgers from surimi. *Foods and Raw Materials*, 7 (2).
- Restrepo, A. (2012). Alternativas para la conservación de aguacate *Persea Americana Mill* variedad Hass en la inhibición del pardeamiento enzimático (Licenciatura). Corporación Universitaria Lasallista. Colombia.
- Rettig, M y Hen, K. (2014). El color en los alimentos, un criterio de calidad medible. *AgroSur*. 42-2.
- Roca, I. (2005). Estudio de las propiedades y aplicaciones industriales del polietileno de alta densidad (PEAD). (Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Rojas, J., Robles, V., Carvajal, O., Castro, C., Waliszewski, K. y Aguilar, M.G. (2013). Purification and characterization of peroxidase from avocado (*Persea americana Mill*, cv. Hass). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, (9), 1844-1853.

- Ryu, V., Mc.Clements, D., Corradini, M. y McLandsborough, L. (2018). Effect of ripening inhibitor type on formation, stability and antimicrobial activity of thyme oil nanoemulsion. *Food Chemistry*, 245, 104-111.
- SADER. (2020). Boletín mensual de producción de aguacate. Disponible en: <http://www.gob.mx>
- Salazar, S., Zamora, L. y Vega, R. (2004). Actualización sobre la industria del aguacate en Michoacán, México, *California Avocado Society*, 87, 45-54.
- Salmerón, M. (2014). *Fracción indigestible, bioaccesibilidad in vitro y actividad antioxidante, de compuestos fenólicos de la cáscara de aguacate cv.* Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C.
- Sánchez, S., Mijares, P. et al. (2001). Historia del aguacate en México. *Fundación Salvador Sánchez Colin CICTAMEX S.C.* p. 171-187.
- Sánchez, S., Zapata, G. y Campos, E. (2017). National avocado production and its marketing. *CICTAMEX*.
- Schaffer, B., Wolstenholme, N. y Whiley, A. (2013). Taxonomy and Botany. Capítulo 3 del libro *The avocado: botany, production and uses*. Wallingford, London: CABI.
- Selvam, P., Mafune, M., Sivakumar, D. y Soundy, P. (2013). Thyme oil vapour and modified atmosphere packaging reduce anthracnose incidence and maintain fruit quality in avocado. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 3024-3031.
- Shahbazi, Y. y Shavisi, N. (2019). Effects of sodium alginate coating containing Mentha spicata essential oil and cellulose nanoparticles on extending the shelf life of raw silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) fillets. *Food Science and Biotechnology*, 28(2), 433-440.
- Soliva, R., Elez, P., Sebastián, M. y Martín, O. (2001). Evaluation of browning effect on avocado puree preserved by combined methods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 261-268.
- Tirilly, Y. y Bourergeois, C. (2001). Tecnología de las hortalizas. México: Acribia.
- Tomás-Barverán, F. A., y Espín, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruits and vegetables. *Journal of the Science and Food Agriculture*, 81, 853-876.
- Valente, V.L. y Queiroz, C. (2013). Enzymatic Browning. Capítulo 10 del libro *Biochemistry of Foods*. Brazil: Editorial Elsevier.

- Vanini, L. S., Kwiatkowski, A. y Clemente, E. (2010). Polyphenoloxidase and peroxidase in avocado pulp (*Persea americana* Mill). *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 30, 525-531.
- Vargas-Ortíz, M., Servent, A., Salgado, M. y Pallet, D. (2017). Stability of the lipid fraction of avocado puree obtained by flash vacuum- expansion process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 42, 109-116.
- Velázquez, D., Castellanos, G., Caballero, P. y Hernández, C. (2013). Biochemical changes during the storage of high hydrostatic pressure processed avocado paste. *Journal of Food*, 11(4), 379–391.
- Velázquez, J. y Hernández, D. (2010). Biochemical changes during the storage of high hydrostatic pressure processed avocado paste. *Journal of Food Science*, 75, S269-S270.
- Velázquez, J. y Lozano, J. (2007). Inhibición del oscurecimiento enzimático y cambios texturales en manzana Golden Delicious tratada con jugo de piña. *Revista Chapingo Serio Zonas Áridas*, 7(1), 1-7.
- Villa, J., Molina, F., Ayala, F., Olivas, G. y González, G. (2010). Effect of maturity stage on the content of fatty acids and antioxidant activity of Hass avocado. *Food Research International*, 44 (5), 1231-1238.
- Villa-Rodríguez, J., Yahia, E., González-León, A., Ifie, I., Robles-Zepeda, E., Domínguez, A y González, A. (2011). Ripening of ‘Hass’ avocado mesocarp alters its phytochemical profile and the in vitro cytotoxic activity of its methanolic extracts. *South African Journal of Botany*, 128, 1-8.
- Villaseñor, C., Palacios, M. y González, A. (2012). Principios físicos básicos del ultrasonido. *Tecnología en Alimentos*, 1 (1), 25-34.
- Woolf, A., Wibisono, R., Farr, J., Hallet, I., Richter, L., Oey, I., Wohlers, M., Zhou, J., Fletcher, G. y Requejo, C. (2013). Effect of high-pressure processing on avocado slices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 18, 65-73.
- X-Rite, Incorporated. (2002). Guía para entender la comunicación del color. X-Rite. <http://www.mcolorcontrol.com>
- Yan, W., Chen, W., Muhammad, U., Zhang, J., Zhuang, H. y Zhou, G. (2019). Preparation of α -tocopherol chitosan nanoparticles/chitosan montmorillonite film and the antioxidant efficiency on sliced dry-cured ham. *Food Control*, 104, 132-138.

- Yousufa, B., Shafiq Qadria, O, y Srivastavaa, A. (2018). Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. *LWT - Food Science and Technology*, 89. 198-209.
- Zambrano-Zaragosa, M.L., Mercado, E., Del Real, A., Gutiérrez, E., Cornejo, M.A. y Quintanar, D. (2014). The effect of nano-coatings with α -tocopherol and xanthan gum on shelf-life and browning index of fresh-cut "Red Delicious" apples. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22. 188-196.
- Zabrano-Zaragoza, M. L., Mercado-Silva, E., Ramírez-Zamorano, P., Cornejo-Villegas, M., Gutierrez-Cortez, E. y Quintanar-Guerrero, D. (2013). Use of solid nanoparticles (SLNs) in edible coatings to increase guava (*Psidium guajava* L.) shelf-life. *Food research International*, 51, 946-953.
- Zhou, L. Tey, C. Bingol, G. y Bi, J. (2016). Effect of microwave treatment on enzyme inactivation and quality change of defatted avocado puree during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 37, pp. 61–67.