



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



Evaluación del efecto funcional antioxidante del extracto liofilizado de la cáscara de toronja como ingrediente de un recubrimiento comestible en manzanas (*Malus domestica*) mínimamente procesadas

Chipugsi Loachamin, Kevin Eduardo

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Agropecuaria

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero Agropecuario

Ing. Larrea Cedeño, Gabriel Alejandro Mgt.

29 de agosto, 2022



INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES

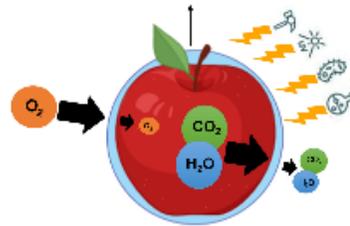


Una vez cosechado un fruto, se dan nuevos cambios metabólicos



En el mundo

Existen nuevas alternativas para controlar el pardeamiento enzimático



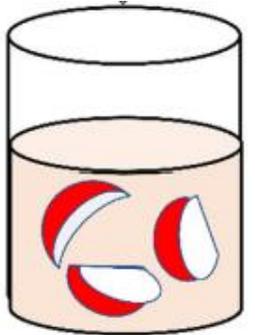
* Compuestos **sintéticos**

* Bandejas con inhibidores de pardeamiento

Demanda del consumidor por **alimentos saludables** y de **origen natural**



Recubrimiento comestible (RC)



Dip coating



Capa comestible

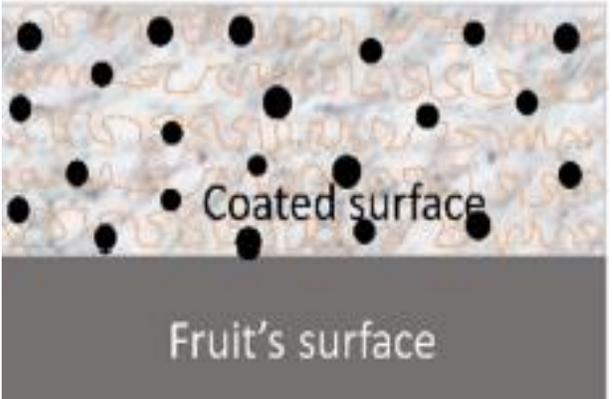
Compuestos con actividad antioxidante o antimicrobiana

Extractos de frutos cítricos y sus semillas

Ácido cítrico, ascórbico, aceites esenciales.

Alargar la vida útil

Inhibir el pardeamiento



Protección de la superficie cortada



Protección ante microorganismos

Consumo (Alimento Gama IV)



General

Evaluar el efecto funcional antioxidante del extracto liofilizado de la cáscara de toronja como ingrediente de un recubrimiento comestible en manzanas (*Malus domestica*) mínimamente procesadas.

Específicos

Obtener el principio activo presente en la cáscara de toronja para su liofilización.

Formular un recubrimiento a base del principio activo extraído de la toronja, bajo diferentes niveles, sobre trozos de manzana.

Evaluar los parámetros físico-químicos, microbiológicos y sensoriales de la manzana con y sin la aplicación de 3 recubrimientos comestibles bajo refrigeración a 4°C, a los 0, 3, 6, 9 y 12 días de almacenamiento

HIPÓTESIS

H0: La aplicación de un recubrimiento comestible a base del extracto liofilizado de la cáscara de toronja no mantiene las características físico-químicas a lo largo de 12 días de estudio, en los trozos de manzana.



H1: La aplicación de un recubrimiento comestible a base del extracto liofilizado de la cáscara de toronja mantiene las características físico-químicas a lo largo de 12 días de estudio, en los trozos de manzana.



Manzana cv. Anna (*Malus domestica*)

vitaminas

ácidos orgánicos

Origen israelí

Polifenoles

rico en enzimas oxidadas



4.500 ha sembradas
(6.8 ton/ha/Ecuador)

consumo per cápita
3,79Kg/Ecuador

0,4-1,2 % ácido málico

10-14°Brix

pH: 3-5

4-7 Kg-f (firmeza)

Toronja (*Citrus paradisi*)

Polifenoles

Terpenos



Antioxidante y antimicrobiano

0,7-3,5 % ácido cítrico

5-6 °Brix

pH: 3-5

4° cítrico más consumido a nivel mundial

Recubrimiento comestible

Capa comestible generada por materiales de origen natural

Polisacárido

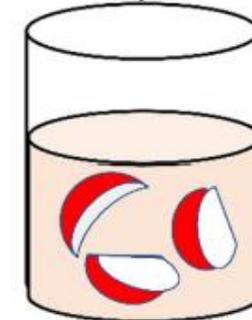
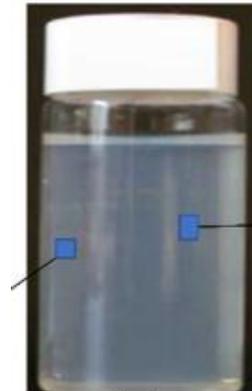
Agua

Aceite vegetal

Extracto liofilizado de la cáscara de toronja (ELT)

Tween 80

Glicerina



Dip coating



Ubicación del proyecto UIC



Etapa 1. Adquisición del material vegetal



(INEN 1872:96)



INEN 2807

Etapa 2. Limpieza y desinfección del material vegetal



Cloro comercial al 5%
por 5 min



UV-C por 7min

Etapa 4. Encapsulación



Congelación por 24h a -15°C

10% p/v de maltodextrina



1600 mL de solución
(agua + aceite esencial)

Etapa 3.2 Extracto de la cáscara de toronja

Etapa 3.1. Hidrodestilación



(1500g + 1500mL de agua), por 3h a 91°C

Etapa 3. Obtención del extracto de la cáscara de toronja



Pelado
(Flavado)



Pesaje
(1500g)



0,5% de bicarbonato de sodio (24h. °T ambiente)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Etapa 5.

Liofilización del extracto de la cáscara de toronja (ELT)



-40°C por 18h



Etapa 6.

Formulación del recubrimiento comestible (RC)



Componentes	%	RC (0%)	RC (2%)	RC (4%)	RC (6%)
Agua	91,1	227,75	222,75	217,75	212,75
Aceite vegetal	4	10	10	10	10
Glicerina grado alimentario	2,5	6,25	6,25	6,25	6,25
Tween 80	0,4	1	1	1	1
Polisacárido (almidón)	2	5	5	5	5
ELT	0	0	5	10	15
Total	100	250	250	250	250

Etapa 7.

Aplicación del RC



Secado (40°C, 2h)



Almacenamiento a 4°C



Etapa 8.

Medición de las variables

Microbiológica

- Presencia o ausencia de microorganismos (Prueba dicotómica)



Variables no destructivas

- Peso (Balanza digital)
- Color (App Color Grab)

Variables destructivas:

- Brix (Refractómetro)
- Acidez (Titulación-NaOH 0,1N)
- Textura (Penetrómetro)

Análisis sensorial (Cata tipo Flash Profile)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Fisicoquímico

Microbiológico

Sensorial

DCA con parcelas divididas

Tabla de contingencia
(Prueba de chi cuadrado)

DBCA

3 tratamientos + 1 control, con 3 repeticiones

Tratamiento	Concentración del extracto de la cáscara de toronja (lío­filizado y encapsulado en maltodextrina) (%)
T0	0
T1	2
T2	4
T3	6

Croquis experimental

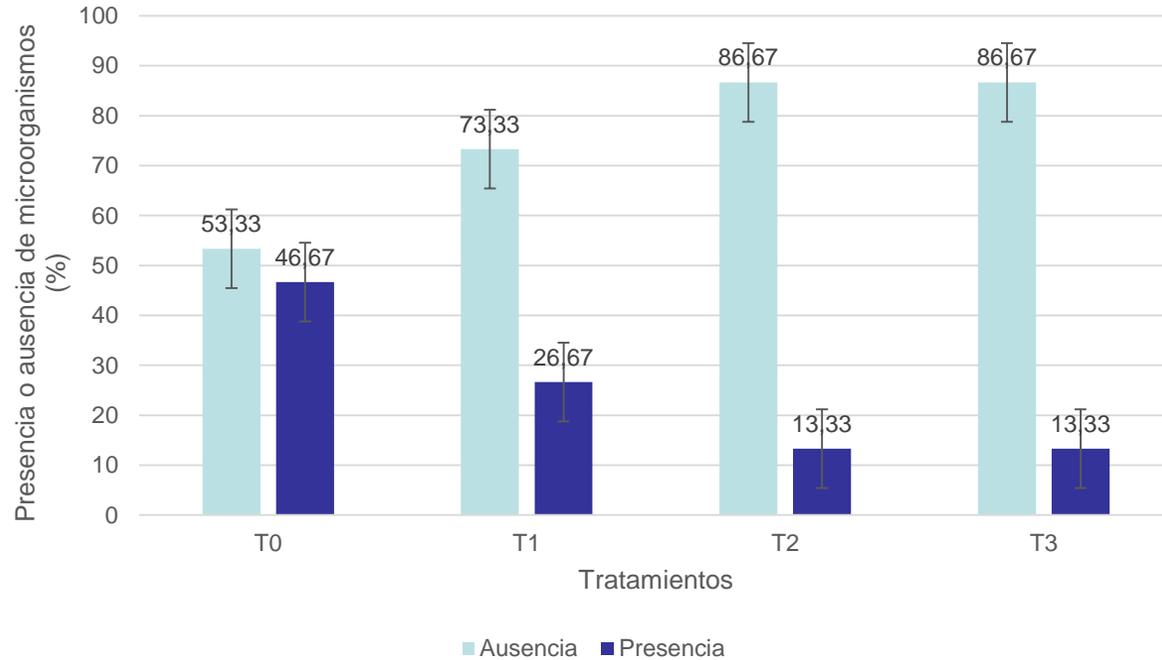
<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T1R1</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>3</td></tr> <tr><td>6</td><td>9</td></tr> <tr><td colspan="2">12</td></tr> </tbody> </table>	T1R1		0	3	6	9	12		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">TOR3</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>3</td><td>6</td></tr> <tr><td>6</td><td>9</td></tr> <tr><td colspan="2">12</td></tr> </tbody> </table>	TOR3		3	6	6	9	12		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T3R2</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>6</td><td>0</td></tr> <tr><td>3</td><td>12</td></tr> <tr><td colspan="2">9</td></tr> </tbody> </table>	T3R2		6	0	3	12	9		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T2R1</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>12</td></tr> <tr><td>9</td><td>6</td></tr> <tr><td colspan="2">3</td></tr> </tbody> </table>	T2R1		0	12	9	6	3	
T1R1																																			
0	3																																		
6	9																																		
12																																			
TOR3																																			
3	6																																		
6	9																																		
12																																			
T3R2																																			
6	0																																		
3	12																																		
9																																			
T2R1																																			
0	12																																		
9	6																																		
3																																			
<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">TOR1</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>12</td><td>3</td></tr> <tr><td>9</td><td>6</td></tr> <tr><td colspan="2">0</td></tr> </tbody> </table>	TOR1		12	3	9	6	0		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T1R2</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>3</td><td>0</td></tr> <tr><td>9</td><td>12</td></tr> <tr><td colspan="2">6</td></tr> </tbody> </table>	T1R2		3	0	9	12	6		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T2R2</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>12</td><td>9</td></tr> <tr><td>6</td><td>3</td></tr> <tr><td colspan="2">0</td></tr> </tbody> </table>	T2R2		12	9	6	3	0		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T3R3</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>12</td><td>6</td></tr> <tr><td>3</td><td>9</td></tr> <tr><td colspan="2">0</td></tr> </tbody> </table>	T3R3		12	6	3	9	0	
TOR1																																			
12	3																																		
9	6																																		
0																																			
T1R2																																			
3	0																																		
9	12																																		
6																																			
T2R2																																			
12	9																																		
6	3																																		
0																																			
T3R3																																			
12	6																																		
3	9																																		
0																																			
<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T3R1</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>9</td><td>6</td></tr> <tr><td>0</td><td>12</td></tr> <tr><td colspan="2">3</td></tr> </tbody> </table>	T3R1		9	6	0	12	3		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T2R3</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>12</td><td>3</td></tr> <tr><td>6</td><td>9</td></tr> <tr><td colspan="2">0</td></tr> </tbody> </table>	T2R3		12	3	6	9	0		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">TOR2</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>12</td><td>9</td></tr> <tr><td>3</td><td>6</td></tr> <tr><td colspan="2">9</td></tr> </tbody> </table>	TOR2		12	9	3	6	9		<table border="1"> <thead> <tr><th colspan="2">T1R3</th></tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>12</td></tr> <tr><td>6</td><td>9</td></tr> <tr><td colspan="2">3</td></tr> </tbody> </table>	T1R3		0	12	6	9	3	
T3R1																																			
9	6																																		
0	12																																		
3																																			
T2R3																																			
12	3																																		
6	9																																		
0																																			
TOR2																																			
12	9																																		
3	6																																		
9																																			
T1R3																																			
0	12																																		
6	9																																		
3																																			

Software-Infostat

LSD 5%, (P<0,05)



Porcentaje de presencia o ausencia de microorganismos en los diferentes tratamientos

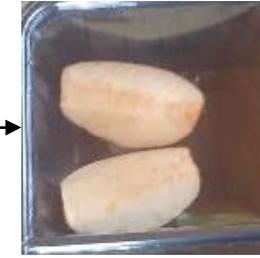


No existe relación entre el nivel de extracto liofilizado y la presencia de microorganismos en los trozos de manzana a los 12 días de evaluación ($P=0,1138$; $\alpha:0,05$)

No se identificó ni cuantificó los microorganismos.



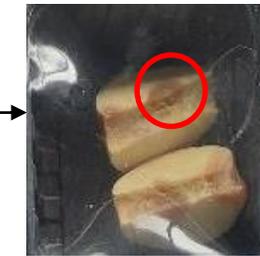
T2R3-0 día



T2R3- 9día



T0R2-0 día



T0R2- 3 día

α -terpineno y d-limoneno (actividad antimicrobiana) (Villa, 2007)

Penicillium expansum (Lanciotti et al., 2004)

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis fisicoquímico

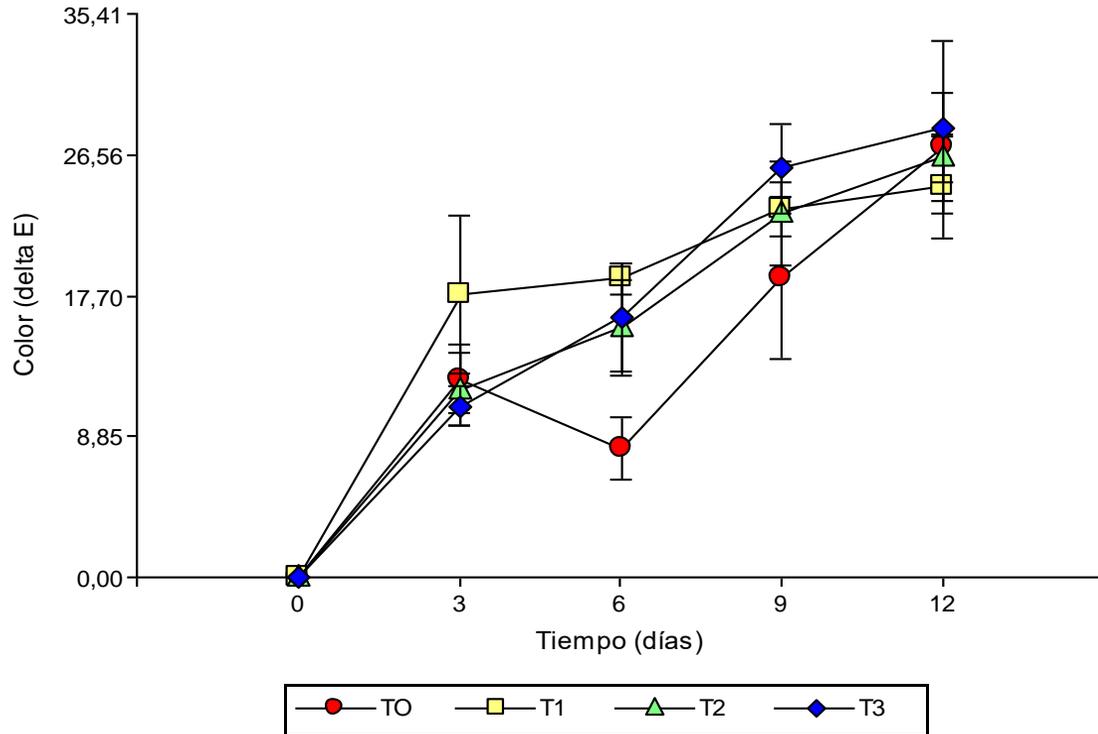
ANOVA de las variables fisicoquímicas de los trozos de manzana.

Fuente de variación	gl	Pérdida peso (%)	Color (ΔE)	TEXTURA (kg-f)	°Brix	Acidez (% ác málico)
Nivel de ELT	3	P=0.2890	P=0.2632	P<0.0001	P=0.326	P=0.5265
Días	4	P<0.0001	P<0.0001	P<0.0001	P=0.8999	P=0.3604
Nivel de ELT*días	12	P=0.9984	P=0.5838	P=0.0044	P=0.4370	P=0.6309

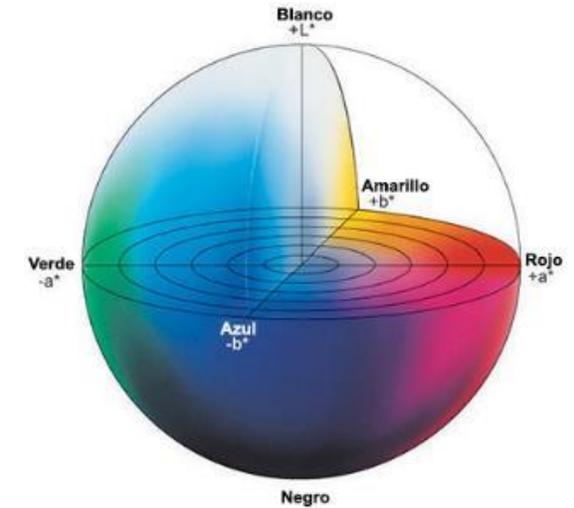
pH 3,7-4 (Rojas, 2018)

Resultado del análisis fisicoquímico

Media \pm error estándar del color de los trozos de manzana a lo largo del tiempo



T1 presentó la menor diferencia en la variación del color (ΔE) siendo de 24,53, mientras que, para los tratamientos 0, 2 y 3 se mostraron similares cuantitativamente, con resultados superiores a 26,36 ΔE .

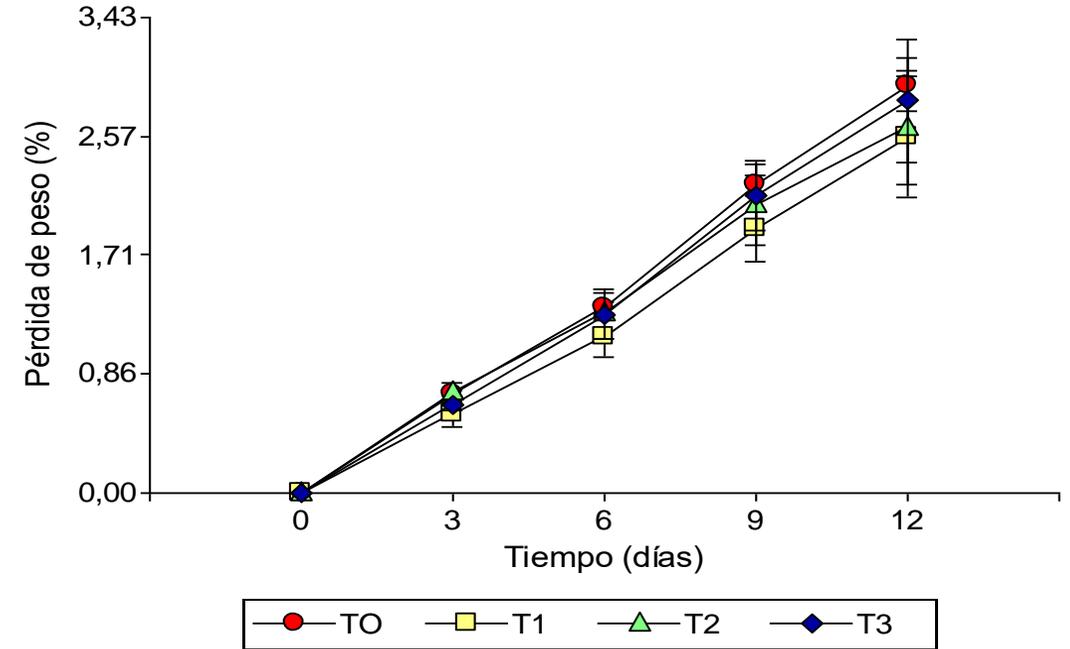
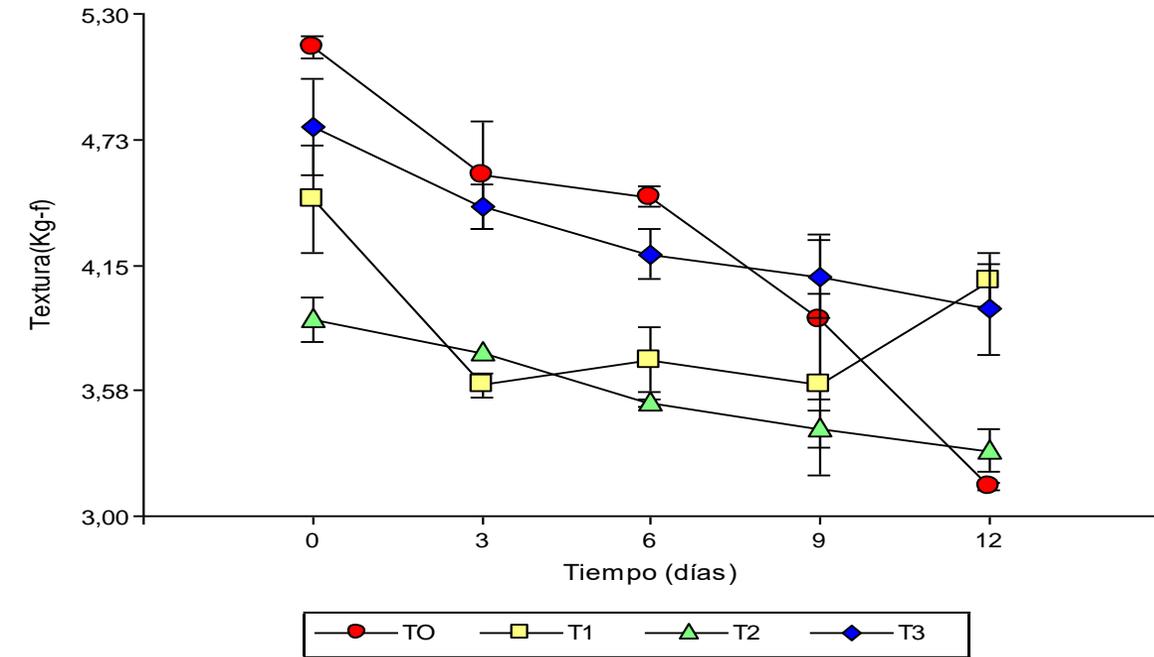


Altas dosis –prooxidación, grosor de la capa de RC y pureza de los compuestos (Assis et al., 2012)

Resultado del análisis fisicoquímico

Media \pm error estándar de la textura (Kg-f) de los trozos de manzana a lo largo del tiempo

Media \pm error estándar de la pérdida de peso de los trozos de manzana en el tiempo



Los T1 y T3, mantuvieron la textura a 4,08 Kg-f y 3,95 Kg-f a los 12 días, siendo estos valores superiores a los obtenidos en T0 y T2, con 3,13 Kg-f y 3,3 Kg-f, respectivamente.

Luego de los 12 días de evaluación, el T1 y T2 muestran la menor pérdida de peso con 2,56% y 2,63% respectivamente, respecto al T0 y el T3 fueron los de mayor pérdida de peso con 2,94% y 2,83%.

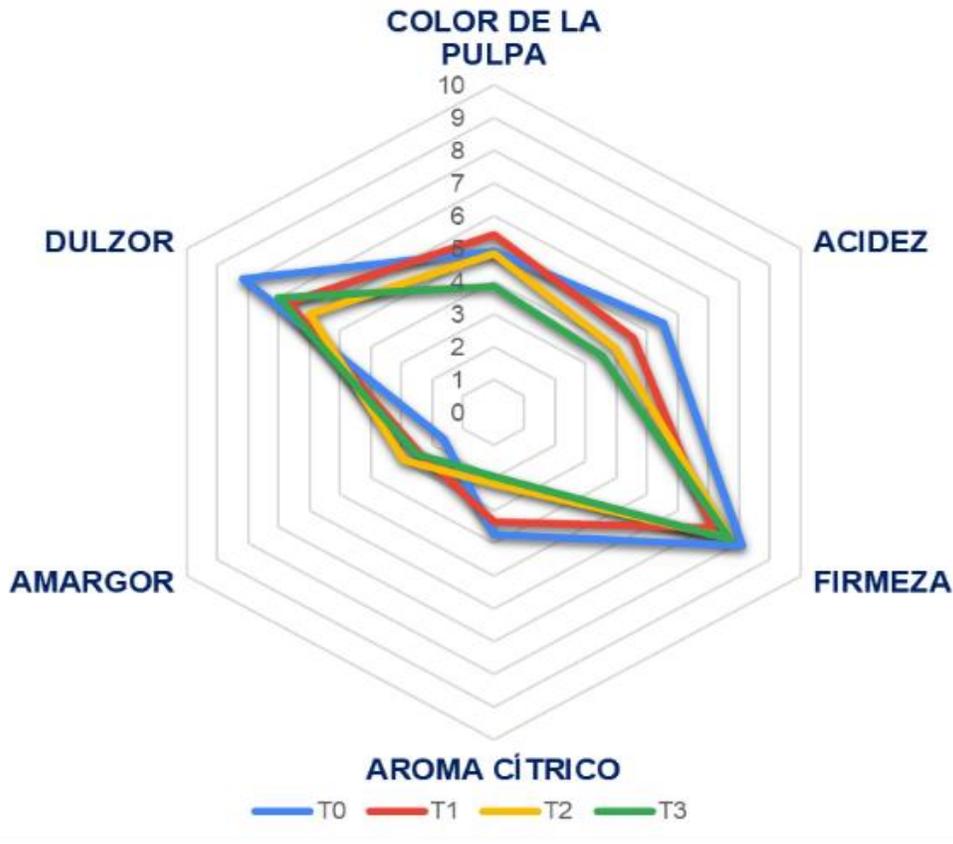
Terpinenos, afectan la acción de la enzima pectin metil esterasa, por lo que la estructura de las paredes celulares se mantiene (Radi & Amiri, 2017).

Mantiene la firmeza y no la oxidación de la pulpa (Alandes et al., 2011)

RESULTADOS Y DISCUSION

Análisis sensorial

Media \pm desviación estándar para los atributos sensoriales de los trozos de manzana



ATRIBUTOS	Concentración de extracto liofilizado de toronja			
	T0	T1	T2	T3
COLOR DE LA PULPA	4,92 \pm 2,06 a	5,44 \pm 1,96 a	4,87 \pm 1,47 a	3,84 \pm 2,05 a
ACIDEZ	5,51 \pm 2,12 a	4,56 \pm 1,78 a	3,95 \pm 1,88 a	3,51 \pm 2,51 a
FIRMEZA	8,11 \pm 1,18 a	7,1 \pm 1,73 a	7,68 \pm 1,92 a	7,72 \pm 1,92 a
AROMA CÍTRICO	3,74 \pm 3,2 a	3,35 \pm 1,75 a	2,18 \pm 2,39 a	1,97 \pm 1,46 a
AMARGOR	1,61 \pm 2,52 a	2,41 \pm 3,21 a	2,94 \pm 3,5 a	2,5 \pm 2,82 a
DULZOR	8,16 \pm 1,58 a	6,7 \pm 2,21 a	6 \pm 2,01 a	7,01 \pm 1,31 a



RC a base de aceites esenciales de cítricos contrarrestan la acción de enzimas oxidasas (Farina et al., 2020).

Evita la salida de aromas (Hasan et al., 2019)

Atributos de: **acidez, color de la pulpa, amargor y aroma a cítrico:** 1-3 (producto organolépticamente comercial)
 4-7 (límite comercial)
 8-10 (atributo no deseado y no permiten su comercialización)

Atributos de: **firmeza y dulzor**
 1-3 (atributo no deseado y no permiten su comercialización)
 4-7 (límite comercial)
 8-10 (producto organolépticamente comercial) (Bustingorri, 2021)

- El extracto liofilizado de la cáscara de toronja obtenido fue un aceite esencial, el cual mostró ser un líquido oleoso, transparente, con un aroma cítrico e inmiscible en agua, que de acuerdo con la literatura contiene α -terpineno y d-limoneno los que, además, tienen actividad antioxidante y antimicrobiana.
- El recubrimiento comestible a base de un extracto liofilizado de toronja (ELT) al 6% mantuvo constante la textura (Kg-f) de los trozos, esto debido a la acción de la composición del extracto (α -terpineno y d-limoneno) que inhiben la acción de la enzima pectin metil esterasa, manteniendo las paredes celulares estables a lo largo de 12 días de análisis. Además, estadísticamente este recubrimiento no fue efectivo para controlar el pardeamiento en los trozos de manzana.
- Sensorialmente el recubrimiento comestible con 6% de ELT, mostró un mejor comportamiento en cuanto a firmeza, dulzor, acidez y un menor pardeamiento enzimático (color) a los 5 días de la evaluación de los atributos descritos.
- Tras 12 días de análisis, se identificó que los tratamientos T2 y T3, inhibieron aparentemente el crecimiento de microorganismos hasta el día 9, donde empezaron a presentar variaciones en la coloración de la pulpa, mientras que el tratamiento control y el T1, presentaron este problema a partir del día 3 y 6 respectivamente.

- Para tener un mejor rendimiento en la obtención de aceite esencial de la cáscara de toronja se debería mejorar el equipo de hidrodestilación incorporando un termómetro para controlar la temperatura y un serpentín metálico para mejorar la condensación, lo que permitiría obtener un aceite con mayor pureza.
- En futuras investigaciones se debe realizar la cuantificación e identificación de los microorganismos presentes, por medio de un antibiograma o un recuento microbiano.
- Se debería caracterizar al aceite esencial obtenido por medio de espectrofotometría, para conocer y cuantificar cada uno de los componentes que lo conforman, así como un estudio económico de su obtención y procesamiento.
- Durante la elaboración de un recubrimiento comestible, se debe considerar el orden de los productos y la temperatura al realizar la mezcla, pues de hacerlo de manera indistinta, los componentes no se llegan a mezclar o existen precipitados.

- Alandes, L., Quiles, A., Pérez, I., & Hernando, I. (2011). Manzana fresca cortada tratada con aditivos naturales: calidad y aspectos estructurales. *Journal of Food*, 9(1), 17-24. doi:10.1080/19476330903503361
- Allauca, A. (2018). *Análisis de la cadena agroproductiva de la manzana (Malus) en tres provincias de la sierra-centro zona 3*. Riobamba: ESPOCH.
- Berk, Z. (2016). Morphology and chemical composition. En *Citrus fruit processing* (págs. 9-54).
- Botero, N., & Morales, G. (2000). Producción del manzana (Malus sp. cv Anna) en el oriente antioqueño con la abeja melífera, Apis mellifera L. (Hymenoptera apidae). *Facultad de Ciencias Agropecuaria*, 849-862.
- Cerpa, M. (2007). *Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización*. Universidad de Valladolid.
- Deng, W., Lui, K., Cao, S., & Sun, J. (2020). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation. *MDPI*, 25(1). doi:10.3390/molecules25010217
- Gezer, B., Yilmaz, Z., & Akbal, U. (2020). *Distillation: typer and applications-a review*. Uskudar University.
- Jadán, F. (2017). *Control del pardeamiento enzimático en manzanas cortadas (Red delicious) mediante un sistema de envasado activo*. Universidad Técnica Equinoccial.
- Khettal, B., Kadri, N., & Tighilet, K. (2017). Phenolic compounds from Citrus leaves: antioxidant activity and enzymatic browning. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 14(1). doi:10.1515/jcim-2016-0030
- Kokoszka, S. (2007). Edible coatings, formation, characteristics and use - a review. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 57(4).
- Loreto, A. (2021). *Caracterización espacial de la incidencia de bitter pit en manzanas, en función de índices no destructivos de madurez y posición en la planta*. Talca: Universidad de Talca.
- Paredes, E. (2012). *Estudio del proceso de horneado con microondas y su efecto sobre la textura instrumental del fruto de cuadro variedades de manzana (Pyrus malus L.)*. Quito: EPN.
- Park, M., & Kim, G. (2013). The oxidative and antibrowning effects of citrus peel extracts on freshcut apples. *Korean Journal of food science and technology*, 45(5), 598-604. doi:http://dx.doi.org/10.9721/KJFST.2013.45.5.598
- Pérez, J. (2020). *Obtención de aceite esencial y pectinas de la cáscara de naranja y diseño de la unidad de extracción*. Universidad Nacional de Colombia.
- Rosa, M., Wong, J., & Muñiz, D. (2016). Compuestos fenólicos bioactivos de la toronja (Citrus paradisi) y su importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 47(2), 22-35.

Gracias



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA