



## Inactivation of mango pectinmethylesterase by ohmic heating

### Inactivación de pectinmetilesterasa de mango por calentamiento óhmico

Morales-Sánchez, E.<sup>1,\*</sup>, Díaz-Cruz, A.<sup>1</sup>, Regalado, C.<sup>2</sup>, Velázquez, G.<sup>1</sup>,  
González-Jasso, E.<sup>1</sup>, Gaytán-Martínez, M.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional. CICATA-IPN Unidad Querétaro, Cerro Blanco No. 141, Col. Colinas del Cimatarío, C.P. 76090, Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

<sup>2</sup>Posgrado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, Research and Graduate Studies in Food Science, School of Chemistry, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N. Col. Centro, C.P. 76010, Santiago de Querétaro, México.

**Cite this paper/Como citar este artículo:** Morales-Sánchez, E., Díaz-Cruz, A., Regalado, C., Velázquez, G., González-Jasso, E., Gaytán-Martínez, M. (2019). Inactivación de pectinmetilesterasa de mango por calentamiento óhmico. *Revista Bio Ciencias* 6, e665. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.06.e665>



#### ABSTRACT

The work herein is about the thermal inactivation of pectin methylesterase (PME) partially purified mango when applying ohmic heating. The variables of the study were the initial electrical conductivity (0.29 to 0.48 S m<sup>-1</sup>), the applied electric field (17, 20 and 23 V/cm) and treatment temperature (30 to 72 °C). The electrical conductivity was measured in relation to the temperature of Ataulfo mango pulp had 3 ripening levels. It was found that for each ripening level a different electrical conductivity value was obtained, hence, we proceeded to study the effect of the initial electrical conductivity in the inactivation of the PME when ohmic heating is used. It was found that the inactivation of the PME has a direct dependency with the initial electrical conductivity. When the initial electrical conductivity is higher, the inactivation of the PME is also higher at a constant electric field value. On the other hand,

#### Article Info/Información del artículo

Received/Recibido: February 5<sup>th</sup> 2019.

Accepted/Aceptado: July 12<sup>nd</sup> 2019.

Available on line/Publicado: August 12<sup>nd</sup> 2019.

#### RESUMEN

El presente trabajo trata sobre la inactivación térmica de pectinmetilesterasa (PME) de mango parcialmente purificada aplicando calentamiento óhmico. Las variables de estudio fueron la conductividad eléctrica inicial (0.29 a 0.48 S m<sup>-1</sup>), el campo eléctrico aplicado (17, 20 y 23 V/cm) y temperatura de tratamiento (30 a 72 °C). Se midió la conductividad eléctrica en función de la temperatura de pulpa de mango ataulfo con 3 niveles de maduración. Se encontró que cada estado de madurez tiene un valor diferente de conductividad, por lo tanto, se procedió a estudiar el efecto de la conductividad eléctrica inicial en la inactivación de PME por calentamiento óhmico. Se encontró que la inactivación de PME tiene una dependencia directa con la conductividad inicial. A conductividad inicial mayor también es mayor la inactivación de PME a un valor de voltaje constante. Por otro lado se encontró que la inactivación de PME depende del valor de campo eléctrico aplicado: A mayor campo eléctrico aplicado mayor es la inactivación de PME. Se reportan los valores D obtenidos de la cinética de inactivación de PME por calentamiento óhmico. Se concluye que la inactivación de PME de mango por calentamiento óhmico depende del campo

#### \*Corresponding Author:

Morales-Sánchez, Eduardo. Instituto Politécnico Nacional. CICATA-IPN Unidad Querétaro, Cerro Blanco No. 141, Col. Colinas del Cimatarío, C.P. 76090, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. E-mail.: [emorales@ipn.mx](mailto:emorales@ipn.mx)

it was found that the inactivation of the PME depends on the value of the applied electric field. With a higher applied electric field, the inactivation of the PME is higher. The D values were obtained from the kinetic inactivation of PME when the ohmic heating was applied. It is concluded that the inactivation of mango's PME by ohmic heating depends on the applied electric field, as it has been widely reported, but it also depends on the initial conductivity.

---

## KEY WORDS

---

Mango, Pectin methylesterase, Thermal inactivation, ohmic heating.

---

## Introduction

The applied thermal processes in fruits, such as the mango, have been to pasteurize them but also to inactivate enzymes (Lewis & Heppell, 2000; Diaz-Cruz *et al.*, 2016).

The advantage of the enzymatic inactivation is based upon the damage, color change, viscosity changes natural processes or the separation of the solid-liquid phase. The pectin methylesterase (PME) enzyme has the capacity of separate the methoxyl C-6 of the galacturonic residues of pectin polymeric structures, causing changes in the turbidness and in the separation of phases of vegetable products (Carabalí-Miranda *et al.*, 2009). It has been reported that the PME contains thermo-stable and thermo-capable fractions stability causing thermal stability variations in *pitaya*, orange, carrot and *acerola* juices (Castaldo *et al.*, 1997). In this regard, it should be emphasized that the technological problems associated with PME have been related to thermostable pectin esterase of citric juices, being a determinant for the pasteurization (Versteeg *et al.*, 1980).

Studies about the enzymatic inactivation of the PME in fruits such as Ataulfo mango are limited, and having different results about the activity of this enzyme, for example: (Ashraf *et al.*, 1981), determined that within the senescent mango's pulp the pectin esterase activity is high in ripeness stages and that this information allows to select the most convenient maturity stage, nonetheless Roe & Bruemmer (1981), reported that in the first ripening stage of the fruit, the enzyme increases its

eléctrico aplicado, como se ha reportado ampliamente, pero también de la conductividad inicial.

---

## PALABRAS CLAVE

---

Mango, pectinmetilesterasa, inactivación térmica, calentamiento óhmico.

---

## Introducción

Los procesos térmicos aplicados en frutas como mango tienen como objetivo pasteurizar pero también inactivar enzimas (Lewis & Heppell, 2000; Diaz-Cruz *et al.*, 2016).

La ventaja de la inactivación enzimática radica en detener procesos naturales de deterioro como cambios de coloración, cambios en viscosidad o separación de fase líquida-Sólida. La enzima pectin metilesterasa (PME) tiene la capacidad de demetoxilar el C-6 de residuos galacturónicos de estructuras poliméricas de pectina, ocasionando cambios en la turbidez y en la separación de fases de productos vegetales (Carabalí-Miranda *et al.*, 2009). Se ha reportado que la PME contiene fracciones termoestables y termolábiles ocasionando variaciones en la estabilidad térmica de jugos de pitaya, naranja, zanahoria y acerola (Castaldo *et al.*, 1997). En este sentido, cabe resaltar que los problemas tecnológicos asociados con PME se han atribuido a pectinesterasas termoestables en jugos de cítricos, las cuales son determinantes en el establecimiento de los valores de pasteurización (Versteeg *et al.*, 1980).

En frutos como mango ataulfo, los estudios de inactivación enzimática de PME son limitados y con distintos resultados acerca de la actividad de esta enzima, en este sentido, (Ashraf *et al.*, 1981) determinó que en pulpa de mango senescente, la actividad de pectinesterasa es mayor que en cualquier etapa de maduración y que esta información permite elegir el estado de madurez más conveniente; sin embargo, Roe & Bruemmer, (1981), reportaron que en la primera etapa de maduración del fruto, esta enzima aumenta su actividad pero luego se estabiliza e incluso disminuye en algunas ocasiones, así mismo, se ha demostrado mayor actividad en el pericarpio que en el mesocarpio con 39 (PME) unidades por cada 100 g en pericarpio y de 4.5 (PME) unidades por cada 100 g en mesocarpio (Labib *et al.*, 1995). Estudios realizados por Jamsazzadeh *et al.* (2015) indican que existe inhibición de PME por parte de glicoproteínas, explicando así la variabilidad de los resultados en la literatura así como la baja o nula actividad ocasionalmente detectada de esta enzima en diversas frutas.

activity but afterwards it stabilizes and it even decreases in certain occasions, in the same manner, it has been demonstrated a major activity in the pericarp than in the mesocarp, with 39 (PME) units for each 100 g in the pericarp and 4.5 (PME) units for each 100 g in the mesocarp (Labib *et al.*, 1995). The studies carried out by Jamsazzadeh *et al.* (2015) indicate that there is an inhibition of the PME on behalf of the glycoproteins, which in this manner explains the variety of results in the literature as well as the low or null occasional activity detected of this enzyme in different fruits.

In general, for the preservation of the turbidness and texture of the mango pulps, it is necessary for the PME to be inactivated or inhibited. Several studies have been reported about the inactivation of the PME, as much in its traditional process (heat exchangers) as well as ohmic heating process.

Ohmic heating or heating by means of Joule effect, is an emerging technology in food processing, that takes advantage of the movement of ions and electrolyte to heat a food matrix when an electrical potential is applied (Castro *et al.*, 2003). The ohmic heating has shown efficiency in different food preservation areas, from blanching processes and up to the more specific processes such as the inactivation of enzymes and microorganisms (Jakób *et al.*, 2010).

One of the important parameters for the ohmic heating is the electric conductivity ( $\sigma$  [S/m]) of the food. The electric conductivity depends mainly on the temperature, voltage frequency applied, concentration of electrolyte, and solid particle size. The presence of ionic substances such as acids and salts within the food increases the electrical conductivity (Palaniappan & Sastry, 1991; Somavat *et al.*, 2012).

In the studies reported about pasteurization and inactivation of enzymes by ohmic heating, the initial conductivity value is not taken into account, yet it is known that it is an important parameter because it determines the delivered initial power and therefore the heating rate. Hence, the objective of this research work is to determine the effect of ohmic heating parameters as initial electrical conductivity, electric potential applied and temperature in the PME thermal inactivation of Ataulfo mango.

## Material and Methods

### Extraction of the PME.

Pulp bagasse from ripe Ataulfo mango was obtained (17 °Brix, pH 4.1+0.2) using a juice commercial extractor (Jack

En general para la preservación de la turbidez y textura de pulpas de mango es necesario que la PME sea inactivada o inhibida. En la literatura se han reportado varios estudios de inactivación de PME tanto por proceso tradicional (intercambiadores de calor) como por calentamiento óhmico.

El calentamiento óhmico o calentamiento por efecto Joule, es una tecnología emergente en el procesamiento de alimentos que aprovecha el movimiento de iones y electrolitos para calentar una matriz alimenticia cuando se le aplica un potencial eléctrico (Castro *et al.*, 2003). El calentamiento óhmico ha mostrado eficacia en distintos campos de la conservación de alimentos, desde procesos de escaldado hasta procesos más específicos como la inactivación de enzimas y microorganismos (Jakób *et al.*, 2010).

Uno de los parámetros importantes para el calentamiento óhmico es la conductividad eléctrica ( $\sigma$  [S/m]) del alimento. La conductividad eléctrica depende principalmente de la temperatura, frecuencia del voltaje aplicado, concentración de electrolitos y tamaño de partícula de los sólidos. La presencia de sustancias iónicas tales como ácidos y sales en los alimentos incrementa la conductividad (Palaniappan & Sastry, 1991; Somavat *et al.*, 2012).

En estudios reportados sobre pasteurización e inactivación de enzimas por calentamiento óhmico no se toma en cuenta el valor de la conductividad inicial pero se sabe que es un parámetro importante porque determina la potencia inicial entregada y por lo tanto la razón de calentamiento. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es determinar el efecto de la conductividad inicial y del potencial eléctrico aplicado en la inactivación térmica de PME de mango ataulfo utilizando calentamiento óhmico.

## Material y Métodos

### Extracción de PME.

Se obtuvo bagazo de pulpa de mangos maduros (17° Brix, pH de 4.1+0.2) de la variedad ataulfo mediante un extractor de jugos comercial (Jack Lalanne Power Juicer, USA). El bagazo de pulpa de mango obtenido fue utilizado para la extracción de PME. El método utilizado para la extracción de PME fue el reportado por Vercet *et al.* (1999) y Labib *et al.* (1995) con algunas modificaciones; el bagazo de mango fue suspendido en un mezcla con una solución amortiguadora de borato-acetato (B-A) (0.45 mol/L ácido bórico, 0.1 mol/L tetraborato de sodio, 0.3 mol/L acetato de sodio) pH 8.3

Lalanne Power Juicer, USA). The pulp bagasse obtained was used for the extraction of PME. The utilized method for the extraction of the PME was reported by Vercet *et al.* (1999) and Labib *et al.* (1995) with certain modifications. The pulp bagasse of the mango was suspended in a mixture with a buffer solution of borum acetate (B-A) (0.45 mol/L boric acid, 0.1 mol/L sodium tetraborate, 0.3 mol/L sodium acetate) pH 8.3 proportion 1:3 containing 0.2 mol/L NaCl. The mixture was shaken for 4 h continuously followed by 12 hours of resting time at 4 °C.

The obtained extract was centrifuge at 3000 g and the supernatant was dialyzed for 12 h against B-A diluted 1:1000, later the dialyzed product was subjected to a selective precipitation (salting out) with a saturated 30-80 % ammonia sulfate. The precipitated was re-dissolved in a 1:3 at 1:1000 B-A proportion for a later dialyzed against the solution of 1:1000 B-A. The dialyzed sample was considered as being an enzymatic raw extract containing PME, which was called E-PME.

#### **Obtaining a thermostable fraction of PME from mango Ataulfo.**

The presence of thermolabile and thermostable fractions of mango PME was reported previously by Labib *et al.* (1995). In order to avoid the effects of the thermolabile fraction a procedure was applied to the mango E-PME consisting of an isothermal treatment at 70 °C by traditional heating (warm water bath) according to the report by Diaz-Cruz *et al.* (2016). Figure 1 shows the inactivation kinetic of E-PME where the inactivation of the thermolabile and thermostable fraction were measured. The thermostable fraction of the PME (PME-T) represented 15 % of the total activity of the E-PME mango extract. The thermostable extract of PME (PME-T) was lyophilized and stored at 4 °C. The PME-T lyophilized was re-suspended in distilled water and again dialyzed against distilled water for the inactivation kinetic, in as much by traditional treatment as well as by ohmic heating.

#### **Determination of the PME activity.**

The PME activity was quantified by titration of the carboxyl groups liberated from the pectin using an automatic pH-Stat (Metrohm, Herisau, Switzerland).

The trials were carried out using a 10 mL of apple pectin (Sigma Aldrich, 70-75 % esterification) at a 1 % substrate, containing 0.2 mol/L NaCl, adjusting the pH of the mixture at

proporción 1:3, conteniendo 0.2 mol/L NaCl. La mezcla se agitó durante 4 h seguidas de 12 h en reposo a 4 °C.

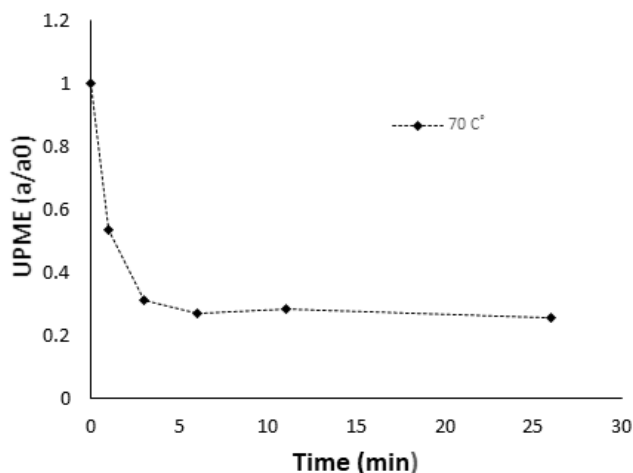
El extracto obtenido fue centrifugado a 3000 g y el sobrenadante fue dializado durante 12 h contra B-A diluido 1:1000, posteriormente el dializado fue sometido a precipitación selectiva (salting out) con sulfato de amonio al 30-80 % de saturación. El precipitado resultante fue re-disuelto en proporción 1:3 en 1:100 B-A, para después ser dializado contra la solución 1:1000 B-A. El dializado resultante fue considerado como un extracto crudo enzimático conteniendo PME denominado E-PME.

#### **Obtención de fracción termoestable de PME de mango ataulfo.**

La existencia de fracciones termolábiles y termo estables de PME de mango fue reportada con anterioridad por Labib *et al.* (1995). Para evitar los efectos de la fracción termolabil se procedió a aplicar a la E-PME de mango un tratamiento isotérmico a 70° C por calentamiento convencional (baño maría) de acuerdo a lo reportado por Diaz-Cruz *et al.* (2016). La Figura 1 muestra la cinética de inactivación donde se mide la inactivación de la fracción termolábil (antes de los 10 minutos) y la fracción termoestable posterior a este tiempo. La fracción termoestable de PME (PME-T) representó el 15 % del total de actividad del extracto E-PME de mango. El extracto termoestable de PME (PME-T) fue liofilizado y almacenado. La PME-T liofilizada fue re-suspendida en agua destilada y de nuevo dializada contra agua destilada para su uso en la cinética de inactivación tanto por tratamiento tradicional como por calentamiento óhmico.

#### **Determinación de actividad de PME.**

La actividad de PME fue cuantificada por titulación de los grupos carboxilo libres de pectina con 10 mM NaOH usando un pH-Stat automático (Metrohm, Herisau, Switzerland). Los ensayos fueron realizados usando 10 mL de una solución de pectina de manzana 70-75 % grado de esterificación (Sigma-Aldrich) al 1 % como sustrato, conteniendo 0.2 mol/L NaCl, ajustando el pH de mezcla a 8.5 con 0.1 N NaOH bajo consideraciones de autodegradación de la pectina descritas por Renard & Tibault, (1996), y finalmente ajustando el pH a 7 con 10 mM HCl, inmediatamente después de adicionar 1.6 mL de extracto crudo de PME para control de pH durante el tiempo de reacción. El pH se mantuvo a 7 mediante la adición de 10 mM NaOH por un periodo de 10-15 min a 30 °C. Una unidad de actividad de PME (UPME) fue definida como unidad de



**Figure 1. Thermal inactivation of the thermolabile fraction of E-PME.**

**Figura 1. Inactivación térmica de la fracción termolábil de E-PME.**

8.5 with 0.1 N NaOH under auto-degradation consideration of the pectin describe by Renard & Tibault, (1996), And finally adjusting the pH at 7 with 10mM HCl, immediately after adding 1.6 mL of PME raw extract for the control of the pH during the reaction time. The pH was kept at 7 by means of adding 10 mmol NaOH for a 10-15 min period at 30° C. One unit of PME activity (UPME) was defined as the quantity of enzyme capable of releasing 1 mmol of carboxyl groups / min (Balaban *et al.*, 1991) and calculated according to Equation 1.

$$UPME /mL = \frac{(mL \text{ of NaOH})(molarity \text{ of NaOH})(1000)}{(time)(Sample \ volume)} \quad (\text{Eq. 1})$$

#### **Thermal treatments by the traditional process TP.**

Samples of 1.6 mL of E-PME were processed at different times and different temperatures (68-78 °C) in 1.7 mL glass tubes, in triplicate and placed in a water bath at a selected temperature. After such treatments, the samples were immediately cooled in a cold water bath, and the residual activity of the PME was analyzed within the first 60 min after each treatment. The heating time was recorded beginning at the time when the samples reached the desired temperature.

enzima capaz de liberar 1 mmol de grupos carboxilo/ min (Balaban *et al.*, 1991) y calculada de acuerdo a la Ecuación 1.

$$UPME /mL = \frac{(mL \text{ of NaOH})(molarity \text{ of NaOH})(1000)}{(time)(Sample \ volume)} \quad (\text{Ec. 1})$$

#### **Tratamientos térmicos por el proceso tradicional TP.**

Volúmenes de 1.6 mL de E-PME fueron tratados a diferentes tiempos y temperaturas (68-78 °C) en tubos de cristal de 1.7 mL por triplicado. Los tubos fueron colocados en baño de agua a temperatura seleccionada. Después de los tratamientos, las muestras fueron inmediatamente enfriadas en un baño de agua fría, finalmente se analizó la actividad residual de PME dentro de los primeros 60 min posteriores a cada tratamiento. Los tiempos de calentamiento fueron registrados a partir de que las muestras alcanzaron la temperatura deseada.

#### **Tratamientos por calentamiento óhmico.**

Los tratamientos por calentamiento óhmico fueron realizados aplicando tres intensidades de

### Treatments by ohmic heating.

The treatments by ohmic heating were performed applying three different intensities of electric field (17, 20 y 23 V/cm) in a ohmic heating device built in the laboratory. A cubic heat cell was used with a magnetic stirrer feature, in order to guarantee a homogeneous temperature in the whole volume. The temperature was monitored at different points of the cell. Once the applied treatment, the samples were immediately cooled in a cold water bath and the PME residual activity was analyzed.

### Ohmic heating treatment equipment.

The Ohmic Heating device used for experiments was built in CICATA-IPN Unidad Querétaro, Mexico and is shown in Figure 2. The set up consists of an AC Variable Transformer (Variac, 220 VAC); a temperature control with heating ramp and interface to PC type RS-232 (Watlow Series 981); 2 desktop multimeters (Model 34410A, Agilent) to acquire the values of voltage and current in a PC (not shown in figure 2); an isolated T-type thermocouple (Physitemp Instruments, model IT-18), and a magnetic stirrer plate (CORNING, model PC-320).

The ohmic heating cells used for measuring PME activity were made of acrylic cubes of 1 cm x 1.7 cm x 1 cm with 2 titanium electrodes of 1 cm x 1.7 cm and a 4 mm magnetic stirrer was used for to shake the E-PME.

### Determination of the $K_E$ and D values.

The residual activity obtained from the PME resulting from each ohmic heating and traditional treatment was calculated as a percentage of enzymatic activity of the extract without thermal treatment. A first order kinetic model was used to adjust the experimental data that corresponds to the residual activity. Equation 2.

$$\frac{b}{a} = e^{-k_E t} \quad \text{Eq. 2}$$

Where a and b are respectively initial and remaining activities at time t [min],  $k_E$  is the inactivation rate constant [1/min] and t is the time [min].

For a better representation of the data, the decimal reduction time or D value was used. The D value is defined as the necessary time, at a given temperature, for the enzymatic activity to be reduced in a logarithmic

campo eléctrico (17, 20 y 23 V/cm) en un dispositivo de calentamiento óhmico construido en laboratorio. Se utilizó una celda de calentamiento cubica con agitación magnética por imán para garantizar una temperatura homogénea en todo el volumen. La temperatura fue monitoreada en diferentes puntos de la celda. Aplicado el tratamiento, las muestras fueron inmediatamente enfriadas en un baño de agua fría y analizada la actividad residual de PME.

### Equipo de calentamiento óhmico.

El equipo de calentamiento óhmico utilizado fue construido en CICATA-IPN Unidad Querétaro, México, como se muestra en la figura 2. El equipo consta de un transformador variable (STACO, US, 220 VAC); un control de temperatura con rampa de calentamiento e interface tipo RS232 a una computadora (Watlow Series 981); 2 multímetros de banco desktop (Model 34410A, Agilent) para adquirir los valores de voltaje y corriente AC a una computadora (no se muestran en la figura 2); un termopar aislado tipo T (Physitemp Instruments, model IT-18) y un agitador magnético (CORNING, model PC-320). Las celdas de calentamiento óhmico utilizadas para medir la actividad de PME, fueron construidas como cubos de acrílico de 1cm x 1.7cm x 1 cm con 2 electrodos de titanio de 1cm x 1.7 cm, y se incorporó un agitador magnético de 4 mm para homogeneizar la temperatura en la celda.

### Determinación de los valores de $K_E$ y D.

La actividad residual de PME obtenida a partir de cada tratamiento por calentamiento óhmico y por tratamiento convencional fue calculada como un porcentaje de la actividad enzimática en extracto sin tratamiento térmico. Se utilizó un modelo cinético de primer orden para ajustar los datos experimentales correspondientes a la actividad residual. Ecuación 2.

$$\frac{b}{a} = e^{-k_E t} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde a and b son la actividad inicial y residual respectivamente al tiempo t [min],  $k_E$  es la constante de la razón de inactivación [1/min] y t es el tiempo [min].

Para una mejor representación de los datos se utilizó el tiempo de reducción decimal o valor D. El valor D es definido como el tiempo necesario, a una temperatura dada, para que la actividad enzimática se reduzca en un

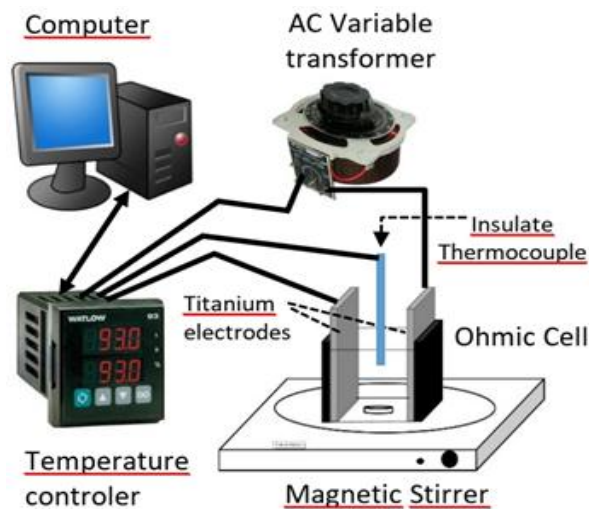


Figure 2. Ohmic heating treatment equipment.

Figura 2. Equipo de calentamiento óhmico construido.

cycle, that is to say 90 %. For the calculation of the D value equation 3 was used as follows:

$$D = \frac{\ln(10)}{k_E} = \frac{2.3025}{K_E} \quad \text{Eq. 3}$$

Where D is the decimal reduction time [min].

ciclo logarítmico, es decir, el 90 %. Para el cálculo del valor D se utilizó la ecuación 3:

$$D = \frac{\ln(10)}{k_E} = \frac{2.3025}{K_E} \quad \text{Ec. 3}$$

Donde D es el tiempo de reducción decimal [min].

### Statistical analysis

The obtained data was analyzed by means of ANOVA, and the comparison of the measurements was conducted with the Tukey a  $p \leq 0.05$  test. The statistical analysis was performed using Minitab 16 (Minitab Inc, 2010). All measurements were carried out by triplicate. Data were expressed as the mean  $\pm$  standard deviation (SD).

### Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron mediante ANOVA y la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey a  $p \leq 0.05$ . El análisis estadístico fue desarrollado utilizando el programa Minitab 16 (Minitab Inc, 2010). Se reporta la media  $\pm$  la desviación estándar de tres réplicas.

### Results and Discussion

#### Electrical conductivity of mango's pulp having three ripening stages.

The electrical conductivity was measured as per the Ataulfo type mango's temperature with a ripening level of L3 (14.1° Brix), L4 (15.4° Brix) and L5 (17.0° Brix) according to the Kader (2015) classification. The electrical conductivity has a lineal dependency in

### Resultados y Discusión

#### Conductividad eléctrica de pulpa de mango con tres estados de madurez.

Se midió la conductividad eléctrica en función de la temperatura de mango variedad ataulfo con madurez nivel L3 (14.1° Brix), L4 (15.4° Brix) and L5 (17.0° Brix) según la clasificación de Kader (2015). La conductividad eléctrica tiene una dependencia lineal

regards to the temperature exhibited on Figure 3. It is appreciated that the 3 ripening stages did not show any significant difference ( $p \leq 0.05$ ) but, indeed demonstrated a tendency where the L5 corresponding electrical conductivity is higher than the ripening conductivities L4 and L3. These electric conductivities are in accordance to the results reported by Sosa-Morales *et al.* (2009). The conductivity values obtained from Ataulfo mango having different ripening grades were taken as a reference in order to study the effect of the initial conductivity during the ohmic heating (Table 1).

#### Electrical conductivity of the PME-T.

The initial electrical conductivity is a very important parameter when ohmic heating is used. For such reason we proceeded to investigate the effect of the initial electrical conductivity in the heating profile when a constant electric field is applied. The initial electrical conductivity of the PME-T was adjusted with NaCl with the purpose of evaluating the effect of the initial electrical conductivity in the heating profile. The initial values of the electrical conductivity are the ones shown on Table 1 with its corresponding concentration of NaCl (initial conductivity range 0.29 to 0.48 S/m).

con respecto a la temperatura como se muestra en la Figura 3. Se observa que los 3 estados de madurez no mostraron ninguna diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) pero si una tendencia donde la conductividad correspondiente a madurez L5 es mayor a las conductividades de madurez L4 y madurez L3. Estas conductividades eléctricas concuerdan con lo reportado por Sosa-Morales *et al.* (2009). Los valores de conductividad obtenidos de mango a diferentes grados de madurez se tomaron como referencia para estudiar el efecto de la conductividad inicial durante calentamiento óhmico (Tabla 1).

#### Conductividad eléctrica de PME-T.

La conductividad eléctrica inicial es un parámetro muy importante cuando se utiliza calentamiento óhmico. Por ello se procedió a investigar el efecto que tiene la conductividad eléctrica inicial PME-T en el perfil de calentamiento cuando se aplica un campo eléctrico. La conductividad inicial de PME-T se ajustó con NaCl con el fin de evaluar el efecto de la conductividad eléctrica inicial en la inactivación de la enzima. Los valores de conductividad eléctrica inicial son los que se muestran en la Tabla 1 con su correspondiente concentración de NaCl utilizada (rango de conductividad inicial de 0.29 a 0.48 S/m).

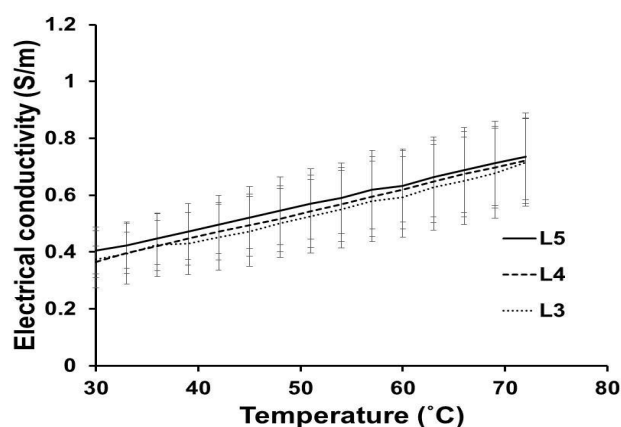


Figure 3. Electrical conductivity of Ataulfo mango at three different ripening stages.

Figura 3. Conductividad eléctrica de mango ataulfo correspondientes a tres estados de maduración.



**Table 1.**  
**Electrical conductivity ( $S \cdot m^{-1}$ ) of three different ripening stages of Ataulfo mango's pulp and electrical conductivity ( $S \cdot m^{-1}$ ) of PME-T to different concentrations of NaCl.**

**Tabla 1.**  
**Conductividad eléctrica ( $S \cdot m^{-1}$ ) de pulpa de mango de tres estados de madurez y conductividad eléctrica ( $S \cdot m^{-1}$ ) de ECE termo-resistente a diferentes concentraciones de NaCl.**

Temperature (°C)	Electrical conductivity of different ripe states of Ataulfo mango's pulp ( $S \cdot m^{-1}$ )			Electrical conductivity of PME-T with different NaCl concentration( $S \cdot m^{-1}$ )				
	L3	L4	L5	0.021	0.028	0.031	0.035	0.043
30	0.38 ± 0.10	0.37 ± 0.06	0.40 ± 0.08	0.29 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.37 ± 0.02	0.46 ± 0.03	0.48 ± 0.02
36	0.43 ± 0.11	0.42 ± 0.09	0.45 ± 0.09	0.32 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.45 ± 0.02	0.53 ± 0.02	0.57 ± 0.06
42	0.45 ± 0.12	0.47 ± 0.10	0.50 ± 0.10	0.36 ± 0.02	0.44 ± 0.02	0.52 ± 0.02	0.61 ± 0.02	0.66 ± 0.04
48	0.50 ± 0.12	0.52 ± 0.12	0.55 ± 0.12	0.40 ± 0.02	0.51 ± 0.02	0.59 ± 0.02	0.70 ± 0.02	0.75 ± 0.04
54	0.55 ± 0.14	0.57 ± 0.13	0.59 ± 0.12	0.45 ± 0.02	0.58 ± 0.02	0.67 ± 0.02	0.77 ± 0.02	0.83 ± 0.05
60	0.59 ± 0.14	0.62 ± 0.14	0.63 ± 0.13	0.49 ± 0.02	0.65 ± 0.02	0.75 ± 0.02	0.85 ± 0.02	0.94 ± 0.05
66	0.65 ± 0.15	0.67 ± 0.15	0.69 ± 0.15	0.53 ± 0.02	0.71 ± 0.02	0.84 ± 0.02	0.93 ± 0.02	1.06 ± 0.05
72	0.72 ± 0.15	0.72 ± 0.15	0.74 ± 0.15	0.56 ± 0.02	0.75 ± 0.02	0.90 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.12 ± 0.05

Figure 4 shows temperature profiles being as per the time for each initial PME-T electric conductivity obtained applying a constant 20 V/cm electric field and up to 72 °C. As can be observe, the heating rate (slope) depends on the initial electrical conductivity. This means that the initial value of the electrical conductivity determine the heating rate of the sample and therefore the time to reach the temperature. As the electrical conductivity depend of the water content of soluble solids then the initial electrical conductivity is a function of ripening state as was mentioned before. Therefore, PME enzyme inactivation by ohmic heating will depend of the initial electrical conductivity. In ohmic heating the electrical power is calculated by the joule law that say that delivered power is a function of the voltage and of the conductivity (Sarang *et al.*, 2008). So, according with the results the heating rate is influenced by the initial conductivity and therefore of the applied power. At high initial conductivity, a high power is applied and quickly is reached the temperature for processing. Now will be necessary to know the effect of the initial electrical conductivity in the residual activity.

La Figura 4 muestra los perfiles de temperatura en función del tiempo para cada conductividad eléctrica inicial de PME-T obtenida aplicando un campo eléctrico constante de 20 V/cm y hasta una temperatura de 72 °C. Se muestra que la velocidad de calentamiento o pendiente de calentamiento depende de la conductividad eléctrica inicial. Esto quiere decir que el valor inicial de la conductividad eléctrica determina la razón de calentamiento de la muestra y por lo tanto el tiempo para alcanzar la temperatura de proceso. Como la conductividad eléctrica depende del contenido de solidos solubles en el agua, entonces la conductividad eléctrica es una función del estado de madurez del mango, como se mencionó anteriormente. Por lo tanto, la inactivación de la enzima PME por calentamiento óhmico dependerá del valor inicial de la conductividad eléctrica. En el calentamiento óhmico la potencia eléctrica es calculada por medio de la ley de Joule que dice que la potencia eléctrica entregada es una función del voltaje y de la conductividad (Sarang *et al.*, 2008). Así, de acuerdo con los resultados, la razón de calentamiento depende de la conductividad eléctrica inicial y por lo tanto de la potencia aplicada. A una alta conductividad inicial, una mayor potencia es aplicada alcanzando rápidamente la temperatura

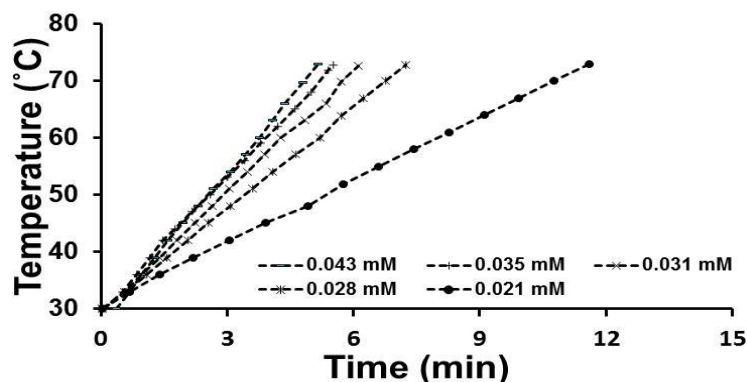


Figure 4. Temperature profiles of PME-T with different initial electrical conductivities.

Figura 4. Perfiles de temperatura de PME-T con diferentes conductividades eléctricas iniciales.

#### Residual activity of the PME-T with different concentrations of the NaCl by ohmic heating and traditional process.

As follows: it was proceeded to observe the residual activity of the PME-T during the thermal treatment by ohmic heating (OH) and by the traditional process (TP) to determine the effect of the initial electric conductivity in the inactivation of the PME. A 20 V/cm electric field was applied. The results are shown on Figure 5. The treatments with ohmic heating presented a lower residual activity value of the PME than the treatments by traditional process, there being an inversely proportional relation between the initial electric conductivity and the residual activity. At a major initial electrical conductivity there were a lower residual activity. It is observed, in Figure 5, that in the traditional process (TP) samples with NaCl there were not a significant effect in the residual activity. It also can be observed that there were not an effect of the concentration of the NaCl in the inactivation of the enzyme since the residual activity was maintained constant. Therefore, we can affirm that the initial electric conductivity is an important parameter that has a significance effect in the residual activity of PME enzyme when ohmic heating is applied. This is an important result of the present investigation.

#### Inactivation kinetic of the PME during ohmic heating.

Once the effect of the initial electrical conductivity

de procesamiento. Ahora será necesario conocer el efecto de la conductividad eléctrica inicial en la actividad residual.

#### Actividad residual de PME-T con diferentes concentraciones de NaCl por calentamiento óhmico y proceso tradicional.

A continuación se procedió a obtener la actividad residual de PME-T durante un tratamiento térmico por calentamiento óhmico (OH) y por proceso tradicional (TP) para determinar el efecto de la conductividad eléctrica inicial en la inactivación de PME. Se aplicó un campo eléctrico de 20 V/cm. Los resultados se muestran en la Figura 5. Los tratamientos con calentamiento óhmico presentaron un menor valor de actividad residual de PME que los tratamientos por proceso tradicional, existiendo una relación inversamente proporcional entre la conductividad eléctrica inicial y la actividad residual. A mayor conductividad eléctrica inicial menor actividad residual. En la figura 5 se observa que en el proceso tradicional TP no existe un efecto significativo de la actividad residual. También se puede observar que no existe efecto de la concentración de NaCl en la inactivación de la enzima ya que la actividad residual se mantiene constante. Por lo tanto podemos afirmar que existe un efecto importante entre la actividad residual y la conductividad eléctrica inicial cuando se aplica calentamiento óhmico. Este es un resultado importante de la presente investigación.

#### Cinéticas de inactivación de PME durante calentamiento óhmico.

Una vez que se determinó el efecto de la conductividad

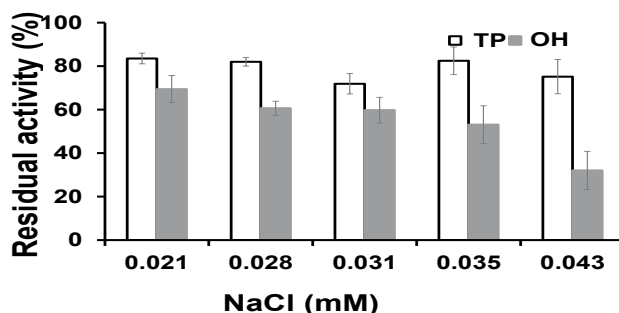


Figure 5. Inactivation of the PME-T at 72 °C due to the concentration of the NaCl.

Figura 5. Inactivación de PME-T a 72 °C en función de la concentración de NaCl.

in the inactivation of the PME-T was determined, it is proceeded to carry out experiments to determine the effect of the electric field at a constant conductivity. The value of the initial electrical conductivity selected was 0.037 S/m at 30° C corresponding to 0.031 mM of NaCl. The inactivation kinetic of the PME-T extract were carried out for a traditional process. Figure 6 shows the PME-T inactivation kinetic by ohmic heating with a 20 V/cm electric field. The results show that there is an electric field effect on the inactivation of the PME-T extract. With a higher electric field, there is less residual activity at the same temperature. According to some authors the electric field effect in the inactivation of the PME enzyme it is due to the polarization of the molecules of the enzyme having an electrolysis effect; or the electric current through the food produces electropores in the cellular membrane inhibiting the enzymatic action (Camargo *et al.*, 2010). This is an important result because show that ohmic heating process inactive PME enzyme at low temperature allowing that mango preserve its textural characteristics because had a low thermal treatment. This is very significant in a pasteurization process.

Table 2 shows the D and  $k_E$  values obtained from the inactivation kinetic of the PME-T in as much as per ohmic heating as well as the traditional process. It is observed that the  $k_E$  values increase according to the temperature but also according to the applied potential. In regards to the traditional process the D value at 78 °C is 20.95, but for the ohmic treatment at the same temperature the D values vary according to the applied voltage: for an electric field

inicial en la inactivación de PME-T, se procede a realizar experimentos para determinar el efecto del campo eléctrico a una conductividad constante. El valor de conductividad eléctrica inicial elegida fue de 0.037 S/m correspondiente al valor promedio del rango de conductividades iniciales de la Tabla 1. La concentración de NaCl fue de 0.031 mM dando una conductividad eléctrica de 0.037 S/m a 30 °C. Se realizaron las mismas cinéticas de inactivación del extracto PME-T para un proceso convencional. La Figura 6 muestra la cinética de inactivación de PME-T por calentamiento óhmico a un campo eléctrico de 20 V/cm. Los resultados muestran que existe un efecto del campo eléctrico en la inactivación del extracto de PME-T. A mayor campo eléctrico, menor actividad residual a una misma temperatura. De acuerdo a algunos autores el efecto del campo eléctrico en la inactivación de la enzima PME es debido a la polarización de las moléculas de la enzima produciendo un efecto de electrolisis o bien la corriente eléctrica dentro del alimento produce una electroporación en la membrana celular inhibiendo la acción enzimática (Camargo *et al.*, 2010). Este es un resultado importante porque muestra que el proceso por calentamiento óhmico inactiva la enzima PME a una temperatura menor permitiendo que el mango pueda mantener sus características texturales debido a un menor tratamiento térmico. Lo que es importante en el proceso de pasteurización.

La Tabla 2 muestra los valores D y los valores de constante de inactivation rate constant  $k_E$  obtenidas de la cinética de inactivación de PME-T tanto por calentamiento óhmico como por proceso tradicional. Se observa que los valores de  $k_E$  se incrementan de acuerdo a la temperatura pero también de acuerdo al potencial aplicado. Con respecto al proceso tradicional el valor D a 78 °C es de 20.95 pero para calentamiento óhmico a la misma temperatura los valores

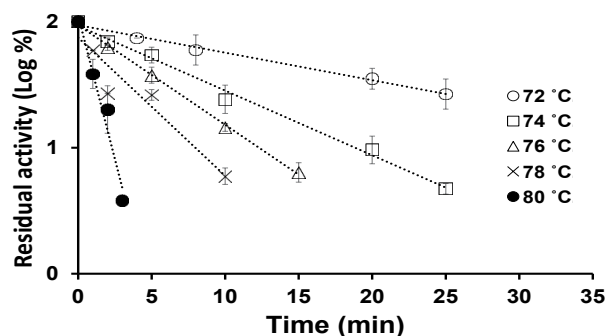


Figure 6. Inactivation of the PME-T with ohmic heating process at 20 V/cm.

Figura 6. Inactivación de PME-T a calentamiento óhmico a 20 V/cm.

**Table 2.**  
D and  $k_E$  values of the inactivation kinetic of PME.

**Tabla 2.**  
Valores D y  $k_E$  de inactivación de PME durante calentamiento óhmico.

Treatment / Electric Field strength	Temperature (°C.)	D Value (min)	Constant of inactivation ( $k_E$ [sec <sup>-1</sup> ])
Traditional Process	72	82.67	0.03
	74	56.22	0.04
	76	36.24	0.06
	78	20.95	0.11
	72	45.40	0.05
17 V/cm	74	31.08	0.07
	76	21.80	0.11
	78	13.34	0.17
	72	38.97	0.06
20 V/cm	74	18.67	0.12
	76	12.29	0.19
	78	5.73	0.40
	72	41.85	0.06
23 V/cm	74	30.36	0.18
	76	5.98	0.38
	78	3.99	0.58

measuring 17 V/cm the D value at 78° was 13.34; for a 20 V/cm electric field value the D value at 78 °C was 5.73; and for a 23 V/cm field the D value at 78 °C was 3.99. As D value is the time that enzymatic activity is reduced in a logarithmic cycle, these results indicate that the enzyme inactivation by ohmic heating is carried on faster than the traditional process at the same temperature ie applying 20 V/cm it reduces almost a logarithmic cycle comparing with traditional process. It is also observed that it is possible to obtain the same D value at lower temperatures when different electric fields are applied. Such result indicates that the ohmic heating can achieve the same enzymatic inactivation as compared to a traditional process but at a lower temperature, having as an advantage a lower thermal treatment, keeping functional and textural properties (Jakób *et al.*, 2010).

Because the discussion about the causes of the inactivation of the PME by ohmic heating are a subject of debate, this work contribute with two important facts: 1) the initial electrical conductivity has an effect in the inactivation of the PME-T at a constant electric field, y 2) the electric field has an inactivation effect on the PME-T at a constant conductivity. This means that the increase of charge carriers by addition of the NaCl (high initial electrical conductivity) benefits the inactivation of the PME-T by ohmic heating.

## Conclusions

The present work shows that the initial electrical conductivity in a mango PME extract has an effect on the residual activity of the PME during ohmic heating. At a higher initial conductivity, there is a minor residual activity of the PME. It also demonstrates that the effect of the electric field during ohmic heating is directly proportional to the enzymatic inactivity of the extract of mango PME. At a higher electric field, the enzymatic inactivity of the PME of mango extract is higher as well. This demonstrates the synergic effect of the ohmic heating between the electrical conductivity and the electric field.

This study exhibits that the ohmic heating can achieve the same enzymatic inactivity of the PME of mango, during a traditional process, but at a lower temperature, having the advantage of a lower degradation of the texture and functional properties.

D varían de acuerdo al voltaje aplicado: para un campo eléctrico de 17 V/cm el valor D a 78° fue de 13.34; para un campo eléctrico de 20 V/cm el valor D a 78 °C fue de 5.73; y a un campo de 23V/cm el valor D a 78 °C fue de 3.99. Como el valor D es el tiempo en el cual la actividad enzimática es reducida un ciclo logarítmico, entonces, los resultados indican que la inactivación de la enzima por calentamiento óhmico se lleva a cabo más rápidamente que por el proceso tradicional a una misma temperatura, por ejemplo, cuando se aplica 20 V/cm, la actividad residual se reduce casi a un ciclo logarítmico más comparando con el proceso tradicional. Este resultado es importante pues garantiza la inactivación de la enzima. También se observa que es posible obtener un mismo valor D a temperaturas menores cuando se aplican diferentes campos eléctricos. Esto indica que el calentamiento óhmico puede lograr la misma inactividad enzimática que un proceso convencional pero a una temperatura menor, teniendo como ventaja que a menor tratamiento térmico sus propiedades funcionales y texturales se conserven (Jakób *et al.*, 2010).

Si bien la discusión acerca de las causas primarias de la inactivación de PME por calentamiento óhmico aún son tema de debate, en este trabajo se muestran dos hechos importantes: 1) La conductividad eléctrica inicial tiene efecto en la inactivación de PME-T a un campo eléctrico constante, y 2) El campo eléctrico tiene un efecto de inactivación de PME-T a conductividad constante. Esto quiere decir que el aumento de portadores de carga por adición de NaCl beneficia a la inactivación de PME-T por calentamiento óhmico.

## Conclusiones

En el presente estudio se mostró que la conductividad eléctrica inicial de un extracto de PME de mango durante calentamiento óhmico tiene un efecto sobre la actividad residual de PME. A una mayor conductividad inicial existe una menor actividad residual de PME. También se muestra que el efecto del campo eléctrico durante calentamiento óhmico es directamente proporcional a la inactividad enzimática de extracto de PME de mango. A mayor campo eléctrico mayor inactividad enzimática a una misma temperatura. Esto demuestra el efecto sinérgico del calentamiento óhmico entre la conductividad y el campo eléctrico.

El presente estudio muestra que el calentamiento óhmico puede lograr la misma inactividad enzimática de PME de mango que un proceso convencional pero a una temperatura menor, teniendo como ventaja una menor degradación de sus propiedades funcionales y texturales.

**Acknowledgements**

Authors would like thanks to the Instituto Politécnico Nacional and CONACYT for their financial support through grant SIP 20161290 and 20171461.

**Agradecimientos**

Los autores desean agradecer al Instituto Politécnico Nacional y CONACYT por su apoyo financiero a través de la subvención SIP 20161290 y 20171461.

**References**

- Ashraf, M; Khan, N; Ahmad, M. and Elahi, M. (1981). Studies on the pectinesterase activity and some chemical constituents of some pakistani mango varieties during storage ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 29(3): 526-528. <https://doi.org/10.1021/jf00105a023>
- Balaban, M. O., Arreola, A. G., Marshall, M., Peplow, A., Wei, C. I. and Cornell, J. (1991). Inactivation of Pectinesterase in Orange Juice by Supercritical Carbon Dioxide. *Journal of Food Science*, 56(3): 743-746. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb05372.x>
- Camargo Knirsch Marcos, Alves dos Santos Carolina, Martins de Oliveira Soares Vicente António Augusto, and Vessoni Penna Thereza Christina, (2010). Ohmic heating – a review, *Trends in Food Science & Technology*, 21(9): 436-441. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.06.003>
- Carabalí-Miranda Ingrid, Narváez-Cuenca Carlos, and Restrepo-Sánchez Luz (2009). Extracción y medida de actividad de Pectin Metil Estearasa en Pitaya Amarilla (*Acanthocereus pitajaya*), enzima relacionada con el ablandamiento. *Acta biol. Colomb.* 14(2): 73-82. <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319027883006.pdf>
- Castro, I., Teixeira, J. A., Salengke, S., Sastry, S. K. and Vicente, A. A. (2003). The influence of field strength, sugar and solid content on electrical conductivity of strawberry products. *Journal of Food Process Engineering*, 26(1): 17–29. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1745-4530.2003.tb00587.x>
- Castaldo, D., Laratta, B., Loiudice, R., Giovane, A., Quagliuolo, L. and Servillo, L. (1997). Presence of Residual Pectin Methylsterase Activity in Thermally Stabilized Industrial Fruit Preparations. *LWT - Food Science and Technology*, 30(5): 479-484. <http://dx.doi.org/10.1006/food.1996.0211>
- Díaz-Cruz, C. A., Regalado-Gonzalez, C., Morales-Sanchez E., Velazquez, G., Gonzalez-Jasso, E. and Amaya-Llano, S. L. (2016). Thermal inactivation kinetics of partially purified mango pectin methylsterase. *Food Science and Technology (Campinas)*. 36(2): 282-285. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.02815>
- Jakób, A., Bryjak, J., Wójtowicz, H., Illeová, V., Annus, J. and Polakovič, M. (2010). Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating. *Food Chemistry*. 123(2): 369-376. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.04.047>
- Jamsazzadeh Kermani, Z., Shpigelman, A., Houben, K., ten Geuzendam, B., Van Loey, A. M. and Hendrickx, M. E. (2015). Study of mango endogenous pectinases as a tool to engineer mango purée consistency. *Food Chemistry*, 172(1): 272-282. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.077>
- Kader Adel A. (2015). Mango: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. 2015
- Labib, A. A. S., El-Ashwah, F. A., Omran, H. T. and Askar, A. (1995). Heat-inactivation of mango pectinesterase and polygalacturonase. *Food Chemistry*. 53(2): 137-142. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(95\)90778-6](https://doi.org/10.1016/0308-8146(95)90778-6)
- Lewis M. C. & Heppell N. (2000). Continuous Thermal Processing of Foods Pasteurization and UHT Sterilization. ISBN: 0-8342-1259-5 <https://www.springer.com/gp/book/9780834212596#reviews>
- Minitab Inc. (2010). Minitab LLC. <https://www.minitab.com>
- Palaniappan, S. & Sastry, S. K. (1991). Electrical conductivity of selected juices: influences of temperature, solids content, applied voltage, and particle size. *Journal of Food Process Engineering*. 14(4): 247-260. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.1991.tb00135.x>
- Renard, C. M. G. C. & Thibault, J.-F. (1996). Degradation of pectins in alkaline conditions: kinetics of demethylation. *Carbohydrate Research*. 286:139-150. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(96\)00056-0](https://doi.org/10.1016/0008-6215(96)00056-0)
- Roe, B. & Bruemmer, J. H. (1981). Changes in pectic substances and enzymes during ripening and storage of Keitt mangoes. *Journal of Food Science*, 46:189. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1981.tb14560.x>
- Sarang S., Sastry S. K. and Knipe L. (2008). Electrical conductivity of fruits and meats during ohmic heating. *Journal of Food*

- Engineering*. 87: 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.12.012>
- Somavat, R., Mohamed M. H., Chung Y. K., Yousef A. E. and Sastry S. K., (2012). Accelerated inactivation of *Geobacillus stearothermophilus* spores by ohmic heating. *Journal of Food Engineering*. 108: 69-76. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.07.028>
- Sosa-Morales A, Tiwari C, Wang C, Tang C, Garcia A. and Lopez-Malo B. (2009). Dielectric heating as a potential post-harvest treatment of disinfesting mangoes, Part I: Relation between dielectric properties and ripening. *Biosystems engineering*. 103(3): 297–303 <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2009.02.015>
- Vercet, A., Lopez, P. and Burgos, J. (1999). Inactivation of Heat-Resistant Pectinmethylesterase from Orange by Manothermosonication. *J Agric Food Chem*. 47(2): 432-437. <https://doi.org/10.1021/jf980566v>
- Versteeg, C., Rombouts, F. M., Spaansen, C. H. and Pilnik, W. (1980). Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *Journal of Food Science*. 45: 969–9777. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb07489.x>