



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**“APLICACIÓN DE IRRADIACIÓN UVC, OZONO Y SONICACIÓN
COMO MÉTODOS ALTERNATIVOS A LA PASTEURIZACIÓN DE
UN JUGO DE PIÑA CON ESPINACA.”**

TESIS

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

PRESENTA:

AREVALO CRUZ JESUS JOBANY

ASESESORAS:

M.C ALMA ADELA LÍRA VARGAS

DRA. CAROLINA MORENO RAMOS

Cuautitlan Izcalli, Estado de México, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE**

**ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTÁZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Teóla

Aplicación de Irradiación UVC, ozono y sonicación como métodos alternativos a la pasteurización de un Jugo de piña con espinaca.

Que presenta el pasante: Jesus Jobany Arevalo Cruz
Con número de cuenta: 309091615 para obtener el Título de la carrera: Ingeniería en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 25 de Mayo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

| | NOMBRE | FIRMA |
|----------------------|--|-------|
| PRESIDENTE | <u>Dra. María Andrea Trejo Márquez</u> | |
| VOCAL | <u>LA. Alberto Solís Díaz</u> | |
| SECRETARIO | <u>M. en C. Alma Adela Lira Vargas</u> | |
| 1er. SUPLENTE | <u>M.N.H. Juana Gutiérrez Bautista</u> | |
| 2do. SUPLENTE | <u>Dra. Dolores Molina Jasso</u> | |

NOTA: los sindicales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

Agradecimientos

El presente trabajo es la representación escrita del fin de uno de los ciclos mas importantes en mi vida, una etapa llena de un sinfín de emociones y experiencias.

El primer agradecimiento es a mi madre Claudia Cruz Rivas y a mi abuela María Lorenza Rivas, dos de las personas mas importantes en mi vida, que sin duda alguna han contribuido en gran parte a la persona que soy hoy en día y que me han dado su apoyo incondicional para seguir adelante día a día; un gran ejemplo a seguir.

A mi familia que siempre estuvo dispuesta y disponible para apoyarme en cualquier circunstancia que lo necesitara, sin importar nada, todos de alguna forma y lo seguiran haciendo sin duda alguna.

Gracias a todas esas personas que conocí durante toda mi formación academica que me dejaron un aprendizaje de las vivencias que tuvimos, pero sobre todo a todas esas personas que a la fecha puedo llamar amigos, una palabra con un gran significado para mi y que no cualquiera llena los zapatos.

Muchas gracias a esos profesores intrañables que fueron parte fundamental de que al día de hoy pueda orgullosamente nombrarme INGENIERO EN ALIMENTOS, EGRESADO DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUATITLÁN, GENERACIÓN 36.

Finalmente agradezco el haber encontrado en mi corto camino profesional, personas increíbles que me han mostrado un mundo nuevo dentro de la industria de alimentos y al cual quiero pertenecer toda mi vida independientemente de mis planes a futuro.

“Pobre del que tiene miedo de correr riesgos, por que esé quizá no se desepcione nunca, ni tenga desiluciones, ni sufra, como los que persiguen un sueño”

Chizzo

Índice general.

| | |
|---|----|
| Resumen | 1 |
| 1. Introducción | 3 |
| 2. Antecedentes | 6 |
| 2.1. Definición y generalidades de los jugos. | 7 |
| 2.2. Importancia económica de los jugos. | 7 |
| 2.3. Clasificación de los jugos. | 8 |
| 2.3.1. Los jugos verdes. | 10 |
| 2.4. Proceso de elaboración de jugos. | 16 |
| 2.5. Métodos de conservación de jugos. | 18 |
| 2.5.1 Pasteurización. | 18 |
| 2.5.2. Tecnologías emergentes. | 20 |
| 2.5.2.1. Irradiación UVC. | 21 |
| 2.5.2.2. Ozono. | 23 |
| 2.5.2.3. Ultrasonido. | 26 |
| 2.6. Vida útil de los alimentos. | 27 |
| 2.6.1. Pruebas de vida en tiempo real. | 28 |
| 2.6.2. Pruebas de vida acelerada. | 28 |
| 2.6.2.1 Método de Arrhenius log normal. | 29 |
| 3. Objetivos. | 31 |
| 3.1. Objetivo general. | 32 |
| 3.2. Objetivos particulares. | 32 |
| 3.2.1. Objetivo particular 1. | 32 |
| 3.2.2. Objetivo particular 2. | 32 |
| 3.2.3. Objetivo particular 3. | 32 |
| 3.2.4. Objetivo particular 4. | 33 |
| 4. Materiales y métodos. | 34 |
| 4.1. Cuadro metodológico. | 35 |

| | |
|---|----|
| 4.2. Material biológico. | 36 |
| 4.3. Elaboración de la formulación del jugo de piña con espinaca. | 36 |
| 4.3.1 Determinación de la formulación y condiciones de proceso. | 38 |
| 4.4. Evaluación de la vida útil del jugo. | 39 |
| 4.4.1. Cinética de deterioro de los atributos del jugo. | 40 |
| 4.4.2. Calculo del Q ₁₀ experimental. | 41 |
| 4.5. Aplicación de métodos alternativos a la pasteurización del jugo. | 41 |
| 4.5.1. Irradiación UVc. | 41 |
| 4.5.2. Ultrasonido de baja frecuencia. | 42 |
| 4.5.3. Ozono. | 42 |
| 4.6. Monitoreo microbiológico de los jugos. | 42 |
| 4.7. Técnicas analíticas. | 42 |
| 4.7.1. Parámetros de calidad. | 42 |
| 4.7.1.1. pH | 43 |
| 4.7.1.2. Solidos solubles. | 43 |
| 4.7.1.3. Color. | 43 |
| 4.7.2. Parámetros nutrimentales. | 43 |
| 4.7.2.1. Vitamina C. | 44 |
| 4.7.2.1. Vitamina A. | 44 |
| 4.7.2.3. Clorofila. | 44 |
| 4.7.2.4. Compuestos fenólicos. | 45 |
| 4.7.2.5. Capacidad antioxidante con ABTS | 45 |
| 4.7.2.6. Actividad enzimática de la bromelina. | 45 |
| 4.7.3. Parámetros microbiológicos. | 46 |
| 4.7.3.1. Coliformes totales. | 46 |
| 4.7.3.2. Mesófilos aerobios. | 46 |
| 4.7.3.3. Mohos y levaduras. | 46 |
| 4.7.4. Composición química. | 46 |
| 4.7.4.1. Cenizas totales. | 47 |
| 4.7.4.2. Fibra cruda. | 47 |

| | |
|--|----|
| 4.7.4.3. Azúcares reductores totales. | 47 |
| 4.7.4.4. Proteína. | 48 |
| 4.7.5. Evaluación sensorial. | 48 |
| 4.7.5.1. Pruebas de preferencia. | 48 |
| 4.7.6. Análisis estadístico. | 49 |
| 5. Resultados y Análisis. | 50 |
| 5.1. Formulación del jugo de piña con espinaca. | 51 |
| 5.1.1. Variación de las concentraciones de piña y espinaca en el jugo | 51 |
| 5.1.2. Tipo de endulzante y adición de fibra al jugo. | 53 |
| 5.2. Evaluación de la vida de anaquel del jugo de piña con espinaca pasteurizado mediante una prueba de vida acelerada. | 55 |
| 5.2.1. Cinética de velocidad de reacción del sabor y la textura del jugo durante su almacenamiento a distintas temperaturas. | 60 |
| 5.3. Aplicación de irradiación UVC, ozono y ultrasonido en el jugo de piña con espinaca. | 65 |
| 5.3.1. Efectos sobre parámetros de calidad. | 66 |
| 5.3.1.1. pH | 66 |
| 5.3.1.2. Sólidos solubles. | 67 |
| 5.3.1.3. Luminosidad. | 68 |
| 5.3.2. Efecto sobre parámetros nutricionales. | 70 |
| 5.3.2.1. Clorofila. | 70 |
| 5.3.2.2. Vitamina A. | 71 |
| 5.3.2.3. Vitamina C | 72 |
| 5.3.2.4. Compuestos fenólicos. | 74 |
| 5.3.2.5. Capacidad antioxidante. | 76 |
| 5.3.2.6. Actividad enzimática de la bromelina. | 77 |
| 5.3.3. Parámetros sensoriales. | 78 |
| 5.3.4. Efecto sobre parámetros microbiológicos. | 80 |
| 5.4. Composición química del jugo de piña con espinaca con el mejor tratamiento. | 83 |
| 5.4.1. Cenizas totales. | 83 |
| 5.4.2. Azúcares reductores. | 85 |

| | |
|------------------------------------|----|
| 5.4.3. Fibra dietética. | 86 |
| 5.4.4. Proteína soluble | 87 |
| 6. Conclusiones y recomendaciones. | 90 |
| 7. Bibliografía. | 93 |

Índice de tablas.

| | |
|--|----|
| Tabla 1.- Clasificación de los jugos. | 9 |
| Tabla 2.- Frutas y hortalizas más utilizadas en la elaboración de jugos verdes. | 11 |
| Tabla 3.- Composición química en relación a 100 g de piña fresca. | 15 |
| Tabla 4.- Composición química en relación a 100 g de espinaca. | 16 |
| Tabla 5.- Efectos de la aplicación de irradiación UVC en distintos alimentos. | 23 |
| Tabla 6.- Efectos de la aplicación de ozono en distintos alimentos. | 25 |
| Tabla 7.- Cantidades de piña y espinaca presentes en el jugo | 38 |
| Tabla 8. Formulación del jugo endulzado con azúcar y Splenda con y sin fibra añadida. | 39 |
| Tabla 9.- Análisis sensorial de las distintas formulaciones del jugo de piña con espinaca. Donde 1:1, 1:2 y 2:1, es la relación de piña espinaca presente en el jugo. | 52 |
| Tabla 10.- Análisis sensorial de las distintas formulaciones del jugo de piña con espinaca, con variación de tipo de endulzante y contenido de fibra. | 54 |
| Tabla 11.- Seguimiento microbiológico de la vida de anaquel acelerada del jugo de piña con espinaca. | 58 |
| Tabla 12.- Constantes de velocidad de reacción del sabor y la consistencia del jugo a las tres temperaturas a las que fue sometido | 62 |
| Tabla 13.- Ea de la reacción de degradación de la consistencia del jugo de piña con espinaca. | 63 |
| Tabla 14.- Tiempo de vida útil del jugo de piña con espinaca en función al cambio de consistencia en el tiempo a tres distintas temperaturas. | 64 |
| Tabla 15.- Factor Q10 del jugo de piña con espinaca. | 65 |
| Tabla 16- Resultados obtenidos de coliformes totales, bacterias mesófilas, mohos y levaduras expresados en UFC/mL al aplicar distintos tratamientos en el jugo de piña con espinaca. | 81 |

Índice de figuras.

| | |
|--|----|
| Figura 1.- Clasificación de jugos por sus principales ingredientes y sus posibles combinaciones | 10 |
| Figura 2.- Diagrama de procesos típico en la elaboración de jugos a nivel industrial. | 17 |
| Figura 3.- Espectro electromagnético. | 22 |
| Figura 4.- Alteración del ADN con exposición a radiación UVC. | 22 |
| Figura 5.- Efecto del ozono sobre las bacterias. | 25 |
| Figura 6.- Diagrama de flujo para elaboración del jugo de piña con espinaca. | 36 |
| Figura 7.- Formato de análisis sensorial | 48 |
| Figura 8.- Comportamiento de deterioro del pH del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento. | 56 |
| Figura 9.- Comportamiento de deterioro de los °Brix del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento | 56 |
| Figura 10.- Comportamiento de deterioro de la luminosidad del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento | 57 |
| Figura 11.- Comportamiento de deterioro del color del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento | 57 |
| Figura 12.- Comportamiento de deterioro del olor del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento | 57 |
| Figura 13.- Análisis sensorial del sabor durante el estudio de vida acelerada del jugo de piña con espinaca pasteurizado | 59 |
| Figura 14.- Análisis sensorial de la consistencia durante el estudio de vida acelerada del jugo de piña con espinaca pasteurizado | 60 |
| Figura 15.- Comportamiento de deterioro del sabor del jugo de piña con espinaca de orden uno a diferentes temperaturas de almacenamiento | 1 |
| Figura 16.- Comportamiento de deterioro de la consistencia del jugo de piña con espinaca de orden uno a diferentes temperaturas de almacenamiento. | 62 |
| Figura 17.- pH del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 66 |
| Figura 18.- Solidos solubles del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 67 |
| Figura 19.- Luminosidad del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 69 |
| Figura 20.- Concentración de clorofila en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 70 |
| Figura 21.- Concentración de vitamina A en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 72 |
| Figura 22.- Concentración de vitamina C en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 73 |

| | |
|--|----|
| Figura 23.- Concentración de compuestos fenolicos en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 75 |
| Figura 24.- Capacidad antioxidante del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 76 |
| Figura 25.- Cinética de actividad enzimática de la bromelina presente en el jugo de piña con espinaca control sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono. | 77 |
| Figura 26.- Análisis sensorial aplicado al jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización y ozono. | 79 |
| Figura 27.- Análisis sensorial aplicado al jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización e irradiacion uvc | 79 |
| Figura 28.- Análisis sensorial aplicado al jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización y ultrasonido. | 79 |
| Figura 29.- Contenido de cenizas en los jugos control, sometido a pasteurización y ultrasonido. | 84 |
| Figura 30.- Resultados del contenido de azúcares reductores en los jugos control, sometidos a pasteurización y ultrasonido | 85 |
| Figura 31.- Contenido de fibra dietética en los jugos control sometidos a pasteurización y ultrasonido. | 87 |
| Figura 32.- Contenido de proteína en los jugos control, sometidos a pasteurización y ultrasonido. | 88 |



Resumen

Resumen

Las frutas y verduras recién exprimidas son uno de los alimentos más nutritivos que puedes incluir en la dieta; son rápidos de asimilar y absorber, los jugos naturales son una excelente fuente de vitaminas y minerales, en especial de betacarotenos y vitamina C; sin embargo, al ser sometidos a un tratamiento térmico para alargar su vida útil y poderlos comercializar muchas de estas propiedades se ven parcialmente afectadas y en algunos casos se pierden por completo. Por lo cual el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de irradiación UVc, ozono y ultrasonido de baja frecuencia en un jugo de piña con espinaca sobre sus propiedades nutricionales, organolépticas, microbiológicas y de calidad para proponerlos como métodos alternativos a la pasteurización. La pasteurización del jugo se llevó a cabo a 90°C durante 5 minutos en un envase de vidrio de 200 mL, el cual fungió como el jugo control, a éste mismo se le realizó un estudio de vida de anaquel acelerada sometiéndolo a 5°C, 15°C y 25°C y teniendo como parámetros control: calidad (pH, °Brix, color), sensoriales (color, olor, sabor, textura) y microbiológicos (coliformes, bacterias mesófilas, mohos y levaduras) con el fin de evaluar las mejores condiciones de almacenaje y tener un precedente. Los métodos alternativos fueron irradiación UVc que se aplicó con una potencia promedio de 258.59 UW/cm² durante 20 y 25 minutos, ozono en un método de inyección por burbujeo de 180 mg/h durante 3 y 6 minutos y finalmente ultrasonido de baja frecuencia de 42 kHz a través de un baño sónico durante 20 y 25 minutos, a los cuales también se les determinaron parámetros de calidad, nutrimentales (vitamina A, vitamina C, clorofila, compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, actividad enzimática de la bromelina). Los jugos que presentaron un mejor comportamiento en comparación con un jugo natural y un pasteurizado fueron los que se trataron con ultrasonido en un tiempo de 25 minutos, sin embargo sensorialmente tuvieron un ligero obscurecimiento comparado con los pasteurizados por el efecto de la temperatura, y los nutrientes se conservaron similar a los del natural, de igual manera fue el mejor tratamiento para la eliminación de los microorganismos presentes. Por tanto se puede afirmar que el mejor tratamiento alternativo a la pasteurización del jugo de piña con espinaca fue el ultrasonido de baja frecuencia.



Introducción

1. Introducción

Hoy en día la tendencia de la alimentación en México y en el mundo ha sido dirigida hacia el consumo de productos funcionales y con el mayor aporte nutrimental (Martínez, 2015), ya que según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2014, el 39% de las personas adultas de 18 o más años tenían sobrepeso, y el 13% eran obesas lo cual con lleva a problemas cardiovasculares y enfermedades crónico degenerativas como la diabetes, por eso recomienda que dentro de la dieta diaria de todas las personas se ingieran como mínimo 400 g de frutas y verduras (OMS, 2016), sin embargo, debido al estilo de vida tan acelerado que se lleva hoy en día, esta ingesta se hace cada vez más difícil por lo que se han buscado alternativas para su consumo, un buen ejemplo es la ingesta de jugos verdes (Mercola, 2014).

Los jugos se obtienen de la parte comestible de frutas y verduras en buen estado, debidamente maduras y frescas (CODEX STAN 247, 2005). Dentro de su clasificación encontramos a los jugos mixtos, que son la combinación del jugo de dos o más frutas y/o verduras (NOM-173-SCFI, 2009), es aquí donde entran los jugos verdes que son una excelente opción para un desayuno sano y nutritivo, o para prevenir, desintoxicar, depurar, regenerar y rejuvenecer el organismo, estimulan y refuerzan el sistema inmunológico y favorecen las vías de eliminación (Kent, 2014). Los jugos verdes contienen principalmente verduras como lechuga, espinaca, kale, zanahorias y betabel y frutas como, manzanas, piña, limón y especias como jengibre o jalapeño, el jugo no debe contener más de un 20% de frutas ya que la ausencia de la fibra no permite metabolizar el azúcar y esta iría directo a la sangre (Burchard, 2016).

Gracias a la variedad de climas que México posee y su privilegiada ubicación geográfica permite la producción de algunas frutas y hortalizas con mayor abundancia como es el caso de la piña, la cual contiene vitaminas y micro minerales que la convierten en una fruta antioxidante además de que elimina sustancias como nitratos y nitritos y por su alto contenido de bromelina ayuda a fluidificar la sangre lo cual está relacionado directamente con problemas circulatorios y de presión sanguínea (Lili, 2009) y la espinaca que en los últimos

años se ha descubierto una sustancia química semejante a la insulina en los capullos por lo cual es recomendada en la dieta de los diabéticos, además que es rica en vitamina D la cual ayuda al fortalecimiento de dientes y huesos y evita el raquitismo, entre otros beneficios (Avila, 2013).

Sin embargo, al ser sometidos a un tratamiento térmico como es la pasteurización se degradan una gran cantidad de componentes como es el caso de las vitaminas. En los últimos años se han estudiado métodos alternativos a la pasteurización que permiten la conservación de alimentos incrementando su vida útil mediante la inhibición de microorganismos evitando los efectos adversos que conlleva la aplicación de procesos a altas temperaturas, estos métodos se denominan tecnologías emergentes (Diaz *et al.*, 2012), algunas de las conocidas son la irradiación UVC autorizada por la FDA en jugos de frutas y verduras siempre y cuando logre reducir la carga microbiana inicial en cinco escalas logarítmicas (Gutierrez *et al.*, 2015), ozonificación aplicada en jugo de durazno para su conservación (Sánchez, 2014), ultrasonido de baja frecuencia como método de inhibición microbiana (Vega *et al.*, 2012), altas presiones hidrostáticas y campos magnéticos que al igual que la pasteurización elimina microorganismos patógenos e inhiben reacciones enzimáticas y conservan durante un mayor tiempo las propiedades organolépticas y de calidad del producto como al natural sin necesidad de añadir conservadores (Martínez, 2015).

Por ello se pretende evaluar el efecto de la aplicación de la irradiación UVC, ozono y ultrasonido de baja frecuencia en un jugo de piña con espinaca sobre sus propiedades nutricionales, organolépticas microbiológicas y de calidad para proponerlos como métodos alternativos a la pasteurización.



Antecedentes

2. Antecedentes

2.1. Definición y generalidades de los jugos.

Se entiende por jugo de frutas al líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha (CODEX STAN 247, 2005).

Por otra parte, los jugos o zumos en general son el resultante de exprimir las pulpas de frutas y/u hortalizas, quitando del líquido los trozos sólidos que al extraerlos pudiesen flotar. Tanto en las prácticas para mantenerlos con sus características intrínsecas como para emplearlos diluidos en agua potable, natural o carbónica en la fabricación de bebidas refrescantes o para concentrar su riqueza azucarada y obtener jarabes (Pineda, et al., 1965).

Existe una concepción errónea en cuanto a los jugos de frutas y verduras, la mayor parte de la gente cree que solo sirven para calmar la sed, que los únicos que deben tomarlos son los bebés, enfermos y ancianos, que es lo mismo tomar un jugo embotellado que uno natural o que sólo existe jugo de naranja (Cruz, 2004) sin embargo los jugos traen grandes beneficios para la salud por su alto contenido de sustancias nutritivas concentradas y ayudan a perder peso de forma natural y sin pasar hambre por las pocas calorías que tienen, casi nada de grasa y un alto contenido de fibra. Los jugos pueden ser preparados de diversos ingredientes lo cual permite tener un sinnúmero de utilidades y combinaciones posibles (Krodish, 1993).

2.2.Importancia económica de los jugos.

El sector de las bebidas en los países de América Latina parece no saber de la crisis. En el año 2013 se consolidaron grandes grupos a través de la adquisición de marcas y embotelladores. Estos movimientos globales hacen que casi el 80% del mercado sea

dominado por conglomerados multinacionales que ofrecen extenuantes portafolios de marcas, sabores, formatos y estilos (Industria Alimenticia, 2013).

Desde sus orígenes el mercado de bebidas funcionales, como los jugos verdes, ha tenido un performance relativamente satisfactorio ya que las ventas crecieron impresionantemente con una tasa del 25% durante el periodo del 2004 al 2008 (Mintel, 2010). De acuerdo con el último reporte de Euro monitor International, en 2010 la venta de jugos naturales de frutas envasados en México creció el 6% catapultado por una tendencia a una vida más saludable y una mejoría de las condiciones en la economía.

La firma líder mundial en investigación de estrategia para los mercados de consumo refiere que se vendieron en el país 3.7 billones de litros lo que en términos de importe económico representó un crecimiento en ventas tres mil seiscientos cuarenta y dos millones de dólares. Lo más interesante es que los jugos a base de frutas y vegetales es un negocio que en el 2015 presento una tasa de interés de alrededor del 5% anual (Celis, 2011).

2.3. Clasificación de los jugos.

Los jugos por su origen se pueden clasificar en comerciales y naturales, los comerciales son de poco valor nutricional y la mayoría contienen grandes cantidades de azúcar, edulcorantes artificiales y otros ingredientes para su conservación, por otro lado, los jugos naturales tienen un efecto revitalizador y rejuvenecedor extraordinario sobre todos los órganos, glándulas y funciones del cuerpo. Otra clasificación más estructurada se muestra en la tabla 1 que esta basada en la NOM-173-SCFI 2009 (SCFI, 2009).

Tabla 1.- Clasificación de los jugos.

| Tipo de jugo | Características. |
|---|---|
| <p data-bbox="305 352 506 386">Jugo de frutas.</p>  | <p data-bbox="597 352 1404 730">Es el producto líquido sin fermentar, pero fermentable obtenido al exprimir frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados, inclusive por tratamientos de superficie aplicados después de la cosecha, clarificado o no y sometido al tratamiento adecuado que asegura su conservación en el envase.</p> |
| <p data-bbox="305 739 506 806">Jugo de frutas concentrado.</p>  | <p data-bbox="597 739 1404 1117">Es el jugo de fruta al cual se ha eliminado físicamente el agua en una cantidad suficiente para elevar el nivel de °Brix al menos en un 50% más que el valor establecido para el producto líquido obtenido al exprimir frutas sanas y maduras, que ha sido sometido al tratamiento físico o a las condiciones de almacenamiento adecuadas que aseguren su conservación en el envase.</p> |
| <p data-bbox="305 1125 506 1159">Jugo congelado.</p>  | <p data-bbox="597 1125 1404 1402">Es el jugo de fruta que ha sido sometido mediante un equipo apropiado a un proceso térmico, hasta que el producto alcance una temperatura de -15 °C en el centro térmico y se haya mantenido a temperatura de congelación durante el almacenamiento.</p> |
| <p data-bbox="250 1411 555 1478">Jugo mixto o de frutas múltiples.</p>  | <p data-bbox="597 1411 1404 1738">Es la mezcla de dos o más productos líquidos obtenidos al exprimir frutas sanas y maduras, clarificado o no, no fermentado y sometido al tratamiento adecuado que asegura su conservación en el envase. Este producto puede elaborarse a partir de la mezcla de dos o más jugos y/o purés congelados, de diferentes tipos de frutas.</p> |

Fuente: SCFI (2009).

Sin embargo, existe una clasificación más, utilizada por Mendoza (2016), mostrada en la figura 1, basada principalmente en grupos de frutas y verduras con similitudes en composición y la mezcla de estas para la correcta elaboración de un jugo natural. Siendo las frutas dulces ideales para combinar con frutas ácidas.

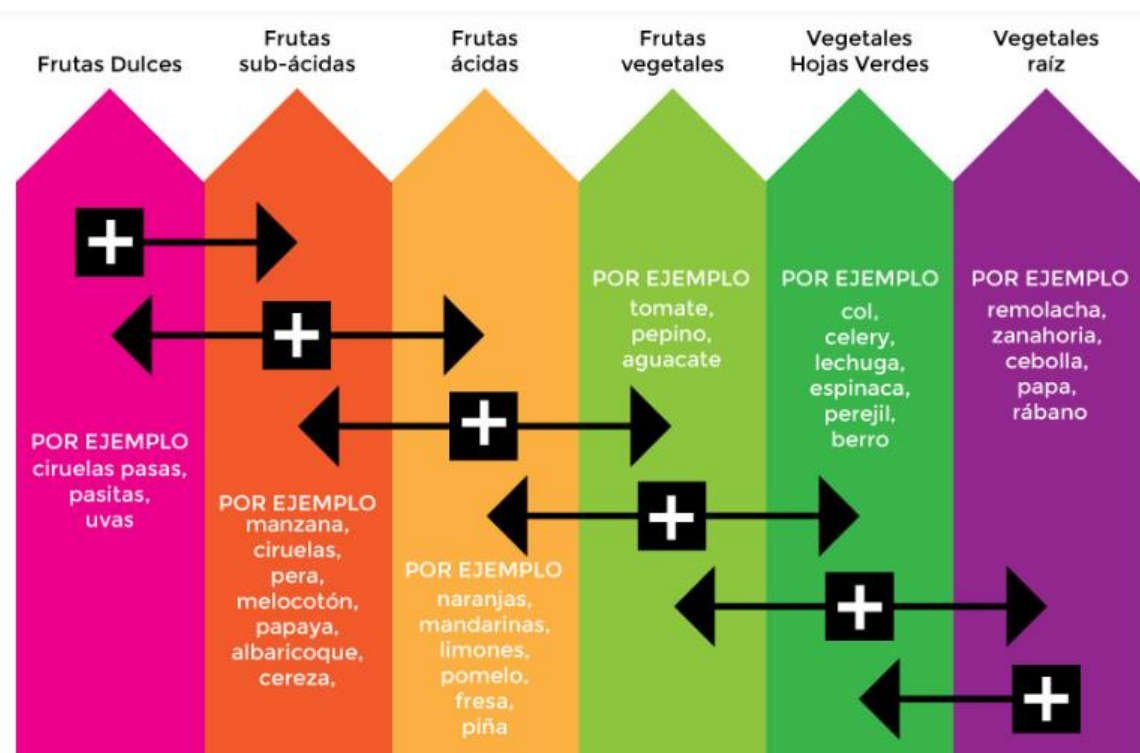


Figura 1.- Clasificación de jugos por sus principales ingredientes y sus posibles combinaciones.

Fuente: Mendoza (2016).

2.3.1. Los jugos verdes.

Fresco y de colores vibrantes, un vaso concentra los nutrientes que aseguran bienestar. Los jugos verdes, variante del clásico jugo de frutas donde la estrella son los vegetales, se posicionan como la bebida saludable del momento (Mazzei, 2014). Son una buena alternativa a la hora de optimizar la nutrición, ya que aportan nutrientes esenciales como vitaminas y minerales, en especial, betacaroteno y potasio que ayudan a prevenir afecciones cardíacas y





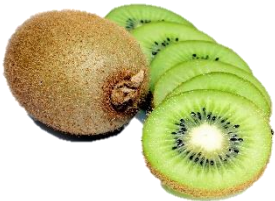
cerebrales, contribuyen a mejorar la visión y potencian el trabajo muscular; también brindan beneficios estéticos, embellecen la piel, las uñas y el pelo.


Para la elaboración de jugos verdes no basta más que la imaginación y el gusto por distintas frutas y hortalizas, sin embargo por una cuestión de combinaciones de alimentos, hay frutas que no conviene mezclar, como las ácidas y las dulces, pero sí se pueden mezclar con las neutras, y con otras del mismo grupo. Algunas frutas y verduras son ideales para consumir juntas, porque se potencian y permiten que se incorporen mejor los nutrientes a nuestro organismo (Dario, 2016)

Para un jugo o zumo verde, con dos ingredientes es suficiente, por ejemplo: unas hojas de lechuga y una pera. No es necesario mezclar varias hojas verdes y varias frutas en el mismo jugo. Manteniendo la combinación lo más sencilla posible se facilitaremos la absorción de los nutrientes y una ingesta moderada de azúcar (EcoAgricultor, 2016).

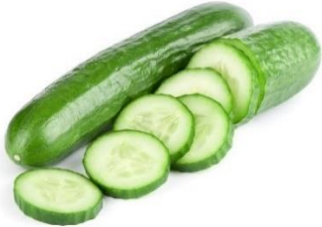

Todos los cítricos y algunos frutos y hortalizas como la piña y la espinaca poseen gran cantidad de vitamina C, que tiene la particularidad de no ser fabricada por el organismo. Entonces, al incorporarla por medio de los jugos, se protege a los tejidos y las células del cuerpo de la acción de los radicales libres; tienen, por lo tanto, un poder antioxidante que evita el envejecimiento (Fernández, 2012) y en el caso de la espinaca su aporte en clorofila ayuda a oxigenar la sangre y llevar más oxígeno a todo el cuerpo, algo especialmente interesante para deportistas. También aportan una gran cantidad de azúcares propios del alimento que ayudan a despeñar de mejor manera las funciones necesarias para sobrellevar un buen día. En la tabla 2 se muestran las frutas y hortalizas más recomendadas en la elaboración de los jugos verdes y sus beneficios a la salud.

Tabla 2.- Frutas y hortalizas más utilizadas en la elaboración de jugos verdes.

| | Ingrediente | Funcionalidad |
|----------------------------|--|---|
| F R U T O S | <p>Piña</p>  | Actúa como antiinflamatorio, analgésico, repara tejidos del cuerpo, contiene colágeno que estimula el sistema inmunológico y es rica en bromelina lo cual la hace un excelente digestivo. |
| | <p>Papaya</p>  | Es una poderosa fruta sanadora y desintoxicante. tiene efectos contra el cáncer y contra los tumores del cuello uterino, mama, hígado, pulmón y páncreas. |
| | <p>Toronja</p>  | Es rica en taninos y flavonoides, antioxidantes que ayudan a combatir los radicales libres. Además, es bueno para alcalinizar el cuerpo |
| | <p>Moras</p>  | Es rica en antioxidantes que refuerzan el sistema inmunológico y ayudan a combatir los radicales libres introducidos en el cuerpo por la exposición al humo, el estrés, las toxinas y los pesticidas. |
| | <p>Kiwi</p>  | Contiene dos veces la cantidad de vitamina C que las naranjas, más fibra que las manzanas y más potasio que los plátanos. Trabaja como la aspirina, pero sin los efectos secundarios y ayuda también a reducir el daño del estrés oxidativo al ADN. |

| Tabla 2.- Frutas y hortalizas más utilizadas en la elaboración de jugos verdes (continuación) | |
|---|---|
| Ingrediente | Funcionalidad |
| <p>Espinaca</p>  | <p>Es alcalinizante, purifica la sangre y contiene clorofila. También es rica en proteínas, calcio, hierro y ácido fólico, todos esenciales para la salud máxima.</p> |
| <p>Espárragos</p>  | <p>Estos son un potente antioxidante que poseen propiedades antifúngicas y antivirales. Son también un diurético natural eficaz y ayudan a equilibrar los niveles de insulina en los diabéticos.</p> |
| <p>Nopal</p>  | <p>Ayuda a reducir niveles altos de azúcar en sangre: Se ha demostrado clínicamente que gracias a la gran cantidad de fibra que posee retarda el tiempo en que se absorben los nutrimentos y entran a la sangre y por lo tanto facilita su eliminación.</p> |
| <p>Zanahoria</p>  | <p>Está llena de betacaroteno que nuestro cuerpo convierten en vitamina A, también ayuda con la producción de colágeno que conduce a una piel más sana. Contiene calcio, potasio, magnesio, fósforo, fibra y vitamina C</p> |

H
O
R
T
A
L
I
Z
A
S

| Tabla 2.- Frutas y hortalizas más utilizadas en la elaboración de jugos verdes (continuación). | |
|---|---|
| Ingrediente | Funcionalidad |
| <p>Pepino</p>  | <p>Los pepinos contienen un flavonol antiinflamatorio llamado fisetina que parece desempeñar un papel importante en la salud cerebral. Además de mejorar su memoria y proteger sus células nerviosas del deterioro relacionado con la edad.</p> |
| <p>Perejil</p>  | <p>Contiene minerales como calcio, hierro, fósforo y azufre. Por su alto contenido de hierro se le recomienda su consumo a las personas que padecen o son propensas a padecer de anemia y/o anorexia, y también a aquellas que sufren de debilidad, fatiga o cansancio físico.</p> |

Fuente: Cuello (2015).

En un caso más particular la piña es una fruta tropical originaria de Brasil allí la encontraron los españoles durante la conquista de América. Los indígenas la llamaban Ananás, que significa “fruta excelente”. Es de la familia de la bromeliaceas que son plantas herbáceas y necesitan de un clima tropical para crecer en su estado óptimo y además debe madurar en el árbol ya que si no su sabor cambia (López , 2010).

La producción de piña se ha caracterizado por una marcada concentración territorial, no sólo en algunos estados sino, además, en una región específica. En el periodo 1990-2000, cinco entidades concentraron el 99 por ciento de la superficie sembrada y cosechada, así como de la producción, por orden de importancia son: Veracruz, Oaxaca, Tabasco, Nayarit y Jalisco (Centro de Estudios de las Finanzas Públicas , 2002). Datos actuales revelan que en el 2015 Veracruz sigue encabezando la lista de los estados con mayor producción de piña en el país, con una producción de 552172 ton/ año (SIAP, 2014).

Se trata principalmente de una fruta diurética y depurativa, por tanto contribuye a eliminar las toxinas que acumula nuestro organismo y además previene el estreñimiento debido a la gran cantidad de fibra que contiene. Al mismo tiempo activa el metabolismo facilitando la digestión y la eliminación de grasa acumulada (López, 2016). La composición química en relación a 100g de piña fresca se muestra en la tabla 3.

Tabla 3.- Composición química en relación a 100 g de piña fresca.

| Componente | Cantidad |
|-------------------|------------|
| Agua | 86 g |
| Proteína | 1 g |
| Lípidos | 0.1 g |
| Carbohidratos | 8 g |
| Fibra dietética | 2 g |
| Sodio | 2 g |
| Potasio | 180 mg |
| Calcio | 27 mg |
| Hierro | 0.3 mg |
| Zinc | 0.2 mg |
| β -caroteno | 25 μ g |
| Tiamina | 40 μ g |
| Riboflavina | 30 μ g |
| Vitamina C | 21 mg |

Fuente: Chilaka *et al.* (2010).

Por otra parte, la espinaca es una verdura de hoja que pertenece a la familia de las Quenopodiáceas. El nombre de espinaca deriva del término spina o espina, debido a que los frutos de esta planta hortícola, cuando están en sazón, es decir, en su punto de maduración, se presentan armados de espinas. Está compuesta en su mayoría por agua. Su contenido de

hidratos de carbono y grasas es muy bajo. Aunque tampoco tiene una cantidad muy alta de proteínas, es uno de los vegetales más ricos en este nutriente. Su contenido en fibra, al igual que ocurre con la gran mayoría de las verduras, es considerable, lo que resulta beneficioso para la salud. En la tabla 4 se muestra su composición química en relación a 100g de porción comestible de espinaca (Eroski, 2015).

Tabla 4.- Composición química en relación a 100 g de espinaca.

| Componente | Cantidad |
|-------------------|-----------------|
| Energía | 22 kcal |
| Agua | 91.6 mL |
| Proteína | 2.5 g |
| Carbohidratos | 2 g |
| Fibra | 1.8 g |
| Potasio | 633 mg |
| Magnesio | 58 mg |
| Calcio | 123 mg |
| Vitamina A | 545 mg |
| Folatos | 150 µg |
| Vitamina C | 35 mg |

Fuente: Eroski (2015).

2.4. Proceso de elaboración de jugos.

El proceso de elaboración depende del tipo de materia prima utilizada. Para ciertas frutas como melocotón, pera, albaricoque, tomate, etc. se emplea un tipo de maquinaria diferente a la que se utiliza para otras como naranjas y mandarinas. Pero todas tienen unas etapas de procesado que son comunes, las cuales muestran en la figura 2.



Figura 2.- Diagrama de procesos típico en la elaboración de jugos a nivel industrial.
Fuente: Asozumos (2014).

Los factores que ayudan a que estas frutas y verduras sean benéficas en su consumo moderado por el ser humano es su composición química, sin embargo, a la hora de procesar un producto como es el caso de los jugos es necesario aplicar métodos de conservación como la pasteurización que permitan eliminar la micro flora que contienen.

2.5. Métodos de conservación de jugos.

Con la conservación de alimentos se pretende aumentar su vida comercial. En la mayoría de los casos, el deterioro de los alimentos se produce por el crecimiento de microorganismos. Por ello las técnicas de conservación tienen por objetivo reducir o eliminar a dichos microorganismos. Sin embargo, existen otros factores limitantes de la vida útil de un producto, tal como la presencia de enzimas presentes de forma natural en el mismo alimento (Coles *et al.*, 2004).

Entre los agentes causales de deterioro en los jugos vegetales se encuentran las enzimas peroxidasa (POD) y polifenoloxidasa (PPO). Además de tener un importante papel en la fisiología de las frutas y hortalizas, estas enzimas son de gran interés en la tecnología de alimentos, debido a su influencia sobre la calidad de los productos crudos o procesados (La Torre *et al.*, 2013).

Como antes se mencionó, las enzimas y microorganismos son los principales causantes del deterioro de los alimentos. Ambos sensibles al calor, por lo que si se le aplica la cantidad necesaria podemos destruirlos e inhibir su crecimiento. El grado de calor necesario para conseguir un producto estable depende de: la naturaleza del producto, presencia de enzimas, número y tipo de microorganismos presentes, condiciones de almacenamiento del producto, otras técnicas de conservación empleadas (Coles *et al.*, 2004).

2.5.1. Pasteurización.

La pasteurización usa un tratamiento de calor por un tiempo corto para destruir los microorganismos dañinos que pueden estar en el alimento sin afectar negativamente el sabor ni el color de ésta. Se aplica este proceso para asegurar que el alimento tratado es seguro para el consumo humano. Es la forma más común usada en líquidos como leche y jugos (Clayton *et al.*, 2015). Existen principalmente 3 tipos de pasteurización, aunque en la industria de los

jugos sólo se emplean dos por su eficiencia en la conservación de compuestos nutricionales y características sensoriales de éstos, los cuales son: pasterización a altas temperaturas durante un breve período (HTST – High Temperature / Short Time) y el proceso a ultra-altas temperaturas (UHT – Ultra – High Temperature) (Pelayo, 2010).

Proceso HTST

Este método es empleado en los líquidos a granel, como la leche, los zumos de fruta, cerveza, etc. Por regla general es el más conveniente, ya que expone al alimento a grandes temperaturas (>140°C) durante un periodo breve (2-5 segundos) y además se necesita poco equipamiento industrial para realizar este proceso. Existen dos métodos distintos bajo la categoría de pasteurización HTST:

Proceso “batch”: una gran cantidad de producto se calienta en un recipiente estanco (autoclave). Es un método aplicado hoy en día, sobre todo por los pequeños productores debido a que es un proceso sencillo.

Proceso de “flujo continuo”: el alimento se mantiene entre dos placas de metal, también denominadas intercambiador de calor de placas (PHE) o un intercambiador de calor de forma tubular. Este método es el más aplicado por las industrias alimenticias a una mayor escala, ya que el método permite realizar la pasteurización de grandes cantidades de alimento en poco tiempo.

Proceso UHT

El fundamento de la ultra pasteurización es la esterilización del alimento antes de empacar, es de flujo continuo y mantiene el producto a una temperatura superior a la empleada en el proceso de HTST, puede rondar los 138° C durante un periodo de al menos 2 o 5 segundos.

Debido a este periodo de exposición, aunque es breve, se produce, una mínima degradación del alimento (Pelayo, 2010).

El procesamiento térmico de jugos cítricos a altas temperaturas si bien elimina la posibilidad de daño microbiológico y reduce la actividad enzimática, afectan la calidad del producto, produce la pérdida de componentes termolábiles y termosensibles responsables de las propiedades sensoriales y nutricionales de los alimentos. La calidad de los alimentos pasteurizados difiere mucho de los frescos, particularmente el aroma, las vitaminas y componentes volátiles de estos productos son influenciados dramáticamente por los tratamientos térmicos.

Los jugos cítricos tienen grandes cantidades de ácido ascórbico, otros ácidos orgánicos, y sus sales, los que provocan la degradación de azúcares, aminoácidos y fenoles durante el procesamiento y posterior almacenamiento. Se ha demostrado que la oxidación del ácido ascórbico es el principal factor de pardeamiento de jugos cítricos (Acevedo *et al*, 2002).

2.5.2. Tecnologías emergentes.

La creciente demanda de los consumidores por productos seguros, mínimamente procesados y que conserven el sabor y aroma hace que la industria alimentaria se plantee la adopción de nuevas técnicas de conservación para dar una adecuada respuesta. En este sentido se están produciendo importantes avances en las tecnologías de conservación de alimentos y en concreto en las de tratamiento térmico (López-Días *et al.*, 2004).

La pasteurización mediante microondas para la conservación de alimentos congelados o refrigerados; las altas presiones y plasma de microondas como técnicas de conservación de platos preparados, productos lácteos, frutas y hortalizas y mariscos; y los campos eléctricos pulsados (PEF) y aplicación de CO₂ a alta presión para la conservación de hierbas y especias

son algunas de las tecnologías que han creado tendencia en innovación para la conservación de alimentos en 2014 (Martínez, 2014).

En los últimos años se ha estudiado el efecto de la irradiación UVC autorizada por la FDA en jugos de frutas y verduras siempre y cuando logre reducir la carga microbiana inicial en cinco escalas logarítmicas (Antonio-Gutierrez y López-Malo, 2012), ozonificación aplicada en jugo de durazno para su conservación (Jaramillo, 2014), sonicación de baja frecuencia como método de inhibición microbiana (Franco-Vega *et al.*, 2012).

2.5.2.1. Irradiación UVC.

Aunque la radiación ultravioleta (UV) es potencialmente dañina, es un componente abiótico con el cual coexistimos y ha posibilitado a través del conocimiento de su beneficioso accionar sobre los tejidos vegetales. Para las personas resulta preocupante el término radiación, al ser inmediatamente relacionado con efectos destructivos y carcinogénicos. Pero la tecnología de alimentos ha adoptado sus ventajas, en especial, el ser un tratamiento de conservación físico no térmico (pasteurización en frío), pues, generalmente, tiene lugar a temperaturas cercanas al ambiente, no deja residuos en el producto alimentario, y a diferencia de la radiación X o gama, la luz UV es no ionizante, esto quiere decir que no expulsa electrones. Sin embargo, su efectividad se ve limitada por el tipo de radiación aplicada (UVA, UVB, UVC) y por la dosis y el grado de penetración en el producto (Quintero *et al.*, 2013).

Uno de los métodos físicos de inactivación de microorganismos en la irradiación de alimentos con luz ultravioleta de onda corta (UVC). Estas radiaciones se ubican en la región de energía del espectro electromagnético, mostrado en la figura 3, comprendida entre los 200 y 300 nm, el cual es un rango germicida. Los microorganismos son destruidos por la penetración de las radiaciones que son absorbidas por el ADN de estos causando una modificación en sus componentes, alterando su reproducción genética y quedando inhabilitados para replicarse (Dominguez, 2015).

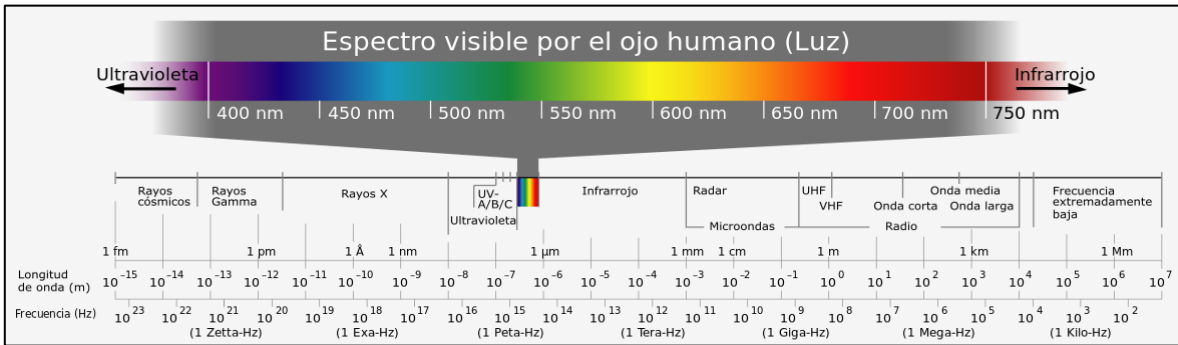


Figura 3.- Espectro electromagnético.

Fuente: Dominguez (2015).

La alta capacidad del ADN de absorber la radiación UVc se debe a las bases nitrogenadas que lo conforman, siendo la tiamina la más afectada, ya que sufre una reacción fotoquímica formando fuertes enlaces covalentes entre ellas que alteran gravemente el material genético como se muestra en la figura 4, por lo tanto, cuando los microorganismos son sometidos a este tipo de radiación, atraviesa su pared celular llegando hasta el núcleo, impidiendo la replicación correcta del ADN (López-Díaz *et al.*, 2012).

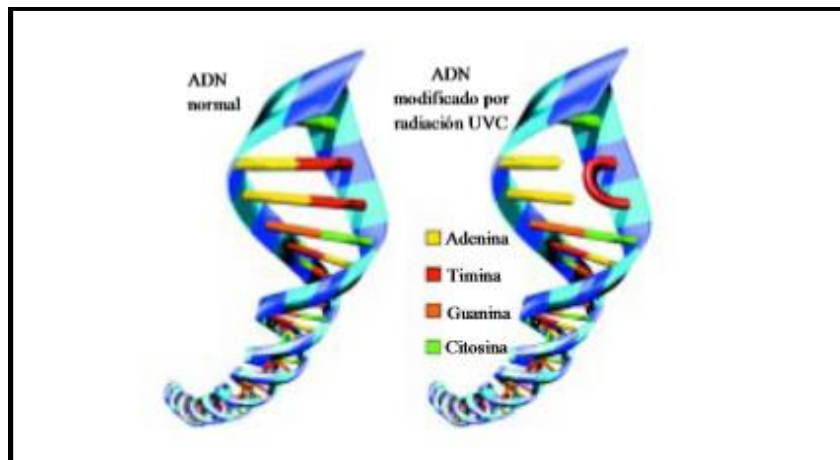


Figura 4.- Alteración del ADN con exposición a radiación UVC.

Fuente: López-Díaz *et al* (2012).

Esta tecnología ha tenido gran aplicación en alimentos y actualmente la FDA ha autorizado su empleo en jugos de frutas siempre y cuando el equipo logre una reducción de cinco ciclos

logarítmicos de la población microbiana. En la tabla 5 se observa que las aplicaciones más recientes de la irradiación UVC en jugos ha logrado disminuir organismos patógenos como la *Escherichia coli* en casi cuatro escalas logarítmicas con una dosis de 9-61 mJ/cm² además de algunas otras bacterias y levaduras propias de la materia prima utilizadas (Gutiérrez *et al.*, 2015).

Tabla 5.- Efectos de la aplicación de irradiación UVC en distintos alimentos.

| Modo de administración | Microorganismo | Dosis UV, mJ/cm ² | Reducción logarítmica. |
|-------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------|
| Sidra de manzana | <i>Escherichia coli</i> O157:H7 | 961 | 3.8 |
| | <i>Cyptosporidium parvum</i> . | 14.32 | 5 |
| | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 5135 | 1.34 |
| Jugo de naranja | Bacteria mesófilas aerobias | 120-320 mg | 2 |
| | Levaduras, mohos | 5135 | 3 |
| | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 5135 | 2.71 |
| Néctar de mango | Bacteria mesófilas aerobias | 5135 | 2.71 |
| | Levaduras, mohos | | 2.94 |
| Jugo de guayaba | Levaduras. | 21.5 | 1.2 |
| Jugo de piña | Mohos | 21.5 | 1 |

Fuente: Gutiérrez *et al* (2015).

2.5.2.2. Ozono.

El ozono (O₃) resulta de la reordenación de los átomos de oxígeno cuando sus moléculas son sometidas a descarga eléctrica de alto voltaje, la reacción de los radicales libres de oxígeno diatómico con el oxígeno dan lugar a la formación de moléculas de oxígeno triatómicas. El gas obtenido (ozono) posee un olor acre o picante asociado al olor del aire fresco después de una tormenta, es de color azulado a temperaturas ordinarias y tienen fuertes propiedades oxidantes (Patil *et al.*, 2006).

En 1997 la U.S. Food and Drug Administration (FDA) reconoció al ozono como Generally Recognized As Safe (GRAS) para su utilización en contacto con alimentos. No obstante, fue en 2001 cuando este organismo dio su fallo definitivo, y aprobó la normativa del uso de

ozono como aditivo de alimentos, durante su procesamiento o almacenamiento. Sin embargo, muchas industrias ya habían comenzado a investigar las aplicaciones de este gas, e incluso las habían puesto en práctica. Por esto, actualmente existen procesos de limpieza y desinfección, así como técnicas de conservación, en los más diversos sectores alimentarios que incluyen al ozono, los cuales son sumamente efectivos y presentan importantes ventajas (Tzortzakis *et al.*, 2007).

Sin embargo, no todos los estudios realizados muestran efectos favorables del empleo de ozono. Los resultados de distintas investigaciones indican que el impacto y los beneficios del uso de ozono varían en función de los productos tratados (Tzortzakis *et al.*, 2007). Diferentes autores reportan reducción en la producción y viabilidad de esporas luego de un tratamiento con ozono; no obstante, los efectos observados se restringen aparentemente a la situación en la que el gas está presente y la producción de esporas se reanuda cuando los frutos tratados son removidos de la atmósfera de ozono (Palou *et al.*, 2003).

La acción microbicida del ozono se debe a su capacidad de oxidar componentes celulares vitales de muchos microorganismos. El principal punto de acción son los constituyentes de la superficie celular. Dependiendo del tipo de microorganismo, la pared celular está formada por distintos componentes, en las bacterias se constituye de peptidoglicano, entre el arqueobacterias se presentan distintas composiciones químicas, incluyendo glicoproteínas, pseudo peptidoglicano o polisacáridos como se muestra en la figura 5. El ozono actúa sobre todos ellos oxidándolos a otros compuestos que ya no forman la pared celular, por lo cual se incrementa la permeabilidad y puede ocasionar la lisis celular. Además, una vez que penetró la célula, el ozono daña los constituyentes de los ácidos nucleicos (ARN y ADN), como consecuencia, los microorganismos no son capaces de desarrollar inmunidad al ozono como lo hacen frente a otros agentes desinfectantes (Parzanese, 2009).

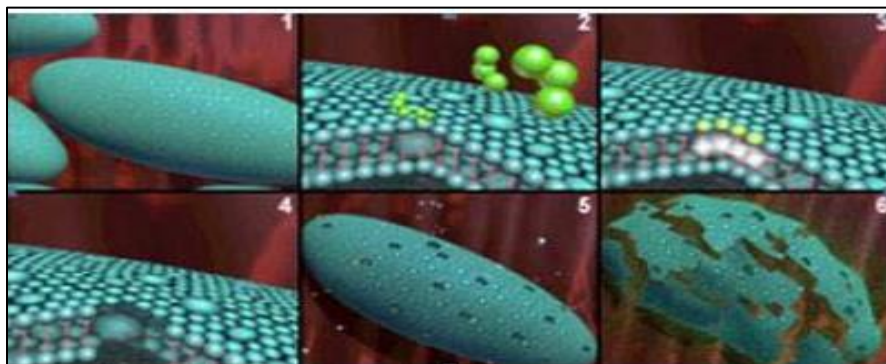


Figura 5.- Efecto del ozono sobre las bacterias.

Fuente: Parzanese (2009).

En los últimos años se han realizado una serie de investigaciones sobre el uso de ozono como método de desinfección de frutas hortalizas mínimamente procesadas como lechuga, naranja, espinaca y su aplicación en productos como jugos de frutas para su conservación, en la tabla 6 describen brevemente algunos de los estudios que se han realizado en este campo.

Tabla 6.- Efectos de la aplicación de ozono en distintos alimentos.

| Producto | Microrganismo | Dosis | Eficiencia |
|------------------|----------------------------------|---------------|------------|
| Hojas de lechuga | <i>Pseudomonas sp.</i> | 2ppm /5 min | 99.99% |
| | <i>Escherichia coli.</i> | 9.7 ppm/5 min | 99.93% |
| Manzanas | <i>Escherichia coli.</i> O157:H7 | 22-2ppm/3min | 99.90% |
| Naranja | <i>C. Cladosporioides.</i> | 3ppm /15 min | 99.90% |

Fuente: Frisón *et al* (2013).

Entre las desventajas del ozono se encuentran que es muy corrosivo y reactivo, por lo que se requiere el uso de materiales en acero inoxidable. Además de ser un gas irritante y tóxico a partir de concentraciones de 10ppm, El gas residual debe ser destruido para evitar el contacto con los trabajadores y las tecnologías para el tratamiento con ozono son más complejas que

los requerimientos para el uso de cloro o luz ultravioleta para el control microbiano por ejemplo (Tzortzakis *et al.*, 2007).

2.5.2.3. Ultra sonido.

Los ultrasonidos pueden definirse como ondas acústicas inaudibles de una frecuencia superior a 20 kHz, se fundamenta en la deformación elástica de materiales ferro eléctricos dentro de un campo eléctrico de alta frecuencia y es causado por la mutua atracción de moléculas polarizadas en el campo (Raichel, 2000). Representa una tecnología novedosa, la cual ha causado un gran interés debido a sus efectos promisorios en el área de procesamiento y conservación de alimentos; sin embargo, y aunque actualmente es considerada una tecnología emergente, no se ha podido promover para su aplicación en productos comerciales. Sólo se ha reconocido como una tecnología que asiste o ayuda en la modificación o mejora de procesos existentes (Knorr *et al.*, 2004).

El ultrasonido está definido por el proceso en el cual se generan ondas de presión con frecuencias por arriba del umbral de la audición humana. El efecto antimicrobiano del ultrasonido está dado por las condiciones de alta temperatura y alta presión, creadas durante el proceso y atribuidas a la generación, crecimiento y colapso de burbujas o cavidades dentro del líquido. Este efecto es conocido como cavitación. Los cambios intensos de presión y temperatura causados durante la cavitación causan un rompimiento inducido de las paredes celulares y dañando el ADN de los microorganismos siendo atribuidos al desarrollo de radicales libres (Franco-Vega y López-Malo, 2012).

Parámetros como la frecuencia, amplitud de onda, temperatura y viscosidad del medio a tratar influyen el grado de cavitación, sin embargo, la frecuencia del ultrasonido usado es uno de los factores más importantes en la efectividad del mismo. Para procesamiento en alimentos es usado el ultrasonido de baja frecuencia que comprende de 20 a 100 kHz, también conocido como ultrasonido de alta potencia (Piyasena *et al.*, 2003).

Algunos alimentos que están siendo procesados por ultrasonido de manera experimental para elevar su vida de anaquel, son jugos de naranja, manzana, arándano y piña, así como sopa de chícharos, yogurt y huevo líquido. El jugo de manzana procesado por la compañía Krupp Maschinenteknik GmbH (Hamburgo, Alemania) presentó una vida de anaquel a temperatura ambiente de 28 días. En el jugo de naranja refrigerado se ha logrado una vida de anaquel de 8-12 semanas desde el punto de vista de calidad y de 3-6 meses desde el punto de vista microbiológico, en comparación con el jugo de naranja fresco refrigerado que presenta una vida de anaquel de 10-14 días (Calderón-Miranda *et al.*, 1999).

2.6. Vida útil de los alimentos.

La vida útil de un alimento es el periodo de tiempo en el que, con unas circunstancias definidas, el producto mantiene unos parámetros de calidad específicos. El concepto de calidad engloba aspectos organolépticos o sensoriales, como el sabor o el olor, nutricionales, como el contenido de nutrientes, o higiénico-sanitarios, relacionados de forma directa con el nivel de seguridad alimentaria. Estos aspectos hacen referencia a los distintos procesos de deterioro: físicos, químicos y microbiológicos, de tal manera que en el momento en el que alguno de los parámetros de calidad se considera inaceptable, el producto habrá llegado al fin de su vida útil. En la actualidad, se han desarrollado nuevas herramientas, como la microbiología predictiva, para estudiar la respuesta de crecimiento de microorganismos frente a los factores que afectan al alimento y poder predecir qué ocurrirá durante su almacenamiento (Pelayo, 2010).

La vida útil se determina al someter a estrés el producto, siempre y cuando las condiciones de almacenamiento sean controladas. Se pueden realizar las predicciones de VU mediante utilización de modelos matemáticos (útil para evaluación de crecimiento y muerte microbiana), pruebas en tiempo real (para alimentos frescos de corta vida útil) y pruebas aceleradas (para alimentos con mucha estabilidad) en donde el deterioro es acelerado y

posteriormente estos 10 valores son utilizados para realizar predicciones bajo condiciones menos severas (Charm, 2007). La estimación de la vida útil de un alimento es un requisito fundamental, y esta debe figurar, salvo ciertas excepciones, en la etiqueta de los mismos. Es variada la metodología empleada para estimar la vida útil, algunos de estos métodos pueden parecer un tanto ortodoxos, pero de acuerdo con Labuza y Riboh (1982) suelen ser válidos.

2.6.1. Pruebas de vida en tiempo real.

Este tipo de pruebas evalúa el efecto de la temperatura “normal” de conservación sobre las propiedades microbiológicas, físico-químicas y sensoriales de un alimento durante un periodo de tiempo, entendiéndose como temperatura normal aquella que será empleada durante la conservación comercial del producto. Para la determinación de la vida útil de un alimento deberán considerarse las variables microbiológicas, físico-químicas y sensoriales que mayor influencia tendrán sobre la calidad del producto (Restrepo y Montoya, 2010).

2.6.2. Pruebas de vida aceleradas.

Estos estudios se realizan sometiendo al alimento a condiciones de almacenamiento que aceleran las reacciones de deterioro, las cuales pueden ser temperatura, presiones parciales de oxígeno y contenidos de humedad altos. El seguimiento del comportamiento del alimento a las temperaturas seleccionadas, se realiza utilizando parámetros fisicoquímicos característicos para cada alimento, coadyuvados por pruebas microbiológicas o sensoriales correspondientes a cada caso. Mediante modelos matemáticos que describan el efecto de la condición seleccionada, se estima la durabilidad en las condiciones normales de almacenamiento (Hernández, 2009).

Esta es la metodología más usada y todavía normalmente se abusa en el diseño y en la interpretación de los resultados. El objetivo es almacenar la combinación final

producto/empaque bajo alguna condición desfavorable de prueba, se analiza al producto periódicamente hasta que ocurra el final de su vida útil y entonces se usan estos resultados para proyectar la vida útil del producto bajo verdaderas condiciones de distribución (Hernández, 2009).

2.6.2.1. Método de Arrhenius Log-normal.

La vida de algunos productos y materiales en una prueba con temperatura acelerada se describe adecuadamente con una distribución log normal. De acuerdo con la ley de Arrhenius, la razón de una simple reacción química (R) depende de la temperatura como sigue:

$$K = A \exp \left[-\frac{Ea}{RT} \right]$$

La constante A se denomina factor de frecuencia o factor pre exponencial; Ea es la energía de activación; R es la constante universal de los gases ($0.001987 \text{ kcal mol}^{-1}\text{K}^{-1}$) y T es la temperatura absoluta en grados Kelvin. Al convertir esta:

$$\log k = \log A - \frac{Ea}{2.303RT} \quad \text{o} \quad \ln k = \ln A - \frac{Ea}{RT}$$

En teoría si representamos $\ln k$ con el recíproco de la temperatura absoluta se debería obtener una línea recta, siendo su inclinación (pendiente) la energía de activación dividida por la constante de los gases (Ea/R). Las gráficas de k con $1/T$ se denominan gráficas de Arrhenius. Por lo tanto, estudiando la reacción y midiendo la constante k a dos o tres temperaturas diferentes, se puede extrapolar lo que pasara a una temperatura inferior y predecir la velocidad a esa temperatura. Esta es la base de la vida de anaquel acelerada a temperaturas elevadas.

En el estudio de caducidad otro parámetro utilizado a menudo en la vida de anaquel acelerada, describe la relación entre temperatura y velocidad de reacción es el factor Q_{10} que se define como: (Man, 2004)

$$Q_{10} = \frac{\text{Velocidad de reacción a temperatura } (T+10)^{\circ}\text{C}}{\text{Velocidad de reacción a temperatura } T^{\circ}\text{C}}$$



Objetivos

3. Objetivos

3.1. Objetivo general.

Evaluar el efecto de la aplicación de la irradiación UVc, ozono y ultrasonido de baja frecuencia en un jugo de piña con espinaca sobre sus propiedades nutricionales, organolépticas, microbiológicas y de calidad para proponerlos como métodos alternativos a la pasteurización.

3.2. Objetivos particulares.

3.2.1. Objetivo particular 1.

Desarrollar un jugo verde modificando la relación de piña y espinaca (1:1, 2:1, 1:2), el tipo de edulcorante (azúcar, splenda) y la presencia de fibra (filtrado, sin filtrar) en la formulación para determinar cuál de las formulaciones propuestas presenta las mejores características sensoriales en función a pruebas de preferencia del producto.

3.2.2. Objetivo particular 2.

Determinar el tiempo de vida útil del jugo de piña con espinaca pasteurizado, partiendo de una temperatura de refrigeración, mediante una prueba de vida de anaquel acelerada, para conocer su vida útil.

3.2.3. Objetivo particular 3.

Determinar el efecto de la aplicación de irradiación UVc, ozono y ultrasonido de baja frecuencia en un jugo de piña con espinaca mediante la evaluación de su carga microbiana, parámetros nutrimentales, organolépticos y de calidad y elegir el mejor para evaluar su composición química.

3.2.4. Objetivo particular 4.

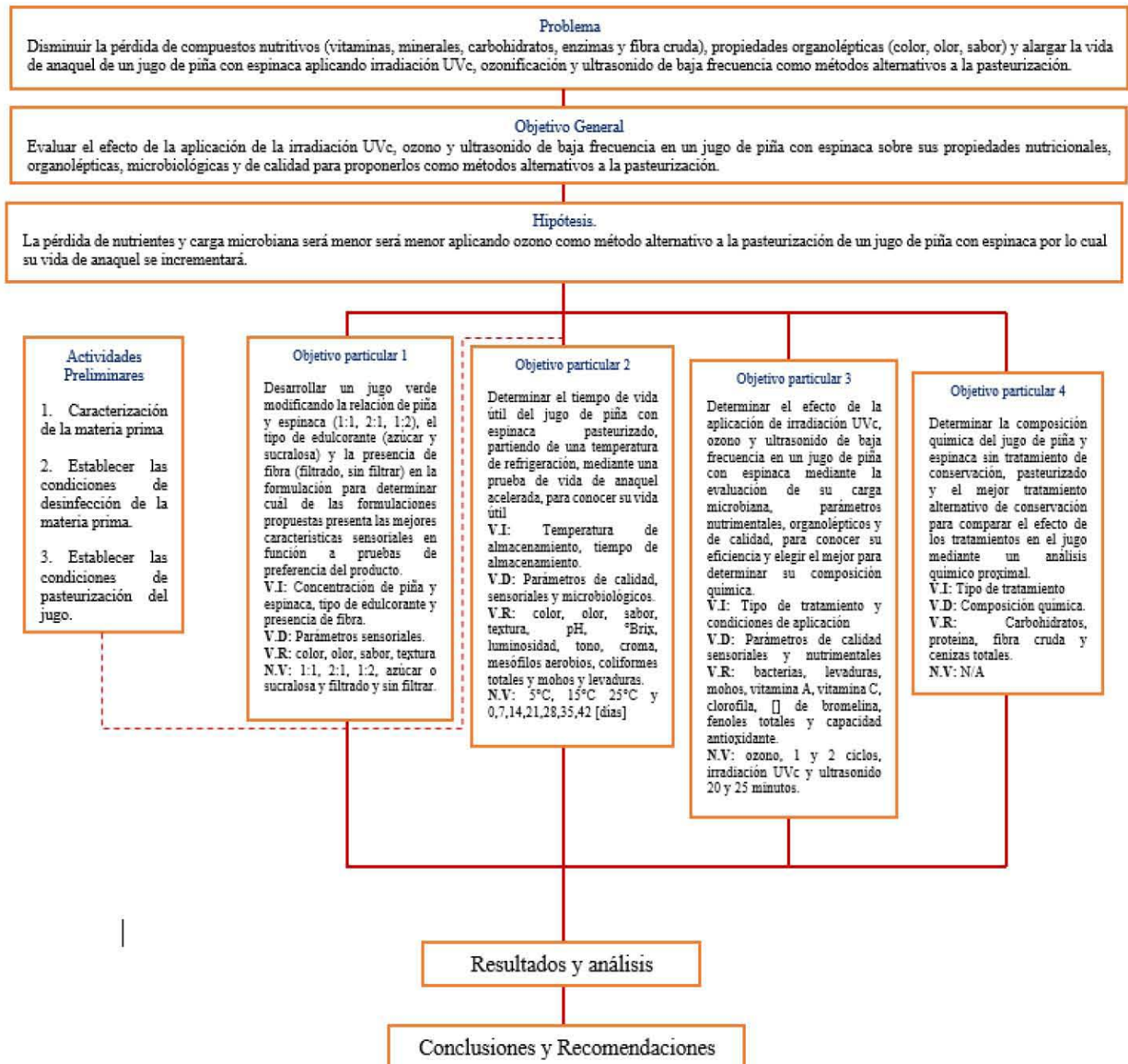
Evaluar la composición química del jugo de piña y espinaca sin tratamiento de conservación, pasteurizado y el mejor tratamiento alternativo de conservación para comparar el efecto de los tratamientos en sus componentes mediante un análisis químico proximal.



Materiales y Métodos

4. Materiales y métodos

4.1. Cuadro metodológico.



4.2. Material biológico

Las piñas utilizadas fueron variedad “miel” en un estado de madurez fisiológica intermedio (color amarillo uniforme y firme) y sin ningún golpe aparente. Las espinacas fueron adquiridas por racimos de aproximadamente 300g cada uno, sin la raíz y de un color verde intenso, tratando que el 95% de la hoja estuviera en buen estado. Ambos productos adquiridos en el centro comercial Wall Mart de Plaza San Marcos en Cuautitlan Izcalli, estado de México.

4.3. Elaboracion de la formulación del jugo de piña con espinaca.

En la figura 6. se muestra el diagrama de flujo para la elaboración de un jugo con espinaca convencional.

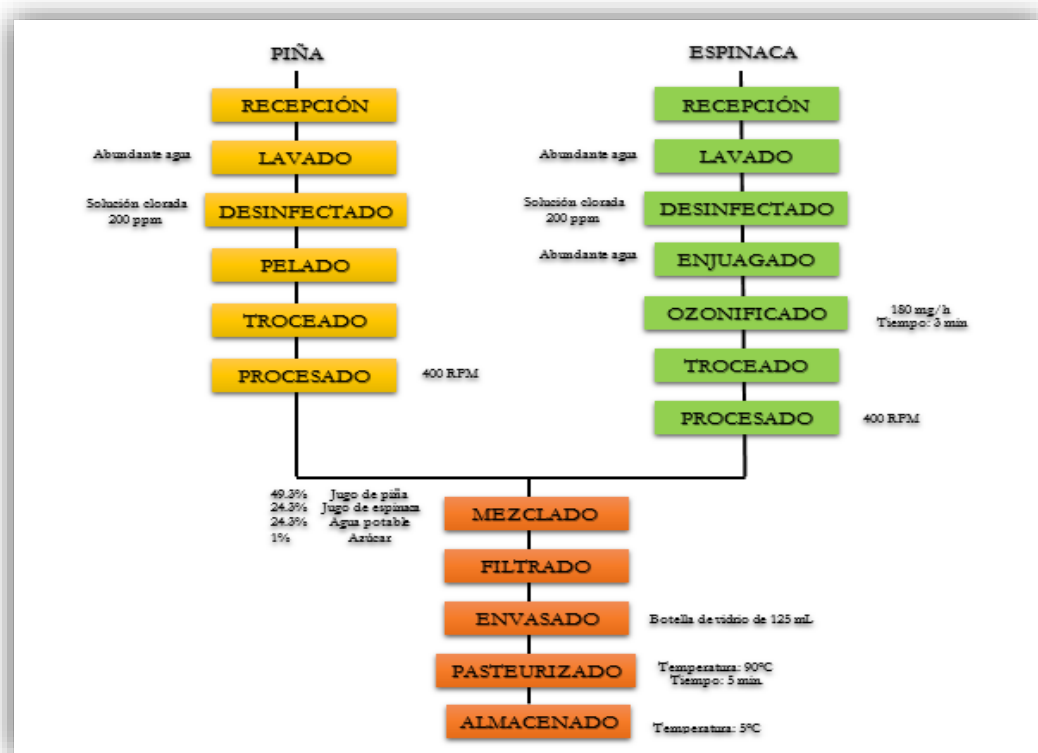


Figura 6. Diagrama de flujo para elaboración del jugo de piña con espinaca.

Recepción de materia prima: Se realizó una selección de la piña y la espinaca en función a lo establecido en el apartado 4.2 para su posterior procesamiento.

Lavado: Se realizó un lavado con abundante agua y en el caso especial de la espinaca se frotó con la yema de los dedos cada hoja para ayudar a retirar toda la suciedad.

Desinfectado: Se colocó en una tina la materia prima por separado y se llenó hasta cubrir la superficie del material con una solución de cloro a 200 ppm, se dejó ahí durante 10 minutos.

Pelado de piña: En una tabla previamente sanitizada en una solución de cloro a 200 ppm se procedió a retirar la corona de la piña y con ayuda de un cuchillo retirar la cáscara de ésta evitando la presencia de pulpa adherida.

Ozonificado de la espinaca: Se llevó a cabo en una tina con una relación de agua: espinaca de 1:1 p/p, el producto se sometió a un ciclo de ozono por cada 3 litros de agua en el contenedor.

Troceado: Para el caso de la piña se cortó en trozos de aproximadamente 10 cm de largo por 4 cm de ancho, de manera que cupieran en la boquilla de entrada al extractor. Por otro lado, la espinaca se troceó manualmente por la mitad para facilitar su entrada al procesador.

Procesado: Se procedió a procesar los trozos de la piña para obtener un jugo sin bagazo y por separado las hojas de la espinaca con un extractor Túrmix (modelo TU04).

Mezclado: En un recipiente se mezcló la cantidad de jugo de piña y de espinaca suficientes con agua para llegar al resultado deseado y posteriormente se endulzó al 1%.

Filtrado: Se pasó el jugo por una coladera con aberturas de aproximadamente 1mm de diámetro, haciendo ligeramente presión con una cuchara para extraer la mayor cantidad de jugo posible.

Envasado: En botellas de vidrio de 250 mL con cierre al vacío previamente esterilizadas se colocó el jugo con ayuda de un embudo, la tapa se colocó sobre puesta para poder realizar el proceso de pasteurización.

Pasteurizado: Se colocó el jugo envasado en un recipiente con agua a 90°C durante 3 minutos, enseguida se cerró completamente la tapa de la botella y se dio un choque térmico con agua a 0°C durante 3 minutos.

Almacenado: Una vez verificada la presencia de vacío en la botella se conservó el jugo en refrigeración a una temperatura de 4 °C.

4.3.1. Determinación de la formulación y condiciones de proceso del jugo

Para esto se realizó una serie de análisis sensoriales con base ha pruebas hedónicas de preferencia las cuales se describen en el apartado 4.8.5.1 de este documento, a 30 personas elegidas al azar (panelistas no entrenados) evaluando los parámetros sensoriales del jugo (color, olor, sabor y textura). En primera instancia se variaron las concentraciones de piña y espinaca utilizadas en el jugo como se muestra en la tabla 7.

Tabla 7.- Cantidades de piña y espinaca presentes en el jugo

| Porción / formulación | Formulación 1 | Formulación 2 | Formulación 3 |
|--------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Porción de piña (%) | 50 | 75 | 25 |
| Porción de espinaca. (%) | 50 | 25 | 75 |

Una vez establecidas las cantidades de piña y espinaca a utilizar se evaluó el tipo de endulzante como se muestra en la tabla 8, al igual que la adición o no de la fibra (bagazo) resultante del exprimido de la piña. La cantidad de endulzante fue siempre constante al igual que la adición de fibra, ambas representado el 1% de cada una en la formulación.

Tabla 8. Formulación del jugo endulzado con azúcar y Splenda con y sin fibra añadida.

| Formulación “A” | Formulación “B” | Formulación “C” | Formulación “D” |
|--|--|---|---|
| Endulzado con azúcar sin fibra añadida | Endulzado con azúcar con fibra añadida | Endulzado con Splenda sin fibra añadida | Endulzado con Splenda con fibra añadida |

Cabe señalar que la fibra que se añadía al jugo era secada previamente en un horno de microondas durante 3 minutos por cada 100 gramos aproximadamente, y posteriormente se molía con una licuadora hasta reducir su tamaño a polvo. Para seleccionar la mejor fórmula se realizó nuevamente una prueba de preferencia.

4.4. Evaluación de la vida útil del jugo

Esta evaluación se llevó por medio de una prueba de vida de anaquel acelerada en donde los jugos fueron almacenados a tres diferentes temperaturas (5, 15 y 25°C) durante 42 días y se le evaluaron cada 7 días parámetros de calidad (pH, °Brix, luminosidad, croma y tono), microbiológicos (coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras) y sensoriales (color, olor, sabor y textura). Para el cálculo del tiempo de la vida útil se utilizó la siguiente secuencia de cálculo (Curia et al., 2005 y Labuza, 1986).

4.4.1. Cinética de deterioro de los atributos del jugo

Se llevó a cabo la cinética de degradación o deterioro de los atributos del jugo en función del tiempo graficando en el eje “y” el tiempo y en el eje “x” el parámetro evaluado, estas gráficas se realizaron para cada parámetro evaluado a cada temperatura siguiendo el modelo matemático descrito en la ecuación (a) para las reacciones de orden cero (velocidad de reacción constante) y el (b) para las reacciones de orden uno (velocidad de reacción dependiente de la concentración) .

$$\frac{dA}{dT} = -k \quad (a) \quad ; \quad \frac{dA}{dT} = -kA \quad (b)$$

Integrando las ecuaciones (a) y (b).

$$A = A_0 - kt \quad (a') \quad ; \quad \ln A = \ln A_0 - kt \quad (b')$$

Una vez elaborada la gráfica se evaluaron los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos para cada parámetro que fueran más cercanos a 1; siendo la pendiente de ésta la constante de velocidad de reacción (k) del atributo.

Posteriormente ya con las constantes de velocidad de reacción para cada temperatura del atributo evaluado se realizó una gráfica en donde en el inverso de la temperatura fue el eje “x” y el $\ln k$ el eje “y”, siendo la pendiente de esta gráfica E_a/RT (Energía de activación/RT).

Una vez obtenida la E_a se realizó la sustitución de los datos en la ecuación (c), la cual obedece a la relación de Arrhenius que describe la pérdida de los atributos de calidad del producto en función a la temperatura.

$$k = k_0 e^{\frac{E_a}{RT}} \quad (c)$$

Con las constantes de velocidad de reacción recalculadas para cada temperatura se sustituyen los datos en la ecuación (d), obteniendo de esta forma el tiempo de vida útil del producto a la temperatura correspondiente.

$$\ln \frac{A}{A_0} = -kt \quad (d)$$

En donde A es el parámetro evaluado al tiempo f (tiempo final de evaluación); A₀ es el parámetro evaluado al tiempo 0 (tiempo inicial de evaluación) y k es la constante de velocidad de reacción.

4.4.2. Cálculo del Q₁₀ experimental

Para el cálculo del factor Q₁₀ es necesario aplicar la ecuación (e), la cual describe la influencia de la temperatura sobre la aceleración de la reacción de deterioro del producto.

$$Q_{10 \exp(T_1-T_2)} = \frac{\text{tiempo de vida util } T_1}{\text{tiempo de vida util } T_2}$$

4.5. Aplicación de métodos alternativos a la pasteurización del jugo

Se aplicó irradiación UVC, ozono y ultrasonido (sonicación) de baja frecuencia como métodos alternativos a la pasteurización del jugo de piña con espinaca los cuales se describen a continuación.

4.5.1. Irradiación UVc

El jugo se colocó en vasos de plástico (Polietileno de baja densidad) tipo cristal de 9 oz con 135 mL de jugo y se llevó a una cámara de paredes metálicas aislada conformada por 4

lámparas de mercurio con una potencia promedio de $258.59 \text{ UW/cm}^2 \pm 8.34 \text{ UW/cm}^2$, durante 20 minutos y 25 minutos.

4.5.2. Ultrasonido de baja frecuencia

Se utilizó un baño sónico (marca Cole – Parmer modelo 8891) con una potencia de 42 kHz +/- 6% en donde se colocaron 3 vasos de plástico tipo cristal de 9 oz con 135 mL. de jugo, a una temperatura fija de 35°C y tiempos de 20 minutos y 25 minutos.

4.5.3. Ozono

El ozono se aplicó con ayuda de un potabilizador de agua comercial marca Biozo³n modelo 2000 con una producción de ozono por burbujeo de 180 mg/h logrando purificar 3L de agua en 3 minutos. En función a esta relación se aplicaron 6 y 12 mg/L de ozono al jugo.

4.6. Monitoreo microbiológico de los jugos

Se realizaron pruebas de coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras a los jugos sometidos a los distintos tratamientos alternativos a la pasteurización y al jugo pasteurizado a las 0, 24, 48 y 72 horas de su preparación con el fin de evaluar el efecto de la aplicación de los métodos antes mencionados a través del tiempo.

4.7. Técnicas analíticas

4.7.1. Parámetros de calidad

4.7.1.1. pH

El pH se determinó por medio de un potenciómetro (Hanna Hi-98130). Se colocaron 50 mL del jugo, previamente agitado, en un vaso de precipitados de 100 mL, la medición se obtuvo al sumergir el potenciómetro, previamente calibrado, en la muestra hasta obtener la lectura. (NMX-F-317-S, 1978)

4.7.1.2. Sólidos solubles

Los sólidos solubles se determinaron por refractometría como se estipula en la (NMX-F-103, 1982) con algunas modificaciones, se utilizó un refractómetro digital (Atago PAL-03S). Se colocaron un par de gotas de agua destilada en el lente del instrumento y se calibró, posteriormente se limpiaba con un pañuelo desechable y se colocaba la muestra de interés, la lectura fue directa. Los resultados se expresaron en °Brix

4.7.1.3. Color

El color se obtuvo por medio de un colorímetro (Konica Minolta CR-410C) por el sistema Hunter Lab que representa la cromaticidad en coordenadas rectangulares. En donde se obtiene 3 valores, “a” que va de verde (valores negativos) a rojo (valores positivos), “b” que van del azul al amarillo y “L” que representa la luminosidad desde la reflexión nula con L=0 a reflexión difusa con L=100 (MetAs & Metrólogos Asociados, 2009), obteniendo partir de estos valores el croma y el tono. Se colocaron 50 mL de jugo totalmente homogéneo en una caja petri, la lectura se realizó en 10 puntos distintos de la caja.

4.7.2. Parámetros nutrimentales

4.7.2.1. Vitamina C

Para la vitamina C se utilizó un método volumétrico, con el cual se neutralizó al ácido ascórbico presente en la muestra (cuando la muestra llegaba a un color azul permanente) por medio de una titulación. El resultado se expresó en mg de ácido Ascórbico/ 100 g de muestra (AOAC, 1999). El cálculo se llevó a cabo con las ecuaciones que se presentan a continuación. Es importante que durante la cuantificación la muestra estuviera cubierta y no estuviera en contacto con la luz, ya que el ácido ascórbico es fotosensible y puede presentar variación en los resultados. Los resultados se expresaron en mg Ac Asc/ 100g de muestra.

4.7.2.2. Vitamina A

En el caso de la vitamina A se utilizó una técnica espectrofotométrica en donde se hizo una extracción de los carotenos presentes en la muestra con acetona al 80% v/v, posteriormente se hizo un lavado con éter de petróleo, en donde se separó la fase orgánica (Melendez-Martinez *et al.*, 2007) y se leyó en un espectrofotómetro (Shimadzu UV- 1601). La lectura se realizó a una absorbancia de 454 nm y el resultado fue obtenido de la siguiente ecuación, que se expresa en μg de β caroteno/100g de muestra.

4.7.2.3. Clorofila

Con la clorofila se utilizó una técnica espectrofotométrica en donde se hizo una extracción de la clorofila presente en la muestra con acetona al 80% v/v, posteriormente se leyó en un espectrofotómetro (Shimadzu UV- 1601) a una absorbancia de 665 nm y 663 nm y el resultado fue obtenido de la siguiente ecuación, que se expresa en mg de clorofila/100g de muestra (Jeffrey y Humphrey, 1975).

4.7.2.4. Compuestos fenólicos

La prueba se llevó a cabo mediante la preparación del extracto mediante la adición de metanol al 80% a 200 µg de muestra, la cual fue centrifugada a 10000 rpm durante 15 minutos, posteriormente al sobrenadante se le agregaron 500 µL de metanol al 100% repitiéndose la centrifugación y reservando el extracto. Se realizó una curva patrón previo a la lectura con Ácido gálico, Agua destilada, Folin-Ciocalte y Na₂CO₃ (Folin y Vintilia, 1927) la lectura se llevó a cabo en un espectrofotómetro (Shimadzu modelo UV -1601) con una absorbancia de 765 nm. Para leer el extracto se agregaron en un tubo de ensaye todos los reactivos antes mencionados, con excepción del ácido gálico que fue sustituido por el extracto obtenido previamente. El cálculo se realizó con ayuda de la siguiente ecuación, expresando el resultado en mg Ácido gálico/ mL de extracto.

4.7.2.5. Capacidad antioxidante con ABTS

Se preparó una solución de Trolox a diferentes concentraciones a partir de una solución madre 4mM, se realizó una curva patrón con Trolox, metanol al 80%, solución de ABTS midiendo los puntos en intervalos de 7 minutos; el ABTS se preparó agregando 2mL de ABTS concentrado a 200mL de buffer fosfatos 0.01M pH 7.4. Para la medición del extracto se agregaron los reactivos anteriormente mencionados con excepción del Trolox, este fue sustituido por el extracto de la muestra, la lectura se llevó a cabo en un espectrofotómetro (Shimadzu UV- 1601) con una absorbancia de 734 nm (Fogliano *et al.*, 1999). Los resultados se expresarán en Mm de trolox.

4.7.2.6. Actividad enzimática de la bromelina

El método consiste en la extracción de la bromelina con agua y su cinética por espectrofotometria. La extracción se llevó a cabo colocando agua y material biológico (piña) en relación 1:1 durante 20 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó a 12 000 g's por 20 minutos a 4°C, la actividad enzimática se leyó en un espectrofotómetro

(Shimadzu UV-1601) a 240nm y se determinó la cantidad de proteína en la muestra como se describe en el apartado 4.7.4.4 de este documento, para expresar el resultado en mg de bromelina/ g de muestra (Clavijo *et al.*, 2012).

4.7.3. Parámetros microbiológicos

4.7.3.1 Coliformes totales.

El método permite determinar el número de microorganismos coliformes presentes en una muestra, utilizando un medio selectivo (agar rojo violeta bilis) en el que se desarrollan bacterias a 35°C en aproximadamente 24 h (NOM-113-SSA1-1994).

4.7.3.2. Mesofilos aerobios

El método consiste en contar las colonias que se desarrollan en el medio de elección después de un cierto tiempo y temperatura de incubación. Mesofilos aerobios 35± 2 °C; 48 horas (NOM-092-SSA1-1994).

4.7.3.3. Mohos y levaduras

El método se basa en inocular una cantidad conocida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH de 3.5 e incubado a una temperatura de 25±1 °C por un tiempo de 3 a 5 días dando como resultado el crecimiento de colonias características para este tipo de microorganismos (NOM-111-SSA1-1994).

4.7.4. Composición químicos

4.7.4.1. Cenizas totales

Las cenizas se determinaron por método gravimétrico en donde se incineró la materia orgánica a 550°C, el resultado se expresó en % de cenizas según lo descrito en la norma (NMX-F-066-S, 1978).

4.7.4.2. Fibra cruda

La fibra cruda es el producto seco después de haber pasado por un hidrólisis ácida y una alcalina, según lo descrito en la norma (NMX-F-090-S, 1979). Para su cuantificación se tomaron 3g de muestra y se le agregó 200 mL de ácido sulfúrico 0.255N se calentó hasta ebullición y posteriormente se filtró la mezcla con ayuda de un papel filtro a peso constante y se lavó con agua caliente hasta que esta llegó a un pH de 6-7; enseguida se colocó el residuo del papel filtro en un matraz y se le añadió 200 mL de hidróxido de sodio 0.313N, se calentó hasta ebullición y se volvió a filtrar la mezcla en otro papel filtro a peso constante, nuevamente se realizó un lavado con agua caliente hasta llegar a un pH de 6-7. Finalmente se incineró el papel filtro resultante y se llevó a peso constante. La cantidad de fibra fue calculada por diferencia de pesos y se expresaron en porcentaje de fibra cruda /100 g de jugo.

4.7.4.3. Azúcares reductores totales

Los azúcares reductores se determinaron por medio de una prueba espectrofotométrica en la cual se hidrolizaron los azúcares encontrados en el producto con ácido clorhídrico concentrado e hidróxido de sodio 0.05N. con la muestra hidrolizada se construyó una curva patrón a la cual se agregó 0.5 mL de DNS y se leyó en el espectrofotómetro (Shimadzu UV-1601) a una absorbancia de 575 nm. Los resultados se expresan como mg de azúcares reductores/mL de muestra (Miller, 1959).

4.7.4.4. Proteína

Se basa en la formación de un complejo coloreado entre el Cu^{2+} y los grupos NH de los enlaces peptídicos en medio básico. El Cu^{2+} forma un complejo con el 4 NH. La intensidad de coloración es directamente proporcional a la cantidad de proteínas (enlaces peptídicos) y la reacción es bastante específica, de manera que pocas sustancias interfieren y la sensibilidad del método es muy baja (Colegio de Bachilleres de Queretaro, 2010). Los resultados se expresarán en porcentaje de proteína/100 g de jugo.

4.7.5. Evaluación sensorial

4.7.5.1. Pruebas de preferencia

Estas pruebas permiten evaluar la preferencia entre dos o más muestras a un grupo de personas entrenadas o no (ENAC, 2003). Se evaluaron parámetros cualitativos del jugo, color, olor, sabor y textura, con una escala predeterminada con el formato que se muestra en la figura 7.

Evalúa los siguientes aspectos (color, olor, sabor y textura) de los jugos de piña con espinaca que se te presentan, en función a la siguiente escala:

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

| jugo | Color | Olor | Sabor | Consistencia |
|----------|-------|------|-------|--------------|
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |

Figura 7. Formato de análisis sensorial

4.7.6. Análisis estadístico

Los experimentos se llevaron a cabo por triplicado para obtener un resultado estadísticamente confiable y con el menor margen de error posible, el coeficiente de variación máximo que se obtuvo fue del 15% entre prueba y prueba. Con lo que respecta al tratamiento de los resultados, se realizaron mediante análisis ANOVA de un sólo factor y multifactorial dependiendo el caso con pruebas de rango múltiple (Tuckey y Duncan) con un nivel de significancia del 0.05, esto en el programa estadístico Statistical Packager for the Social Science (SPSS) Versión 22.0



Resultados y Análisis

5.- Resultados

5.1.- Formulación del jugo de piña con espinaca

Con base en la metodología presentada anteriormente; se decidió establecer una formulación que presentara una mayor aceptación en el público a través de la aplicación de análisis sensoriales mediante pruebas hedónicas de aceptación.

5.1.1.- Variación de las concentraciones de piña y espinaca en el jugo

El análisis sensorial es la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído. Las pruebas de análisis sensorial permiten traducir las preferencias de los consumidores en atributos bien definidos para un producto. La información sobre los gustos, aversiones, preferencias y requisitos de aceptabilidad, se obtiene empleando métodos de análisis denominados pruebas orientadas al consumidor (Ramírez, 2012).

El color en los alimentos no sólo nos hace ver la comida más bonita, divertida y apetitosa, sino que es la clave para una dieta sana, pues al consumir diariamente frutas, hortalizas y verduras frescas de diversos colores, se garantiza la ingesta de alimentos de bajo aporte calórico y alta cantidad de micronutrientes. Así mismo, lo visual está relacionado con la aceptación o no de nuevos productos, y estos alcances llegan hasta a los empaques y presentaciones de alimentos procesados (Gallardo, 2015).

En la tabla 9 se muestra los resultados del análisis sensorial a las distintas formulaciones del jugo de piña con espinaca, donde se observa que el jugo preparado con una proporción de 1:1 fue calificado con 4 puntos en cuanto a color, siguiéndole con 3.9 el jugo con proporciones 2:1 y por último el jugo de proporciones 1:2 con una calificación de 3.6, a pesar

de esto estadísticamente no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el color de las formulaciones propuestas, esto producto de factores como el estado de ánimo y las emociones que en el momento de hacer la prueba los panelistas presentaban pudiéndolo corroborar las grandes desviaciones estándar obtenidas en la prueba,. Estudios publicados en la revista *Psychological Science*, han demostrado que las emociones pueden influir en diversos procesos visuales y reducir la sensibilidad en la percepción del contraste visual, personas con tristeza eran menos precisos en la identificación de los colores en el eje azul-amarillo que los que fueron llevados a sentirse alegres o emocionalmente neutrales (Merluzzi, 2014).

Tabla 9.- Análisis sensorial de las distintas formulaciones del jugo de piña con espinaca. Donde 1:1, 1:2 y 2:1, es la relación de piña espinaca presente en el jugo.

| Formulación | Color | Olor | Sabor | Textura |
|--------------------|--------------|-------------|--------------|----------------|
| 1:1 | 4.0 a | 4.2 a | 2.8 a | 3.8 a |
| 2:1 | 3.9 a | 3.6 a, b | 3.5 a | 3.1 a |
| 1:2 | 3.7 a | 3.2 b | 2.6 a | 3.7 a |

Con lo que respecta a la percepción del olor de los panelistas con las distintas formulaciones del jugo, se muestra claramente en la tabla 9 que la que tuvo una mayor aceptación fue la formulación 1:1 con un puntaje de 4.2, que sobrepasa por poco el “me gusta” de los panelistas, poniendo en segunda posición a la formulación con proporción de 2:1 y en último lugar a la formulación 1:2 con un 29% más de rechazo que la que encabeza este análisis.

Ahora bien, en los resultados obtenidos en el estadístico, entre las formulaciones 1:1 y 2:1 no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$), por el contrario, con la formulación de proporción 1:2 si presentó diferencias significativas con las 2 primeras y con esto reafirmó el rechazo que los panelistas tuvieron hacia este jugo; es decir, les gusto menos cuando tenia mas espinaca.

En el caso del sabor del jugo, la formulación que tuvo menor aceptación fue la de proporción 1:2 con una puntuación de 2.5, (tabla 9) lo que refleja un desagrado de los panelistas quedando entre el “no me gusta” y “no me gusta ni me disgusta”, siguiéndole la formulación con proporción de 1:2 que obtuvo una calificación de 2.66 apenas un 4% más aceptada que la antes mencionada, sin embargo la formulación de 2:1 fue 44% más aceptada que la primer formulación, obteniendo un “me gusta” de parte de los panelistas. Por otra parte, lo que nos muestra el estadístico es que no hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las tres formulaciones.

Los resultados obtenidos en la evaluación sensorial de la consistencia en los jugos fue que la formulación 1:1 y 1:2 obtuvieron una puntuación promedio de 3.7 dejando en segunda instancia con un 16.2% de menor aceptación a la formulación de proporción 2:1; las tres siendo evaluadas por los panelistas en promedios con un “no me gusta ni me disgusta”, esto mismo se ve reflejado en el estadístico en donde no hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre las tres formulaciones antes mencionadas.

Los comentarios de los panelistas al probar el jugo de piña con espinaca de relación 1:2 fueron que tenía un sabor amargo, por lo cual era un poco desagradable a su parecer. Villegas-Ruíz *et al.* (2010) menciona a la espinaca, lechuga coliflor como las principales “plantas” que tienen la característica de contener toxinas amargas y menciona que además de estas la mayoría son ricas en compuestos fenólicos y flavonoides.

Por lo anterior se puede deducir que al ser mayor la concentración de espinaca presente en la formulación estos compuestos predominan y opacan el dulzor que la piña le pudiera dar al jugo, lo cual no es agradable al paladar.

5.1.2.- Tipo de endulzante y adición de fibra al jugo.

Una vez establecida la relación de piña-espinaca con la que se trabajaría se decidió evaluar la aceptación del jugo con dos distintos endulzantes, azúcar y sucralosa. Al mismo tiempo se

evaluó la aceptación del jugo al agregarle una porción de la fibra seca del bagazo de la misma piña con la finalidad de obtener un alimento funcional del agrado del público; entendiendo como un alimento funcional a los alimentos que algunos de sus componentes afectan funciones del organismo de manera específica y positiva, promoviendo un efecto fisiológico o psicológico más allá de su valor nutritivo tradicional. Dicho efecto puede ser contribuir a mantener la salud y bienestar, a la disminución del riesgo de enfermar, o ambas cosas.

Los resultados obtenidos del análisis sensorial nos indica que los panelistas no detectaron ninguna variación en el color, por el tipo de endulzante utilizado y la adición de fibra en el jugo, en la tabla 10 observa que en promedio todos los jugos fueron calificados con 3.5, lo que refleja que fueron del agrado de los panelistas y no hay diferencias significativas entre los jugos propuestos ($p \leq 0.05$). Esto se puede deber a que como menciona Grandes (2008) la percepción del color en diversos productos puede verse influenciado en aspectos como el estado de ánimo del panelista y el entorno en el cual fue desarrollada la prueba.

En cuanto al olor de los jugos el mejor evaluado por los panelistas fue el que se endulzó con azúcar y no contenía fibra adicionada, con una puntuación de 3.7, sin embargo, en la tabla 10 se muestra que estadísticamente no hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los jugos presentados.

Tabla 10- Análisis sensorial de las distintas formulaciones del jugo de piña con espinaca, con variación de tipo de endulzante y contenido de fibra.

| Formulación | Color | Olor | Sabor | Textura |
|--------------------------|--------------|-------------|--------------|----------------|
| Azúcar c/fibra | 3.6 a | 3.3 a | 3.5 a | 3.4 a |
| Azúcar s/fibra | 3.5 a | 3.7 a | 3.8 a | 3.9 a |
| Sucralosa c/fibra | 3.7 a | 3.5 a | 3.8 a | 3.7 a |
| Sucralosa s/fibra | 3.7 a | 3.6 a | 3.6 a | 3.8 a |

También se muestran los resultados de la evaluación del sabor que se, no habiendo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre ninguno de los jugos evaluados, sin embargo, podemos observar que los jugos mejor evaluados con 3.8 ambos, son el jugo endulzado con azúcar sin fibra y el jugo endulzado con sucralosa y con fibra, lo cual nos permite decir que es indistinto utilizar un tipo de endulzante en particular y añadir o no la fibra al jugo ya que no fue perceptible por los panelistas y evaluaron por igual las alternativas presentadas.

Por último se evaluó la consistencia del jugo en donde se encontró que entre las formulaciones propuestas no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) a pesar de la adición de la fibra. Sin embargo se observa (tabla 10) que los jugos a los cuales se les adiciono fibra obtuvieron una puntuación ligeramente menor a lo que no la tenían. Al final evaluando el aspecto de la aceptación del jugo con fibra adicionada y la parte operativa para la adición de fibra al jugo además del impacto que esta pudiera tener en el precio, por lo cual se decidió trabajar con un jugo que no tuviera fibra adicionada.

Al termino de la evaluación sensorial se decidió trabajar con el jugo de piña con epinaca endulzado con azúcar y sin fibra, a pesar de que no hubo diferencias significativas estadísticamente entre ninguno de los jugos presentados, la preferencia de los panelistas se inclinaron más hacia los jugo endulzados con azúcar y sin fibra añadida.

Esta tendencia de los mexicanos a preferir las cosas endulzadas con azúcar se ve plasmada en un análisis de mercado de los edulcorantes en México realizado por CONADESUCA en el 2015, en donde se muestra que el 73% de la población mexicana hace uso de la azúcar como agente endulzante y plasma que en el periodo del 2011 al 2015 tan sólo un 3.5% de la población utilizaron edulcorantes “no calóricos”, categoría en la cual se incluye a la sucralosa.

5.2.- Evaluación de la vida de anaquel del jugo de piña con espinaca pasteurizado mediante una prueba de vida acelerada

La vida útil de un alimento se define como el tiempo finito después de su producción en condiciones controladas de almacenamiento, en las que tendrá una pérdida de sus propiedades sensoriales y fisicoquímicas y sufrirá un cambio en su perfil microbiológico. Entre los factores que pueden afectar la duración de la vida útil de un alimento se encuentran el tipo de materia prima, la formulación del producto, el proceso aplicado, las condiciones sanitarias del proceso, envasado, almacenamiento y distribución y las prácticas de los consumidores (Inungaray y Munguía, 2013).

En las figuras 8, 9, 10, 11 y 12 se muestra el comportamiento de deterioro del pH, °Brix, luminosidad, color y olor del jugo respectivamente durante su almacenamiento, los cuales no sufrieron ningún efecto en función al tiempo en ninguna de las temperaturas en las que se mantuvieron, esto indicando que el jugo no sufrió ninguna alteración que nos pudiera dar una pendiente de degradación y obtener una constante de velocidad de reacción para estimar su tiempo de vida aproximado.

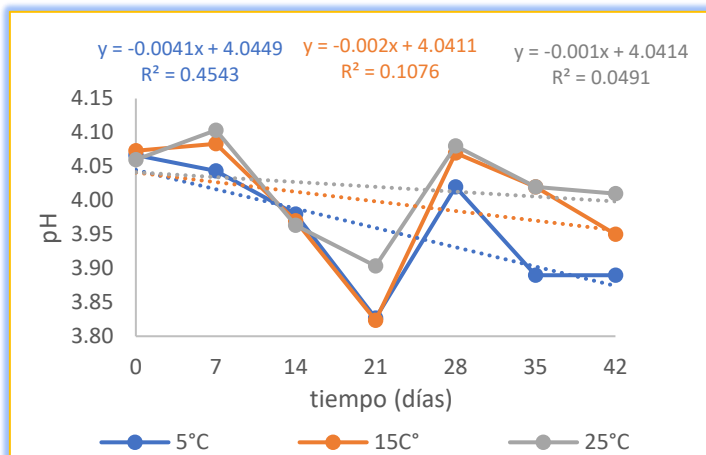


Figura 8.- Comportamiento de deterioro del pH del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento.

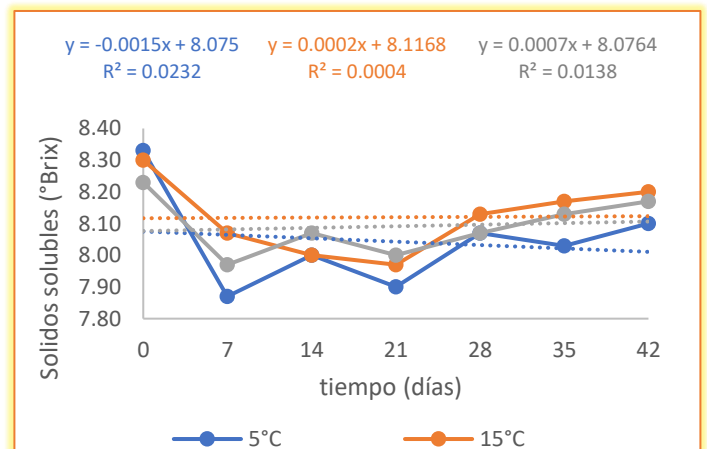


Figura 9.- Comportamiento de deterioro de los °Brix del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento

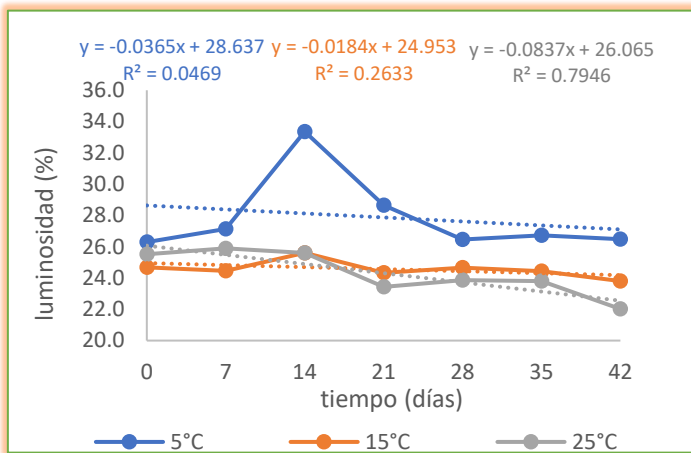


Figura 10.- Comportamiento de deterioro de la luminosidad del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento

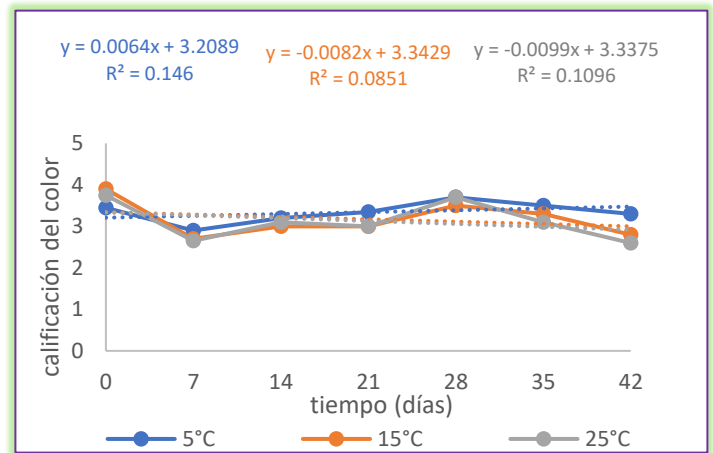


Figura 11.- Comportamiento de deterioro del color del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento

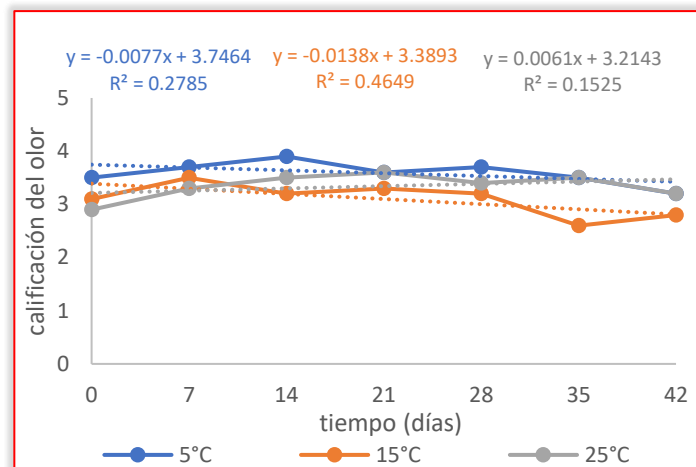


Figura 12.- Comportamiento de deterioro del olor del jugo de piña con espinaca de orden cero a diferentes temperaturas de almacenamiento

Las alteraciones de los alimentos dependen de sus propias características, de su microbiota y del ambiente que rodea al alimento, para crecer, los microorganismos requieren de disponibilidad de nutrientes adecuados, condiciones gaseosas apropiadas, temperatura y pH, suficiente, agua libre y ausencia de sustancias inhibitorias. Si alguno de estos factores no se encuentra en el rango necesario, no habrá crecimiento (Roberts y Greenwood, 2003).

En el caso particular del jugo, podemos asociar la no alteración de sus parámetros a la eficiencia de la pasteurización aplicada; ya que generalmente estos factores se alteran por presencia de microorganismos o por reacciones químicas inherentes al producto o causadas por enzimas presentes en ellos (Frazier, 2003). De igual manera esto influyó a que el jugo conservará sus características sensoriales como su olor y su color intactas y no fueran rechazados por los consumidores.

Por otro lado, en la tabla 11 se muestra el seguimiento de los parámetros microbiológicos que se efectuaron a lo largo del estudio de vida de anaquel acelerada del jugo de piña con espinaca, se puede observar que en las diferentes temperaturas en las que se almacenó el producto durante los 42 días no hubo crecimiento de microorganismos que pudieran llegar a degradar el jugo, por lo tanto podemos asegurar que dentro de este tiempo el jugo almacenado a temperatura ambiente o en refrigeración no tendrá ningún cambio causado por microorganismos.

Tabla 11.- Seguimiento microbiológico de la vida de anaquel acelerada del jugo de piña con espinaca.

| Temp (°C) | 5°C | | | 15°C | | | 25°C | | |
|-----------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Coliformes totales (UFC/g) | Mesófilos aerobios (UFC/g) | Mohos y levaduras (UFC/g) | Coliformes totales (UFC/g) | Mesófilos aerobios (UFC/g) | Mohos y levaduras (UFC/g) | Coliformes totales (UFC/g) | Mesófilos aerobios (UFC/g) | Mohos y levaduras (UFC/g) |
| 0 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| 7 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| 14 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| 21 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| 28 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| 35 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| 42 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |

De acuerdo con la NOM-130-SSA1-1995 que establece que para jugos y néctares pasteurizados el límite permisible de bacterias mesofilas aerobias son 100 UFC/ g y para mohos y levaduras 20 UFC/g, el jugo de piña con espinaca se encuentra dentro de los límites permitidos por esta norma y es apto para consumo humano; demostrando una vez más que

las condiciones de pasteurización y el tipo de envase en el cual se realizó la prueba fueron convenientes para controlar la carga microbiológica en el jugo.

Para poder realizar la determinación de la vida útil del jugo se tomaron los parámetros que permitieron obtener una constante de velocidad de reacción al graficarse en función al tiempo, esto quiere decir que fueron cambiando ya sea en forma ascendente o descendente.

En las figuras 13 y 14 se presenta el comportamiento obtenido del sabor y la consistencia percibidos por los panelistas en las evaluaciones sensoriales. En el caso particular del sabor podemos observar que del día 0 al día 21 los panelistas no identificaron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los jugos evaluados; sin embargo, a partir del día 28 los jugos almacenados a 15°C y 25°C empezaron a disminuir su calidad en cuanto a sabor, teniendo que al día 42 el jugo almacenado a 15°C obtuvo un puntaje 26% menor y el jugo almacenado a 25°C un 30% menor de la calificación comparados con el jugo que se almacenó a 5°C.

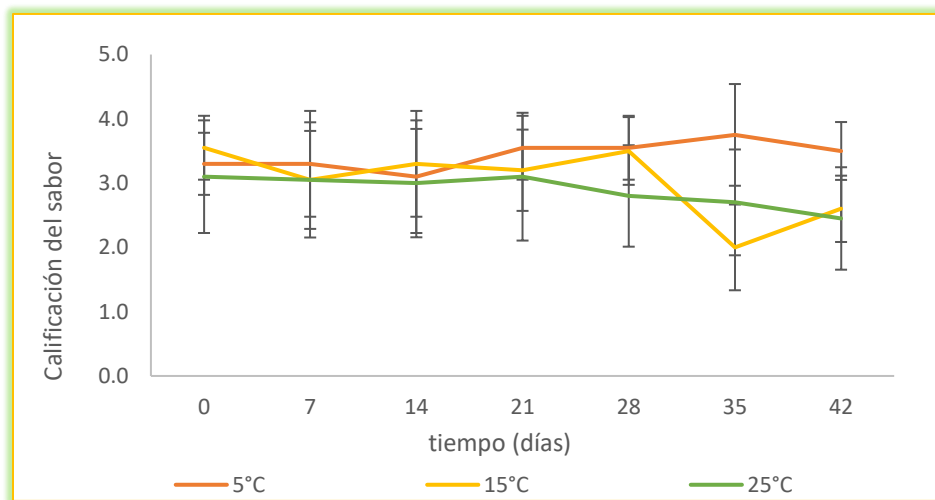


Figura 13.- Análisis sensorial del sabor durante el estudio de vida acelerada del jugo de piña con espinaca pasteurizado.

Esto se debe a que, en la tecnología disponible para conservación de alimentos por frío, se ha confirmado que bajas temperatura como refrigeración sirven para la conservación a corto

y mediano plazo, ya que reduce el riesgo de descomposición por microorganismos y alentan algunas reacciones de descomposición química propias del aliento que impactan directamente en su composición química y atributos sensorial (Umaña, 2006).

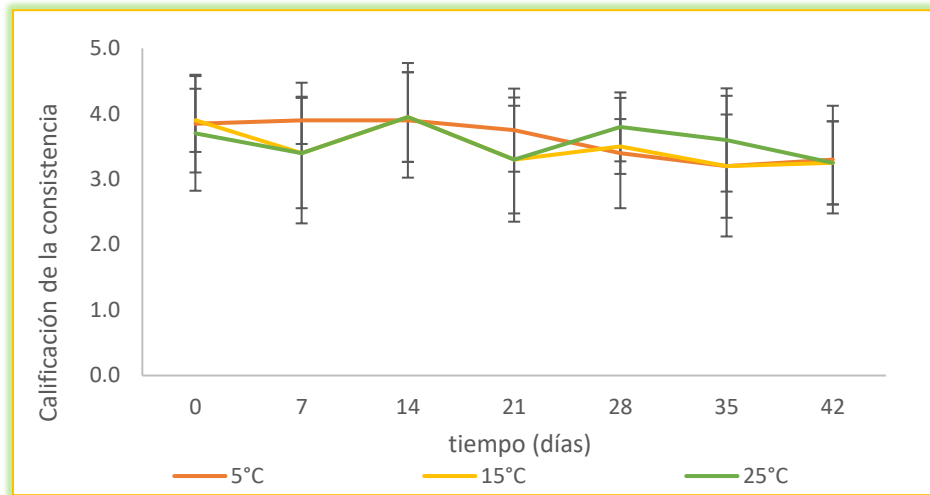


Figura 14.- Análisis sensorial de la consistencia durante el estudio de vida acelerada del jugo de piña con espinaca pasteurizado.

Por otra parte, la consistencia del jugo durante la evaluación sensorial fue decreciendo en las tres temperaturas a las que se almacenó el jugo pasando de una calificación de 3.85 en el día 0 a 3.20 en el día 42 almacenado a 5°C. En la figura 14 se muestra que no hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los jugos evaluados; sin embargo, las desviaciones estándar resultantes del estadístico son muy grandes y por ende el margen de error, al definirse la desviación estándar como la media de distancias que tienen los datos sobre la media aritmética (Kreyszig, 2003).

5.2.1- Cinética de velocidad de reacción del sabor y la consistencia del jugo durante su almacenamiento a distintas temperaturas.

En general, se tiene que las reacciones de deterioro de los alimentos pueden ser tratadas globalmente como reacciones elementales de orden aparente cero, uno, o dos, aunque la gran mayoría pueden ser descritas por un modelo de orden uno. La ecuación más utilizada para

modelar las razones o constantes de reacción en función de la temperatura, como factor de aceleración, es la ecuación de Arrhenius; donde la energía de activación es el parámetro clave para la estimación de vida útil (Nelson, 1990).

En el caso del jugo de piña con espinaca se muestra una variación en función al tiempo de sus aspectos sensoriales, principalmente del sabor y la textura que se muestran en las figuras 15 y 16 respectivamente.

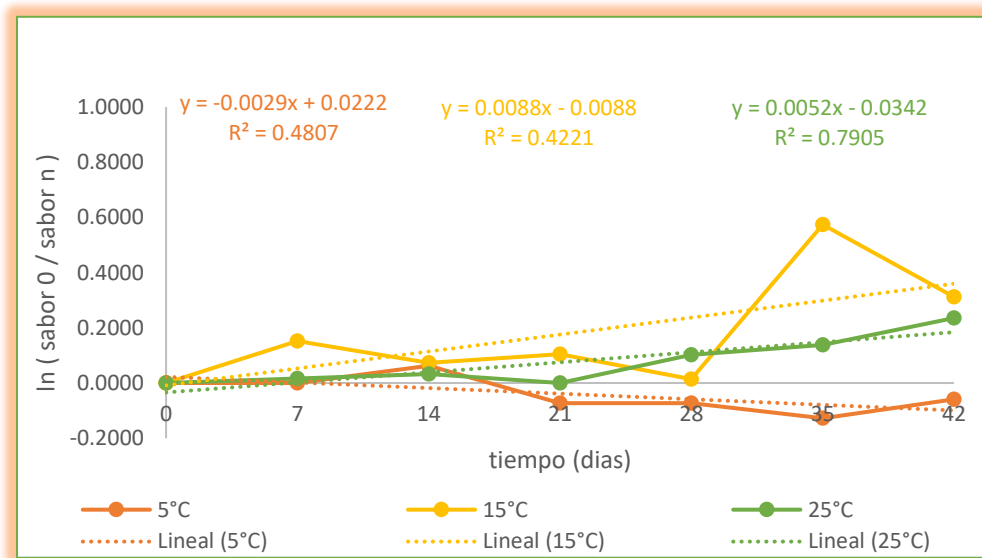


Figura 15.- Comportamiento de deterioro del sabor del jugo de piña con espinaca de orden uno a diferentes temperaturas de almacenamiento.

Para el caso del sabor tenemos que los coeficientes de correlación que obtuvimos al graficar el tiempo contra el logaritmo natural (ln) del sabor al tiempo “0” entre el sabor al tiempo “n” son de 0.4807 para el jugo almacenado a una temperatura de 5°C y 0.4221 para el que se almacenó a 15°C pudiendo observar que el coeficiente más alto fue el del jugo que se almacenó a 25°C con 0.7905, esto nos representa el grado de correlación lineal que tienen las dos variables; en otras palabras nos dice cómo es que la variable “y”, en este caso el sabor del jugo cambia en función de la variable “x” que es el tiempo (Marquez, 2014).

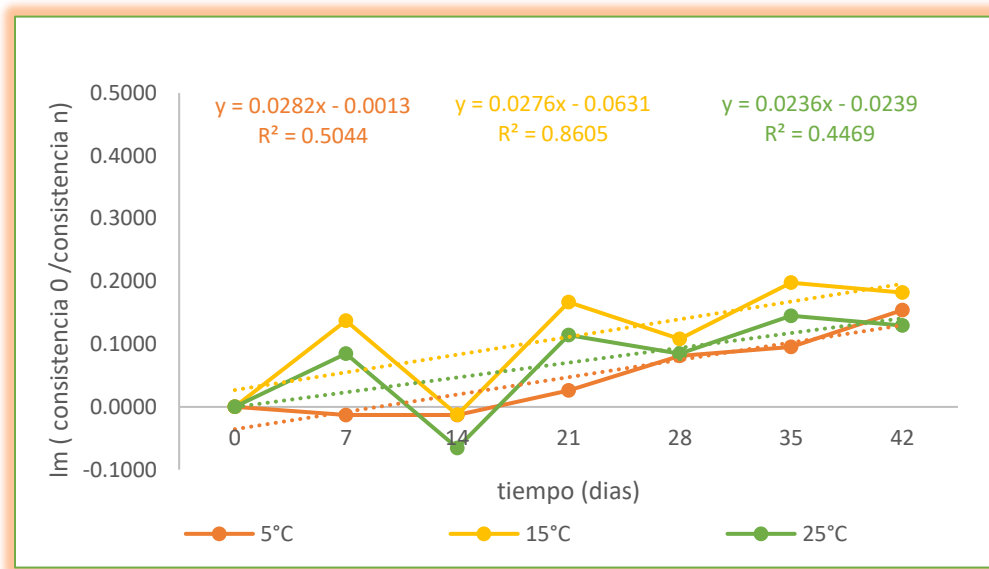


Figura 16.- Comportamiento de deterioro de la consistencia del jugo de piña con espinaca de orden uno a diferentes temperaturas de almacenamiento.

Por otro lado, al obtener coeficientes de variación tan bajos para el caso del sabor del jugo se decidió realizar el cálculo de la constante de velocidad de reacción igual con la consistencia, en la figura 16 se observa que de la misma forma que con el sabor los coeficientes de correlación obtenidas son bajas a excepción del jugo que se almacenó a una temperatura de 15°C con un coeficiente de 0.8605. En la tabla 12 se muestran las constantes de velocidad de reacción de ambos parámetros a las tres temperaturas de almacenamiento.

Tabla 12.- Constantes de velocidad de reacción del sabor y la consistencia del jugo a las tres temperaturas a las que fue sometido.

| Parámetro | Orden de reacción | Temperatura | R2 | k (días-1) |
|---------------------|-------------------|-------------|----------|------------|
| Sabor | n=1 | 5°C | 0.4807 | -0.0029 |
| | n=1 | 15°C | 0.4221 | 0.0088 |
| | n=1 | 25°C | 0.7905** | 0.0052 |
| Consistencia | n=1 | 5°C | 0.5044 | 0.0282 |
| | n=1 | 15°C | 0.8605** | 0.0276 |
| | n=1 | 25°C | 0.4469 | 0.0236 |

Para el caso del comportamiento de la constante de velocidad de reacción en la consistencia del jugo se puede observar que en función en que aumenta la temperatura el valor de la constante disminuye, lo cual nos indica que la temperatura está degradando la calidad de la consistencia del jugo en función al tiempo (Giraldo, 1999). Lo cual no pasa con el sabor ya que podemos observar que la K obtenida a la temperatura de 25°C es menor que la que se obtuvo a 15°C, esto podría significar que el jugo se vió más alterado su sabor sensorialmente por la temperatura de 15°C que a temperatura ambiente.

Una vez ya obtenidos los valores de la constante de velocidad de reacción se procedió a realizar el cálculo de la Ea (energía de activación) graficando el inverso de la temperatura en K contra el logaritmo natural (ln) de la velocidad de reacción a las diferentes temperaturas dándonos la Ea/R como la pendiente de la regresión lineal de esta curva (tabla 13). En esta ocasión se realizó el cálculo solamente en función de la consistencia del jugo que fue quien presentó la mejor tendencia en la cinética de degradación.

Tabla 13.- Ea de la reacción de degradación de la consistencia del jugo de piña con espinaca.

| 1/T (K) | ln k | Ea (cal/mol) |
|---------|---------|--------------|
| 278.15 | -3.5684 | 1.4538 |
| 288.15 | -3.5899 | |
| 298.15 | -3.7465 | |

La energía de activación se define como la energía necesaria para producir una reacción química dada, (Giraldo, 1999) menciona en su libro que un proceso de difusión en alimentos necesita una energía de activación de 0 a 8000 cal/ mol, al hacer la conversión de la energía que obtuvimos a esta unidades la energía de activación de la reacción en el jugo fue de 1.4538 cal/mol, por lo cual podemos decir que se llevó a cabo una reacción de difusión en el jugo ya que este valor entra dentro de los parámetros ya antes mencionados.

Con la E_a ya calculada se realizó el cálculo para el tiempo de vida útil del jugo a las tres distintas temperaturas tomando en cuenta que la máxima calidad obtenida en el jugo por los panelistas fue 5 y la mínima 1. Los resultados de esto se muestran en la tabla 14.

Tabla 14.- Tiempo de vida útil del jugo de piña con espinaca en función al cambio de consistencia en el tiempo a tres distintas temperaturas.

| Constantes | k (días ⁻¹) | Tiempo de vida (días) |
|-----------------------|-------------------------|-----------------------|
| k₀ | 2.0912 E-3 | ----- |
| k₅ | 2.0960 E-3 | 768 |
| k₁₅ | 2.0966 E-3 | 768 |
| k₂₅ | 2.1064 E-3 | 764 |

EL jugo de piña con espinaca pasteurizado y envasado en vidrio tiene un tiempo de vida útil en una temperatura de refrigeración de 5°C de 768 días, lo mismo pasa si es almacenado a 15°C; sin embargo, al someterse a una temperatura de 25°C disminuye su tiempo de vida útil 4 días, esto en función a la consistencia del jugo pero esta diferencia no fue significativa ($p \leq 0.05$) en la duración del jugo al ser almacenado a 5°C, 15°C y 25°C.

En el estudio de vida de anaquel acelerada uno de los factores clave para la estimación de esta es la temperatura, ya que algunas reacciones de degradación se ven beneficiadas con su incremento, en el jugo de piña con espinaca se ve que si hay una disminución de la vida en función al incremento de la temperatura de almacenamiento, lo mismo pasa en el estudio de vida acelerada de un puré de tomate el cual se almacenó a 40, 45 y 50°C, pudiendo obtener la vida útil del producto con el cambio del color en función del tiempo, el puré sometido a 40 °C tuvo una vida útil de 150 días mientras que el de 50°C tuvo una duración de 45 días (García *et al.*, 2011).

Posteriormente se obtuvo una ecuación general del comportamiento en el tiempo del jugo de piña con espinaca en función a la temperatura de almacenamiento, graficando el logaritmo natural (ln) de la vida útil en función a la temperatura, el resultado de esto se muestra a continuación:

$$\ln vida\ util = e^{-.00003T+6.717}$$

El signo negativo en la pendiente representa el factor de degradación del parámetro en función a la temperatura de exposición (García y Molina, 2008), con esta ecuación se puede predecir el tiempo de vida útil del jugo a cualquier temperatura de almacenamiento, siempre y cuando sea la temperatura el factor de alteración del mismo.

Finalmente en la tabla 15 se presenta el valor de Q_{10} obtenido durante el estudio de vida acelerada del jugo, el cual representa el factor de aceleración de la reacción de deterioro a una temperatura más elevada, en el caso del jugo, al someterlo a una temperatura de 25°C la velocidad de deterioro de la consistencia de este se incrementó .005%, lo cual nos permite decir que el jugo puede ser almacenado a 25°C y este no tendrá una variación significativa ($p \leq 0.05$) en su deterioro.

Tabla 15.- Factor Q_{10} del jugo de piña con espinaca.

| Temperaturas (°C) | Q_{10} |
|-------------------|----------|
| 5 – 15 | 1 |
| 15 – 25 | 1.005 |

5.3 Aplicación de irradiación UVC, ozono y ultrasonido en el jugo de piña con espinaca.

Las nuevas tecnologías en la conservación de alimentos van desde la aplicación de altas presiones, irradiación, ultrasonidos o la aplicación de campos electromagnéticos. Dentro de este último grupo, los ultrasonidos y los campos eléctricos pulsantes son dos de las tecnologías más prometedoras en la actualidad. Así, la mayor demanda de alimentos crudos o poco procesados, ha impulsado el uso de estos métodos, que además no alteran parámetros de calidad como el color, sabor y consistencia (Tinoco, 2015).

5.3.1 Efecto sobre parámetros de calidad.

5.3.1.1. pH.

Uno de los factores de mayor importancia que nos define el tipo de proceso de conservación requerido para un alimento es su pH, ya que la resistencia térmica de las esporas de algunas bacterias está íntimamente ligada con la acidez del medio en el que se desarrollan generalmente en $\text{pH} < 4.5$ no existe desarrollo de microorganismos, sin embargo, si se desea incrementar la vida de anaquel del producto es necesario recurrir a otro proceso como puede ser la pasteurización en el caso de los jugos (Bedolla *et al.*, 2004).

En la figura 17 se muestra el comportamiento del pH del jugo de piña con espinaca con los diferentes tratamientos a los que se sometió, inicialmente el jugo tuvo un pH de 4.26, este no mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre ninguno de los tratamientos aplicados

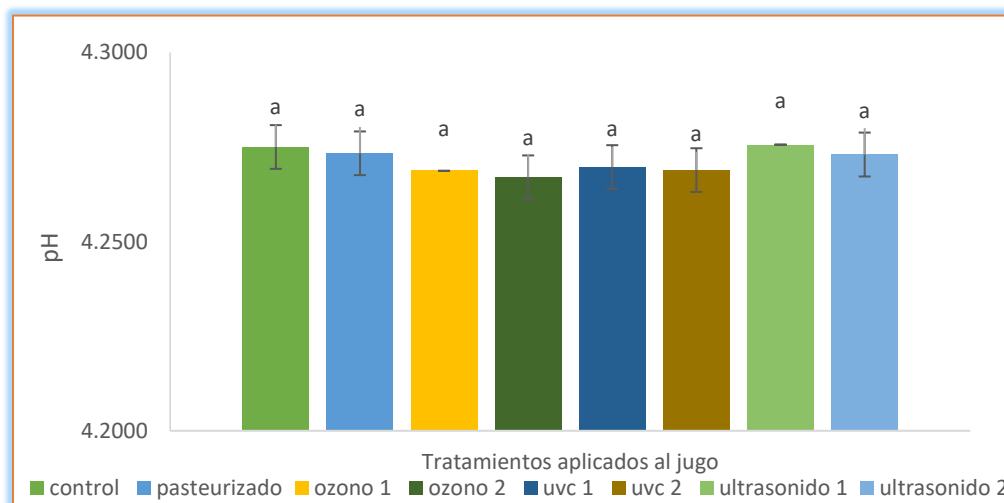


Figura 17.- pH del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

Generalmente el pH en los alimentos se ve modificado por compuestos químicos adicionado, por el efecto de microorganismos presentes o por reacciones químicas de degradación (Lupano, 2013), sin embargo, no se ve afectado directamente por tratamientos físicos y/o de conservación como en este caso.

5.3.1.2. Sólidos solubles.

Los sólidos solubles son un importante parámetro para determinar la calidad en la industria de las frutas, vinos y zumos. Este permite determinar con exactitud el extracto total que se ofrece en grados Brix; es decir la concentración aproximada de sacarosa que hay en una solución (Grupo Cooperativo Cajamar, 2014).

El resultado obtenido al someter al jugo de piña con espinaca a distintos tratamientos alternativos a la pasteurización en su contenido de sólidos solubles se muestran en la figura 18 en donde se puede ver que estadísticamente si hubo diferencias significativas entre los sólidos solubles totales de los diferentes tratamientos, principalmente el sometido a ozono 1 teniendo una disminución del 1% en función al jugo control y en el caso de los jugos tratados con ultrasonido tuvieron un aumento del 1% en función al jugo control.

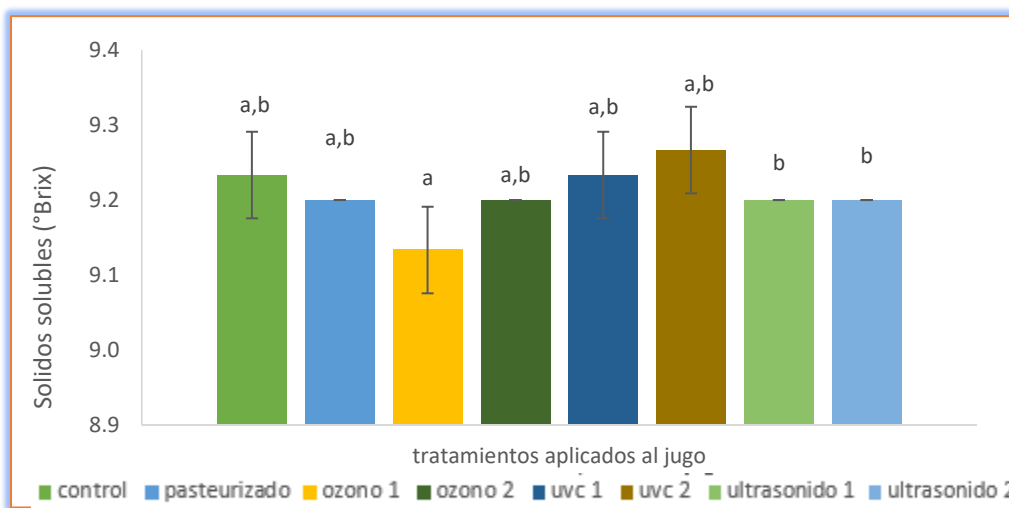


Figura 18.- Sólidos solubles del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

Aparentemente el comportamiento de los grados Brix en los jugos es igual estando todos en un rango de 9 a 9.2, lo que significa que los jugos no reflejan como tal una alteración en los sólidos solubles debido a los tratamientos a los que fueron sometidos. Esto se pudo deber a que en ninguno de los tratamientos el jugo alcanzó las condiciones de temperatura y el tiempo de exposición para provocar una evaporación la cual se define como la remoción parcial del agua de un alimento líquido mediante ebullición con el fin de aumentar los sólidos en el mismo (Orrego, 2003)

5.3.1.3. Luminosidad.

El color de un zumo de frutos cítricos es de gran importancia y constituye un factor decisivo de la compra por parte de los consumidores es especial cuando van en envases transparentes, ya sean de cristal o plástico (Conesa et al., 2006).

La luminosidad o brillo es la cantidad de luz emitida o reflejada por un objeto. Y en un color sería su claridad u oscuridad. Un color al 100% de saturación tendrá su máxima pureza con un 100% de luminosidad, y con una luminosidad del 0% será negro absoluto (Selva, 2011).

En la figura 19 se nota un incremento del 41% en la luminosidad del jugo al que se le aplico un tratamiento de 2 ciclos de ozono en función al control a su vez un incremento del 57% al jugo tratado con UVC durante 25 minutos en función al jugo control, quedando entre estos dos el jugo pasteurizado con un incremento del 52% en su luminosidad; lo cual nos demuestra que si hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el incremento de la luminosidad al aplicar los distintos tratamientos alternativos a la pasteurización en el jugo.

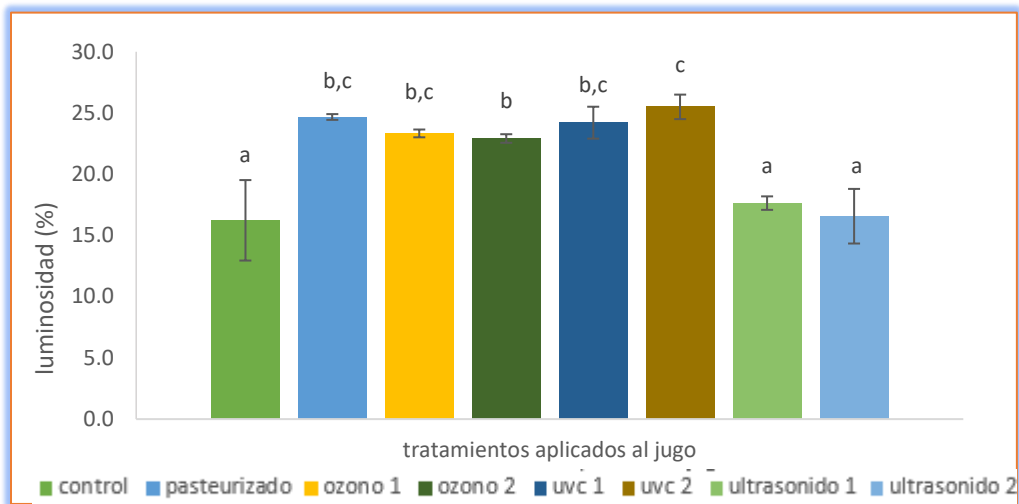


Figura 19.- Luminosidad del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

La aplicación de procesos térmicos como es el caso de la pasteurización en zumos de frutas y verduras es uno de los principales métodos de conservación, sin embargo, en este se pierden características sensoriales del producto como cambios de color, sabor y textura que se dan principalmente por la oxidación de algunos compuestos y en algunos casos reacciones de caramelización. Esto mismo pasa con la aplicación de UVC, estudios realizados por González-Aguilar *et al.*, (2005) mencionan que en un tiempo de aplicación de entre 1 y 3 minutos de irradiación UVC en un alimento este no incrementa su temperatura (1- 3°C) y por lo tanto no se producen reacciones de degradación o alteraciones en las características del producto.

Por lo cual se puede estimar que a pesar de que los tratamientos aplicados fueron no térmicos durante su aplicación hubo un gradiente de temperatura, principalmente en el UVC el cual permitió el aumento en la luminosidad del producto (oscurecimiento). En el caso del ozono es una molécula bastante inestable y es un agente oxidante de los más poderosos que se conocen y tiene la capacidad de oxidar hierro magnesio y otros metales pesados (Seminario *et al.*, 2005) en el caso específico del jugo la espinaca tiene un importante contenido en Hierro que puede ser el principal agente oxidado durante su procesamiento causante del oscurecimiento o incremento en la luminosidad del producto.

5.3.2. Efecto sobre parámetros nutricionales.

5.3.2.1 Clorofila.

A pesar de que la importancia de la clorofila aun no es muy conocida en el mundo de la nutrición, su importancia no podría ser mayor en el mundo de las plantas. La clorofila es la sustancia que permite a las plantas absorber la luz solar y convertirla en energía utilizable. Todas las plantas contienen clorofila, una de las que más contiene es la espinaca que su contenido oscila entre los 300 y 600 mg por oz. Entre los beneficios que este pigmento ofrece a la salud humana, se ha encontrado que previene el ataque de sustancias cancerígenas como son las aflatoxinas, en específico la B1 (Reardon, 2013).

En la figura 20 se observa que el contenido de clorofila en el jugo sin aplicar ningún tratamiento de conservación (control) fue de 8.5 mg/ml, aplicándole un tratamiento de pasteurización al jugo este valor disminuye en un 25 %, siendo este tratamiento el que más degrada la clorofila presente en el jugo, con lo que respecta en la aplicación de ozono, irradiación UVC y sonicacion no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de clorofila con el jugo control.

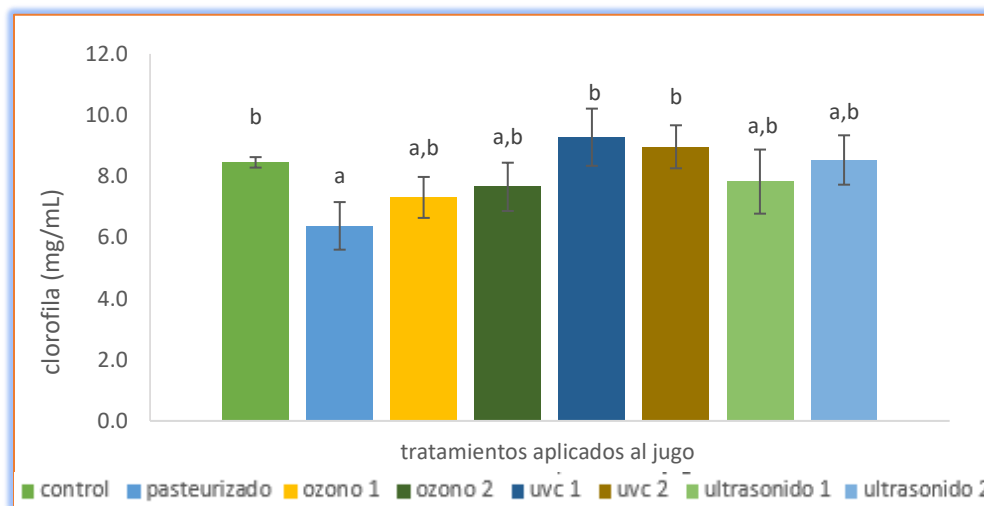


Figura 20.- Concentración de clorofila en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

El ligero incremento de la clorofila que se dio en el jugo cuando se aplicaron los tratamientos de irradiación UVC se debe principalmente a que la clorofila es un pigmento primario que tiene como finalidad la captación de energía lumínica para su participación en el proceso de fotosíntesis de plantas y algunas bacterias (Manrique, 2003), al ser sometida a espectros que van de 380 a 500 nm (luz violeta, azul y verde), es fuertemente absorbida por la clorofila lo cual permite que se aumente el índice del área foliar y por ende el aparente aumento en la cantidad de clorofila, que en realidad son compuestos suplementarios como es el caso de Xantofilas entre otros compuestos que quedan expuestos (Villalobos *et al.*, 2002).

5.3.2.2. Vitamina A.

Las vitaminas son nutrientes orgánicos de bajo peso molecular, que el organismo humano requiere obligatoriamente para su crecimiento, desarrollo y mantenimiento y que el hombre necesita adquirir a través de los alimentos (Oliva *et al.*, 2012).

La vitamina A se encuentra de dos maneras diferentes en los alimentos como retinol en alimentos de origen animal, por ejemplo: hígado, leche entera, mantequilla, quesos, pescado, entre otros; también a manera de carotenoides (β -caroteno es el carotenoide más común) en alimentos de origen vegetal como, por ejemplo: zanahorias, jitomates, verduras de hoja verde, camote y mango. Los β -carotenos y otros carotenoides son conocidos como precursores de vitamina A (Schauff y Villarreal, 2009).

El contenido de vitamina A en el jugo de piña con espinaca fue de 396.41 μg de β caroteno por cada 100 mL de jugo, sin embargo; al aplicar un tratamiento térmico como es el caso de la pasteurización esta cantidad se perdió en un 15.7 % como se observa en la figura 21; en un estudio realizado por Judith King y Saturnino de Pablo (1987) mencionan que la vitamina A es uno de los nutrientes más lábiles y que se llega a ver afectado entre un 15% y 20% mínimamente al ser sometidos a tratamientos térmicos no tan agresivos, como un escaldado o un proceso de pasteurización rápida.

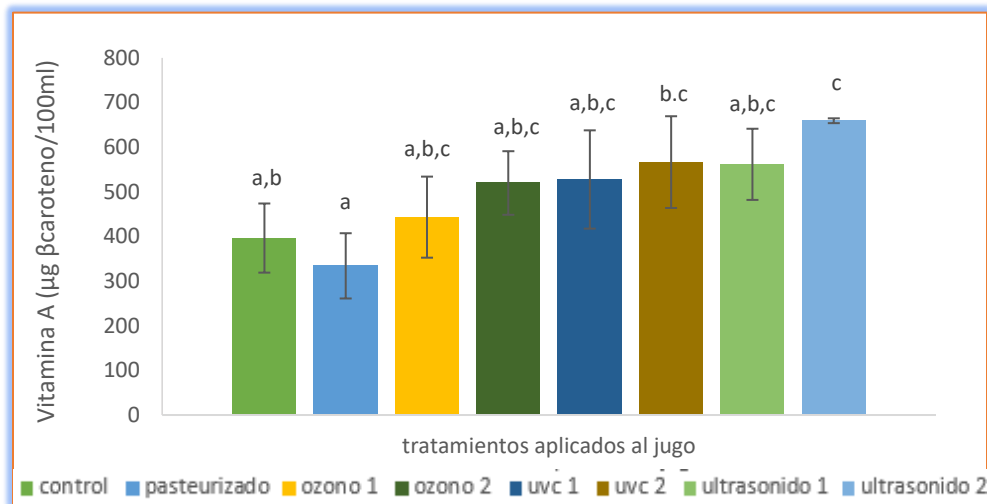


Figura 21.- Concentración de vitamina A en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

A su vez en la figura 21 se muestra el comportamiento de la vitamina A al someter al jugo a distintos tratamientos, en el caso de la aplicación de ultrasonido en un tiempo de 25 minutos hubo un aumento del 75% en el contenido de βcarotenos en comparación con el jugo control, lo mismo pasa con la aplicación de ozono e irradiación UVC, entre mayor es el tiempo de exposición hay un incremento en la cantidad de vitamina A, por lo cual se puede notar que si hubo diferencias significativas ($p \geq 0.05$), en la cantidad de vitamina A presentes en el jugo naturalmente, con respecto al jugo pasteurizado y a los jugos que fueron sometidos a otro tratamiento.

5.3.2.3. Vitamina C.

La vitamina C activa es el propio ácido ascórbico que actúa como un donador de equivalentes reductores al oxidarse a ácido deshidroascórbico. La vitamina C participa en la absorción del hierro en el organismo y esta puede formar quelatos de bajo peso molecular que facilitan la absorción o nivel gastrointestinal y además permite una mayor movilización de hierro desde los depósitos. También puede mejorar el estado hematológico mediante otros mecanismos, tales como: la disminución en la inhibición de la absorción de este mineral, ejercida por sustancias como los taninos, la activación de enzimas capaces de convertir los

folatos a su forma activa, y proteger a los glóbulos rojos del daño oxidativo (Cardero *et al.*, 2009).

El jugo de piña con espinaca es una importante fuente de vitamina C, en la figura 22 se observa que el jugo control resulto tener 20 mg de ácido ascórbico/ mL de jugo. Sin embargo, al aplicar un proceso de pasteurización esta cantidad disminuyó un 38% lo mismo paso con la aplicación de ozono 1 y disminuyó en un 75 % al aplicar ozono durante un mayor tiempo. Sin embargo, se puede apreciar de igual manera que la aplicación de UVC y ultrasonido en el tiempo 1 no presentó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de vitamina C en función al jugo control.

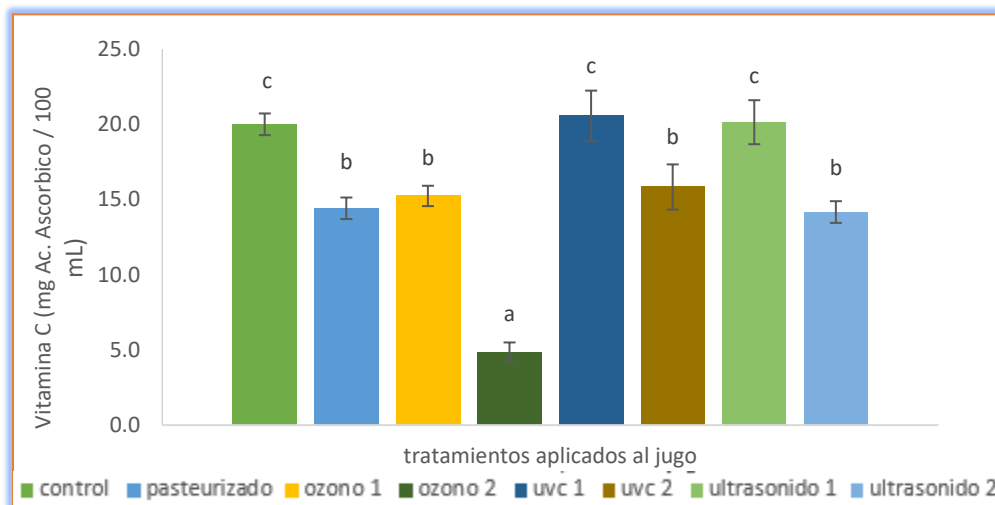


Figura 22.- Concentración de vitamina C en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

En un estudio realizado en el 2015 por Acurio *et al.*, sobre el efecto de la aplicación de temperatura e irradiación UVC sobre la pérdida de ácido ascórbico en jugo de naranja se muestra que los jugos que fueron sometidos a altas temperaturas tuvieron una degradación de vitamina C hasta de un 48 % sin embargo; los jugos tratados con UVC la degradación de esta no ascendió a más del 16% en lapsos de exposición hasta de 1 hora, lo cual demuestra que el ácido ascórbico presente en jugos cítricos es resistente a tratamientos de irradiación

UVC y que a pesar que la vitamina C es foto sensible, tiene más sensibilidad y mayor riesgo de degradación al ser sometida a altas temperaturas.

Para el caso de la irradiación UVC Ruiz Silva *et al.*, (2010) aplicó una dosis de 0.6 y 1.2 J/s de irradiación UVC sobre repollo minimamente procesado y observó que esta tecnología no afectaba el contenido de vitamina C de este vegetal en el tiempo 0 y tampoco en el transcurso de 9 días; por otro lado Bataller – Venta *et al.*, (2010) reporta que al someter tomates verdes a nivel planta piloto por inmersión en una solución ozonizada con 0.75 mg/L durante 10 minutos, no se observaron cambios en los valores nutricionales de este, entre los que se encuentra la Vitamina C.

5.3.2.4. Compuestos fenólicos.

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, constituyen un amplio grupo de sustancias con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas. Estos compuestos intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos, por lo que la obtención y preparación de productos con un alto contenido de estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, pudiendo incluso englobarlos dentro de los llamados alimentos funcionales (Porrás-Loaiza y López-Malo, 2009).

En la figura 23 se observa que si hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el jugo al aplicar diferentes tratamientos alternativos a la pasteurización.

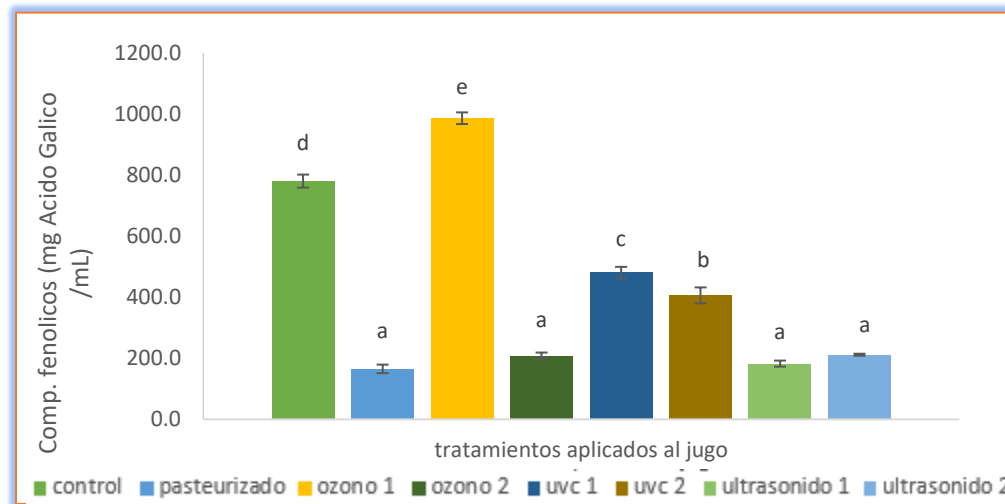


Figura 23.- Concentración de compuestos fenólicos en el jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

Al pasteurizar el jugo se perdieron el 79% de los compuestos fenólicos presentes en el jugo, caso similar pasa con la aplicación de ultrasonido en los dos diferentes tiempos provocó que se perdieran el 75% de estos compuestos, sin embargo Zapata *et al.*, (2015) evaluaron el efecto térmico del secado por aspersión sobre metabolitos secundarios de la pulpa de curuba micro encapsulada sobre compuestos fenólicos y obtuvieron que estos se mantuvieron y en algunos casos aumentaron a pesar del tratamiento térmico al que se sometió.

En este caso la disminución de estos compuestos puede ser contribuida a las condiciones de pasteurización y el pH del medio ya que la mayoría de estos compuestos se encuentran en las frutas de forma glicosidada (García - Alonso, 2005) y los azúcares pudieron haberse caramelizado con este tratamiento. Algo similar pasa con la aplicación de ultrasonido ya que se ha demostrado que la aplicación de ultrasonido a 20 kHz a temperatura ambiente favorece la cantidad de fenoles en miel de abeja (Santos *et al.*, 2011). También se observó un incremento en estos compuestos al aplicar un ciclo de ozono al jugo. Debido a que la acción del ozono está en función del pH del medio la aplicación de este en pH alcalinos degrada hasta en un 50% los compuestos fenólicos, sin embargo en pH ácidos no tiene este efecto (Ramírez, 2002) y en este caso resultó benéfico.

5.3.2.5. Capacidad antioxidante.

La protección que las frutas y vegetales brindan contra las enfermedades degenerativas como cáncer y enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, ha sido atribuida a su alto contenido de varios antioxidantes los cuales neutralizan la acción de los radicales libres y desempeñan una función fundamental en la prevención de estas enfermedades. La mayor parte de la capacidad antioxidante principalmente en frutas y vegetales se la proporciona su contenido de vitamina E, C y carotenos, así como diferentes polifenoles (Pineda *et al.*, 1999).

La capacidad antioxidante del jugo se vio afectada principalmente por el proceso de pasteurización, ozono 2 y UVC 2, teniendo una pérdida del 44, 29 y 24 % respectivamente como se puede apreciar en la figura 24. Por otra parte, con los demás tratamientos no existen diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la capacidad antioxidante del jugo.

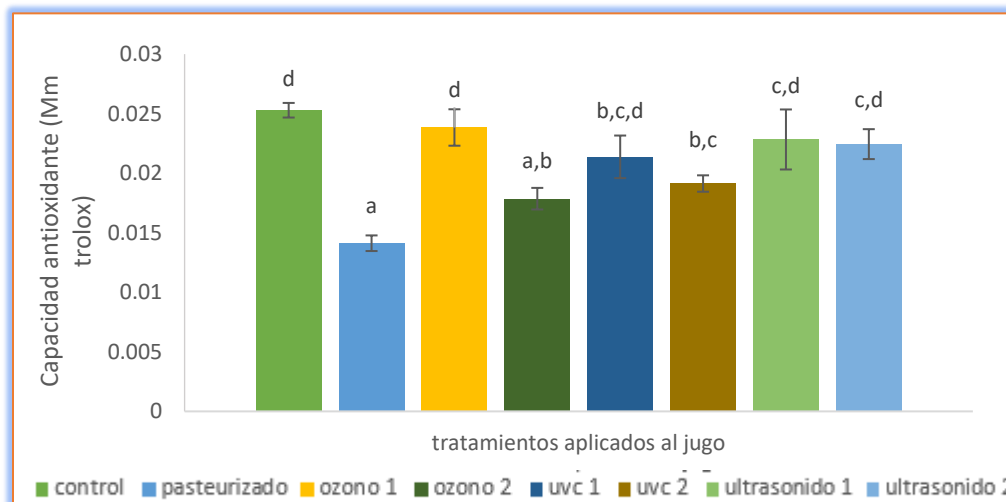


Figura 24.- Capacidad antioxidante del jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

Al verse afectado el contenido de vitamina A y C al igual que de los fenoles en el jugo de piña con espinaca por un tratamiento térmico, impacto directamente a su capacidad antioxidante, el mismo caso con el tratamiento con ozono 2 y UVC 2. Se puede decir que la

degradación de estos nutrientes en el jugo es directamente proporcional a la baja capacidad antioxidante que se obtenga.

5.3.2.6. Actividad enzimática de la Bromelina.

La bromelina es una enzima perteneciente a las proteasas, se encuentra contenida en el cultivo de piña y dentro de sus usos se ha encontrado que se utiliza para mejorar la digestión, como antitrombótico, antitumoral, antiséptico y entre otros (Revista Venemédica, 2004).

En la figura 25 se muestra el efecto que tuvieron los diversos tratamientos a los que se sometió el jugo de piña con espinaca sobre la actividad de la bromelina, se puede observar que el comportamiento es muy variable e inestable en función al tiempo, no hay un patrón de comportamiento estable, sin embargo, se puede observar en todos los tratamientos la presencia de esta enzima en el jugo oscilando su actividad entre 1.2 y 1.8 mg/mL*min⁻¹.

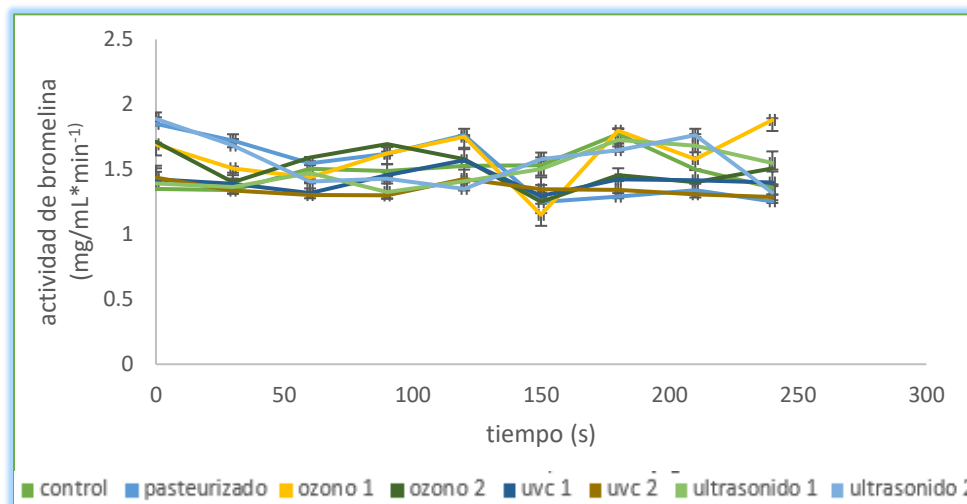


Figura 25.- Cinética de actividad enzimática de la bromelina presente en el jugo de piña con espinaca control sometido a pasteurización, irradiación uvc, ultrasonido y ozono.

Ahora bien, se ha podido observar que el comportamiento de la actividad enzimática de esta enzima está directamente relacionada con el pH al cual es sometida en donde el pH en donde

la bromelina presenta más actividad son de 5 a 7, sin embargo en valores más elevados la actividad de la bromelina disminuye drásticamente (Clavijo et al, 2012); el jugo de piña con espinaca al tener un pH de 4 y no verse afectado por los distintos tratamientos, la bromelina presenta actividad tampoco se vió afectada.

5.3.3. Parámetros sensoriales.

Nuevas tecnologías, la mayor competencia, globalización de los mercados y, quizás lo más importante, un mayor conocimiento de los consumidores acerca de los productos que consumen, han cambiado totalmente el entorno y el uso de novedosas técnicas de la evaluación sensorial, para medir la calidad de un producto y para determinar los atributos específicos que conduzcan a la elección de esa calidad (Zamora, 2007).

En la figura 26, 27 y 28 se representa la tendencia de preferencia sensorial de los jugos con distintos tratamientos, en todas ellas de acuerdo con el estadístico no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos, sin embargo, como antes se había mencionado esto se debe a las desviaciones estándar tan grandes que tiene cada rubro que está directamente relacionado con la objetividad de cada panelista, entre otros aspectos.

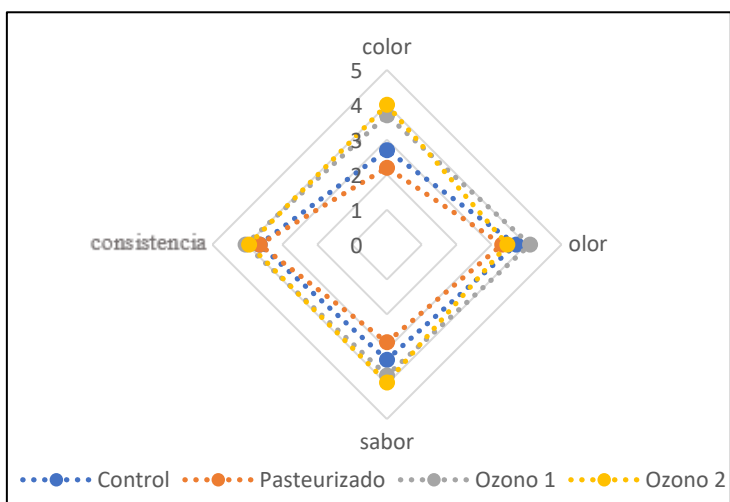


Figura 26.- Análisis sensorial aplicado al jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización y ozono.

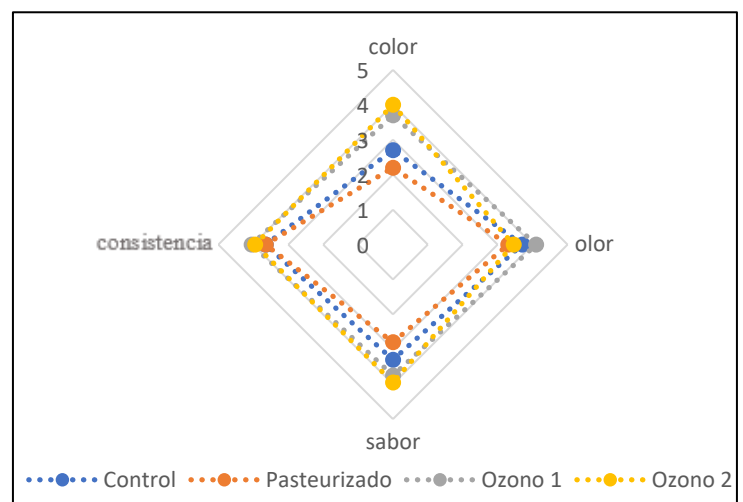


Figura 27.- Análisis sensorial aplicado al jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización e irradiación uvc.



Figura 28.- Análisis sensorial aplicado al jugo de piña con espinaca control, sometido a pasteurización y ultrasonido.

Con lo que respecta al color del jugo, la preferencia se inclinó hacia los jugos que fueron tratados con ozono e irradiación UVC teniendo una preferencia del 30% más incluso sobre el jugo control, esto se debe en el caso del ozono a la oxidación del hierro presente en la espinaca el cual aportó un color verde brillante al jugo y al aumento en los pigmentos naturales al aplicar UVC esto mencionado en el apartado 4.3.2.1 de este documento.

Por otra parte el olor y la textura del jugo, los panelistas calificaron con 3.5 puntos en promedio al jugo, por lo que se puede interpretar que fue de su agrado; sin embargo, no en su totalidad. Esto a pesar de que en los jugos sometidos a un tratamiento de ultrasonido se percibía con una textura un poco más fibrosa, esto se pudo deber a que la cavitación que se presenta cuando se aplica ultrasonido de baja frecuencia. Esto aunado a la fuerza de choque de las moléculas permitieron que en el jugo se precipitaran algunas sustancias, principalmente azúcares (Gomez-Diaz y Lopez-Malo, 2009).

En cuanto a sabor se refiere se puede observar que el jugo que menos agradó a los panelistas fue el pasteurizado, y los que más agradaron fueron los que se sometieron a irradiación UVC y ultrasonido, esto principalmente a que se percibía una sensación a piña cocida como lo

externaron en sus comentarios los panelistas en el jugo pasteurizado, a comparación de los otros dos que predominaba un sabor fresco, como al natural.

5.3.4. Efecto sobre parámetros microbiológicos.

Los distintos métodos de conservación de alimentos procuran incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, idealmente, aplicando técnicas que impidan alteraciones microbiológicas y mantengan la calidad del producto. La eficacia de estos métodos depende principalmente del cuidado de la higiene durante el proceso productivo, siendo su objetivo disminuir la carga microbiana y evitar su desarrollo (Fernández *et al.*, 2001).

Para poder evaluar la efectividad de los distintos métodos de conservación del jugo desde el punto de vista microbiológico se realizó un muestreo durante 3 días cada 24 horas, los resultados de este se muestran en la tabla 16, los parámetros que se evaluaron fueron coliformes totales, bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras.

Tabla 16- Resultados obtenidos de coliformes totales, bacterias mesofilos mohos y levaduras expresados en UFC/mL al aplicar distintos tratamientos en el jugo de piña con espinaca.

| <i>tiempo (h)</i> | | 0 | 24 | 48 | 72 |
|--------------------------------------|---------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| M.O | Tratamiento | UFC/mL | UFC/mL | UFC/mL | UFC/mL |
| Coliformes totales | Control | 3200 | 4000 | 5000 | * |
| | pasteurizado | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | ozono 1 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | ozono 2 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | UVC 1 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | UVC 2 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | sonicación 1 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | sonicación 2 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| Bacterias Mesófilas Aerobias. | Control | 3800 | 4200 | 5200 | * |
| | pasteurizado | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | ozono 1 | 3000 | 3800 | * | * |
| | ozono 2 | 3200 | 3700 | 3800 | * |
| | UVC 1 | 2300 | 2800 | 3900 | * |

| Bacterias Mesófilas Aerobias. | Tabla 16- Resultados obtenidos de coliformes totales, bacterias mesofilos mohos y levaduras expresados en UFC/mL al aplicar distintos tratamientos en el jugo de piña con espinaca (continuación) | | | | |
|--------------------------------------|---|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | Tratamiento | UFC/mL | UFC/mL | UFC/mL | UFC/mL |
| | UVC 2 | 1000 | 700 | * | * |
| | sonicación 1 | 900 | 1000 | 1200 | 1400 |
| sonicación 2 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | |
| Mohos y Levaduras. | control | 1000 | 1500 | 2200 | * |
| | pasteurizado | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |
| | ozono 1 | 1000 | 1600 | 1800 | * |
| | ozono 2 | 600 | 1200 | 1300 | 1200 |
| | UVC 1 | 1000 | 1200 | 1400 | 1800 |
| | UVC 2 | 800 | 1000 | 1200 | * |
| | sonicación 1 | 1300 | 15000 | 1800 | * |
| | sonicación 2 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 | ≤ 10 |

* Incontables

Se puede observar que las coliformes presentes en el jugo control (sin ningún tratamiento), se lograron eliminar por completo al aplicar cualquiera de los tratamientos propuestos para la conservación del jugo, en este parámetro no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en la carga microbiana al utilizar cualquier método de conservación.

En los últimos años algunos autores han estudiado el efecto de estas nuevas tecnologías sobre distintos microorganismos, en especial microorganismos patógenos, sin embargo, en un estudio realizado por Rojas- Higuera *et al.*, (2010), sobre el efecto de tres métodos para la inactivación de *E. coli*, y coliformes totales sobre aguas residuales, demuestra que al utilizar luz ultravioleta para su desinfección la carga microbiana inicial disminuye de entre un 70% y 90%.

Por otra parte, los métodos más efectivos para la eliminación de bacterias mesófilas aerobias en el jugo de piña con espinaca fueron la pasteurización y la aplicación de ultrasonido durante 25 minutos, los cuales eliminaron por completo la presencia de estos microorganismos desde las 0 horas, los demás tratamientos aplicados si tuvieron un efecto de disminución

aproximadamente del 30% sobre la carga inicial pero no lo suficiente para la comercialización del jugo, según con lo establecido en la NMX-F-117-1968.

La razón por la cual el ultrasonido es utilizado como método de inactivación microbiana se debe principalmente a su principio de acción, el efecto letal del ultrasonido sobre la carga microbiana se debe principalmente al alto potencial de cavitación que genera altas presiones y aumenta de forma gradual la temperatura, lo cual conlleva a la formación de radicales libres con alto poder oxidativo, los cuales actúan sobre los fosfolípidos localizados en la membrana celular de las bacterias, oxidándolos y produciendo su muerte. En este mismo trabajo se vió la disminución en un 50% sobre la cantidad inicial de mesófilos aerobios en una pulpa de mango después de someterla a un baño sónico de 25kHz, durante 60 minutos (Porrás *et al.*, 2011).

Por último, el efecto del ultrasonido de baja frecuencia durante 25 minutos en el jugo es igual que la pasteurización de este, en ambos la eliminación de mohos y levaduras es total desde las 0 hasta las 72 horas de su evaluación.

El efecto del ultrasonido sobre los mohos y levaduras nuevamente se debe a la cavitación que se forma durante el proceso, entre mayor sea la frecuencia del ultrasonido mayor es el efecto de eliminación de microorganismos en el jugo, esto está directamente relacionado al tiempo en el que la burbuja crece durante la cavitación y por consecuencia la afectación de la fase líquida (Kharisov, 1999),

El efecto de la aplicación de ultrasonido de 25 kHz durante una hora en una pulpa de mango eliminó el 60% de la población inicial de hongos y levaduras (Porrás *et al.*, 2011); con esto podemos confirmar que el ultrasonido es una opción viable para el tratamiento del jugo de piña con espinaca, en especial en la inhibición de los principales microorganismos que pudieran causar un deterioro durante la comercialización del jugo.

5.4. Composición química del jugo de piña con espinaca con el mejor tratamiento.

Los alimentos son sistemas complejos que contienen, entre otras cosas, sustancias nutritivas que cumplen con el papel de aportar elementos esenciales para que el cuerpo se mantenga saludable; además, los alimentos son un soporte energético para el organismo. Es importante considerar que, existen también una serie de características que convierten a los alimentos en algo apetecible, valor fundamental en la industria alimentaria, ya que en realidad no comemos únicamente para nutrirnos o para saciar nuestro apetito, sino por el puro placer de hacerlo, y en algunos casos, para suplir carencias psicológicas (López, 2012).

En función a los resultados que se obtuvieron en el objetivo anterior, se realizó parte de un análisis químico proximal al jugo que fue sometido al tratamiento con ultrasonido durante 25 minutos, para comparar el efecto de este tratamiento sobre las cenizas, proteína, azúcares totales y fibra soluble contenida en el jugo con un jugo pasteurizado y con el jugo natural.

5.4.1. Cenizas totales

Las cenizas en los alimentos están constituidas por el residuo inorgánico que queda después de que la materia orgánica se ha quemado. Las cenizas obtenidas no tienen necesariamente la misma composición que la materia mineral presente en el alimento original, ya que pueden existir pérdidas por volatilización o alguna interacción entre los constituyentes.

La reducción de las cenizas en el jugo de piña con espinaca (figura 29) después de ser sometido a un proceso de pasteurización fue del 57% y el que se sometió a un tratamiento de ultrasonido tuvo una pérdida del 18% en comparación con el jugo control, por lo cual se observa que si hubo diferencias significativas ($p \geq 0.05$) entre los tratamientos aplicados en la cantidad de cenizas presentes en el jugo.

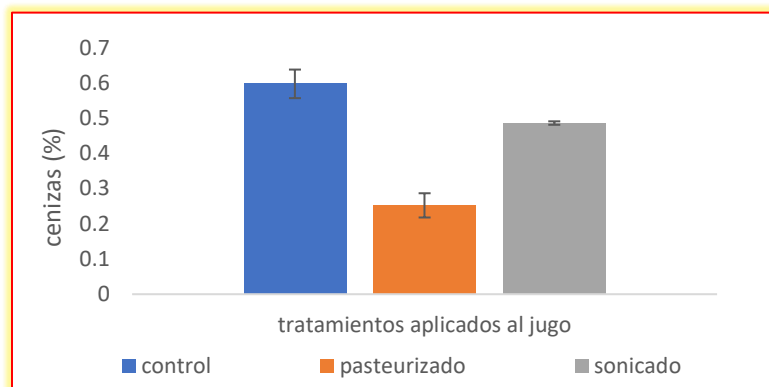


Figura 29.- Contenido de cenizas en los jugos control, sometido a pasteurización y ultrasonido.

Los minerales en los jugos por lo general no cambian por la pasteurización y permanecen presentes en altas concentraciones. Los jugos pasteurizados de manzana, naranja, uva, granada, tomate y zanahoria contienen cantidades sustanciales de los minerales potasio, fósforo y magnesio. sin embargo, esto puede variar en función a diversos factores como pH del medio, acidez y sobre todo por la naturaleza del producto (Baranda, 2012).

En este caso el jugo de piña con espinaca tiene un pH ácido y al aplicar el proceso de pasteurización pudo haber una degradación del hierro presente en el jugo, que por su naturaleza es uno de los minerales con mayor presencia, lo mismo pasa al aplicar un tratamiento de ultrasonido, el hierro presente en el jugo se comenzó a oxidar y esto se vio reflejado en un cambio de color del jugo y su pérdida de minerales ante estos tratamientos.

5.4.2. Azúcares reductores.

Los carbohidratos no son sólo una fuente importante de producción rápida de energía en las células, sino que también las estructuras fundamentales de las células y componentes de numerosas rutas metabólicas. En años recientes se ha hecho cada vez más evidente que los carbohidratos proporcionan a los seres vivos capacidades informativas enormes (FAO, 1999).

Como se puede ver en la figura 30 la aplicación de un tratamiento de conservación en el jugo de piña con espinaca como fue la pasteurización y el ultrasonido no representan diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el contenido de azúcares reductores del jugo, en todos los casos se mantuvo en 4.5 g/mL.

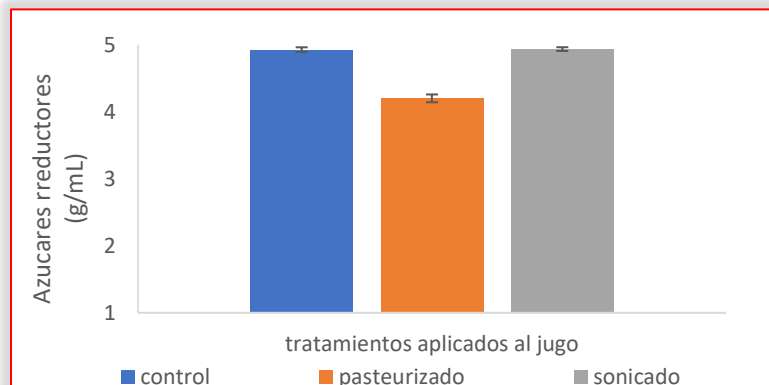


Figura 30.- Contenido de azúcares reductores en los jugos control, sometidos a pasteurización y ultrasonido.

Se sabe que las altas temperaturas aceleran considerablemente todos los cambios que sufren los monosacáridos en condiciones tanto ácidas como alcalinas, pero a pH neutro catalizan las reacciones de caramelización y de oscurecimiento no enzimático; además de estos efectos, el calentamiento de los azúcares también favorece algunos mecanismos que implican la polimerización y la epimerización de los monosacáridos (Badui, 2006).

En el caso específico del jugo de piña con espinaca, no hubo ningún factor que beneficiara la degradación de sus azúcares reductores, la temperatura de pasteurización no causó ningún efecto ya que el tiempo de exposición fue muy corto, en el caso del ultrasonido el efecto de cavitación generado y la temperatura que alcanzó (40°C) tampoco afectaron directamente los azúcares presentes en el jugo.

5.4.3. Fibra dietética.

La fibra dietética se reconoce hoy, como un elemento importante para la nutrición sana. No es una entidad homogénea y probablemente con los conocimientos actuales tal vez sería más adecuado hablar de fibras en plural se han considerado fibras dietéticas a los polisacáridos vegetales y la lignina, que son resistentes al hidrólisis por los enzimas digestivos del ser humano. A medida que han ido aumentando los conocimientos sobre la fibra tanto a nivel estructural como en sus efectos fisiológicos, se han dado otras definiciones que amplían el concepto de fibra (Escudero y González, 2006).

En la figura 31 se observa la cantidad de fibra (g/mL) en jugo control comparado con el jugo sometido a un proceso de pasteurización y el jugo sometido a ultrasonido de baja frecuencia, se puede ver que la aplicación del tratamiento térmico influyo en la disminución de un 25% el contenido de fibra en función al jugo control y al aplicar ultrasonido no hubo una disminución en el contenido de fibra, pese al porcentaje de disminución de fibra en el jugo pasteurizado estadísticamente no hubo diferencias significativas ($p \leq 0.05$) al aplicar cualquiera de los dos tratamientos al jugo.

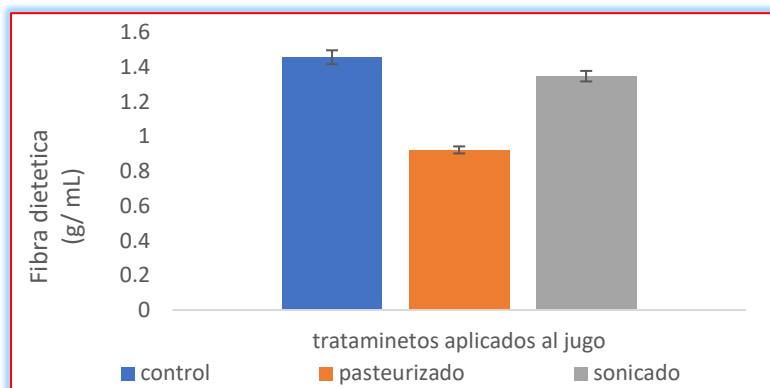


Figura 31.- Contenido de fibra dietética en los jugos control sometidos a pasteurización y ultrasonido.

Un estudio realizado para evaluar la pérdida de fibra dietética y sus propiedades funcionales de la pulpa de distintos cítricos al someterse a un proceso de secado presentó resultados

similares a los obtenidos, en función al aumento de la temperatura de secado el contenido de fibra dietética presente en la pulpa de los cítricos disminuyó considerablemente pero no al grado de representar una diferencia significativa entre los tratamientos realizados (Llanos *et al.*, 2010).

Este efecto pudo ser debido a que dentro de la fibra dietética se incluyen almidones, polisacáridos no celulósicos, celulosa, hemicelulosa, lignina, alginatos, pectinas entre otros, que pueden ser sensibles a las temperaturas elevadas y verse reflejado en el contenido final de fibra dietética en el producto (Bernal, 1998).

5.4.4. Proteína soluble.

Las proteínas son el constituyente principal de las células y son necesarias para el crecimiento, la reparación y la continua renovación de los tejidos corporales y esto determina su continua necesidad. Todos los tejidos vivos contienen proteínas. Son polímeros de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos. Una proteína puede contener varios cientos o miles de aminoácidos y la disposición o secuencia de estos aminoácidos determina la estructura y la función de las diferentes proteínas. Algunas son estructurales (como el colágeno del tejido conectivo o la queratina que se encuentra en pelo y uñas), otras son enzimas, hormonas, etc (Carbajal, 2013).

En la figura 32 se muestra la cantidad de proteína presente en el jugo control en comparación con el jugo pasteurizado y el jugo sonicado, para el caso del jugo que fue pasteurizado hubo una disminución del 60% en el contenido de proteína, por otra parte el jugo que fue sometido a un tratamiento de ultrasonido tuvo una pérdida de proteína del 50% en función al contenido del jugo control por lo cual se puede decir que si hubo diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en el contenido de proteína del jugo entre los distintos tratamientos aplicados.

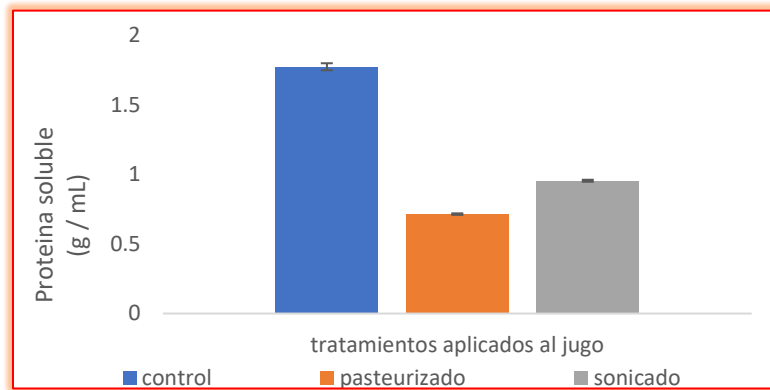


Figura 32.- Contenido de proteína en los jugos control, sometidos a pasteurización y ultrasonido.

La aplicación de calor ($>70^{\circ}\text{C}$) afecta la estabilidad de las interacciones no-covalentes de la estructura tridimensional de las proteínas, pues se eleva la entalpía de la molécula y se rompe el delicado balance de los enlaces que mantienen el equilibrio. Puesto que también se afectan las propiedades funcionales del alimento, para el caso del ultrasonido se menciona anteriormente que existe un efecto de cavitación en el jugo lo cual hace que se forme una interfase líquido-aire lo que hace que la proteína se desdoble y se adsorba (Badui, 2006).

Por lo tanto la disminución en la cantidad de proteína en el jugo para el caso del proceso de pasteurización ocurrió una desnaturalización por calor de las proteínas y en el caso de la aplicación de ultrasonido la desnaturalización fue a causa de fuerza mecánica, siendo la pasteurización un proceso más agresivo ya que fue un tiempo más corto y el contenido de proteína en comparación con el jugo sonificado fue menor.



Conclusiones y Recomendaciones

6. Conclusiones y Recomendaciones.

- ✚ En las pruebas sensoriales de preferencia realizadas para la selección de la formulación del jugo de piña con espinaca, el público prefirió un jugo con una mayor cantidad de piña, endulzado con azúcar y sin fibra añadida, las grandes desviaciones estándar nos hablan de los distintos puntos de vista de las personas y que en general el jugo fue de su agrado y lo consumirían pero sólo ocasionalmente.
- ✚ El jugo se comportó como un producto muy estable durante las pruebas de vida acelerada ya que no se obtuvieron cambios significativos en los parámetros fisicoquímico y microbiológicos que se evaluaron, sin embargo; en cuanto a la percepción sensorial el público detectó un ligero cambio en la textura del jugo lo cual permitió establecer que el tiempo de vida útil del jugo a temperatura de refrigeración fue de aproximadamente 2 años, lo mismo paso con el jugo que se mantuvo a temperatura ambiente.
- ✚ Para poder evaluar el efecto de la temperatura sobre la vida útil del jugo se recomienda someter al jugo a temperaturas mayores de los 25°C y observar la tendencia de los parámetros fisicoquímicos y sensoriales, ya que de igual manera se observó que el proceso de pasteurización fue efectivo para la eliminación de microorganismos que pudieran causar alguna alteración y disminuir la vida útil del jugo.
- ✚ Durante la evaluación de las diferentes técnicas alternativas a la pasteurización del jugo de piña con espinaca resultó ser la exposición a ultrasonido mediante un baño sónico durante 25 minutos la mejor alternativa, ya que eliminó por completo los microorganismos presentes en el jugo al igual que la pasteurización y conservó algunas propiedades nutricionales aún mejor que el de un jugo pasteurizado.

- ✚ Para poder evaluar el efecto a mediano y largo plazo de las tecnologías alternativas a la pasteurización del jugo sobre sus parámetros nutrimentales se recomienda correr una vida de anaquel de los jugos con estos tratamientos.

- ✚ En general ninguno de los métodos utilizados para la conservación del jugo conservan las cualidades sensoriales y parámetros nutrimentales del jugo tal cual si fuera un jugo recién exprimido.



Bibliografía

7. Bibliografía.

- Acevedo, B., Montiel M. y Avanza J. (2002). Efecto del tratamiento térmico en la capacidad antioxidante total de jugo de pomelo, naranja y mandarina. UNNE.
- Acurio L., Villacís J., Salazar D., Pérez L., Valencia A. (2015). Efecto de la temperatura y radiación ultravioleta de onda corta en el contenido de ácido L-ascórbico en zumo de naranja (*Citrus sinensis*). Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 23 (3): 75-87.
- Antonio-Gutiérrez, O. y López-Malo, P.(2012). Equipos para tratamientos de alimentos con irradiación UVC. Temas selectos de Ingeniería en Alimentos. 6(2): 149-159.
- Asozumos. (2014). Guía de aplicación del sistema APPCC en la industria de los zumos de frutas. Asociación Española de Zumos. Madrid, España, pp. 76.
- Ávila M. D. (2013). Malanga y espinaca de agua podrían mejorar dieta nutricional., Agro entorno, 11-12.
- Badui S. (2006). Química en alimentos. 4ta Edición. Pearson. Educación de México S.A de C.V. México, p. 57.
- Baranda A. (2012). Procesado de alimentos e impacto nutricional. Inter empresa. Industria alimentaria. Fecha de consulta: 10/02/2017. Sitio web: <http://www.interempresas.net/Alimentaria/Articulos/99930-Procesado-de-alimentos-e-impacto-nutricional.html>
- Bataller-Venta, Santa S., García-Pérez A. (2010). El ozono: una alternativa sustentable en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas. Revista CENIC. Ciencias Biológicas, 41(3): 155-164.

- Bedascarrasbure E., Maldonado I., Alvarez A., Rodriguez E. (2004). Contenido de Fenoles y Flavonoides del Propoleos Argentino. Acta Farm. Bonaerense. 23 (3): 369-372.
- Bedolla S., Dueñas G., Esquibel I., Favela T., Guerrero R., Mendoza M, Navarrete A., Olguin L., Ortiz J., Pacheco O., Quiroz M., Ramirez A., Trujillo M. (2004). Introduccion a la tecnología de alimentos. Mexico, Limusa “2ª Edición p. 55.
- Bernal I. (1998). Análisis de alimentos. 3ª Edición. Bogotá: Editora Guadalupe LTDA página 313.
- Burchard A. (2016). Desintoxica tu vida. Fecha de consulta: 17/06/2016. Sitio web: <http://www.desintoxicatuvida.com/jugo-verde-versus-batido-verde/>
- Calderon-Miranda L., Barbosa-Canovas G. V., Swanson B. G. (1999). Inactivation of Listeria innocua in skim milk by pulsed electric fields and nisin. Int. J. Food Microbiol. 51:19-30
- Carbajal A. (2013). Manual de nutrición y dietetica. Departamento de Nutrición. Facultad de Farmacia. Fecha de consulta: 09/02/2017 Sitio web: <https://www.ucm.es/nutricioncarbajal/>
- Cardero Y., Sarmiento R., y Selva A. (2009). Importancia del consumo de hierro y vitamina C para la prevención de anemia ferropénica. MEDISAN, 13 (6).
- Celis D. (2011). Crece 10% categoría de jugos. Coca-Cola líder. Excélsior, pagina 18.
- Centro de Estudios de las Finanzas Públicas (2002). La problemática actual de la producción de piña en México. Cámara de Diputados. H. Congreso de la Unión. Fecha de consulta: 12/05/16, Sitio web: <http://www.cefp.gob.mx/intr/edocumentos/pdf/cefp/cefp0042002.pdf>

- Charm, S.E. (2007). Food engineering applied to accommodate food regulations, quality and testing. *Alimentos Ciencia e Ingeniería*. 16 (1):5-8.
- Chavarrías M. (2013). El pH de los alimentos y la seguridad alimentaria. *Eroski Consumer*. Fecha de consulta: 16/10/2016. Sitio web: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2013/09/19/218017.php>
- Chilaka C., Uchechukwu N, Obidiegwu J., Akpor O. (2010). Evaluation of the efficiency of yeast isolates from palm wine in diverse fruit wine production.
- Clavijo, D., Portilla, M., Maghdiel, C., Quijano, A. (2012). Cinética de la bromelina obtenida a partir de la piña perolera (*Ananas Comosus*) de Lebrija-Santander. *Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*. 10(2): 41-49.
- Clayton K., Bush D., Keener K. (2015). Métodos para la conservación de alimentos. *Purdue Agriculture*, FS-15, 1-6.
- CODEX STAN 247-2005. Norma general del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas.
- Colegio de Bachilleres de Queretaro. (2010). Extracción, cuantificación, identificación y determinación de la actividad enzimática de la bromelina contenida en el tallo del cultivo de *Ananas comosus*, comúnmente conocido como piña. México.
- Coles R., McDowell D., Kirwan Marck. (2004). Manual de envasado de alimentos y bebidas. Madrid, España: Antonio Madrid Vicente Ediciones. P.56-59
- CONEDASUCA. (2011). Informe estadístico del sector agroindustrial de la caña de azúcar. Informe completo. SAGARPA.
- Conesa A., Manera J., Fernandez-Zapata C., Baños M., Andujar S., Porras I. (2006). El color en los zumos de naranja. Departamento de producción vegetal y microbiología. IMIDA: 1193-1196.

- Cruz A., (2004). Salud con jugos II. México: Selector.
- Cuello, C., (2015). Los beneficios del détox a base de jugos verdes. People en español. 32:18-21.
- Curia, A., Fiszman, S., Gámbaro A., Garitta, L., Gómez Melis, G., Hough, G. (2005). Estimación de la vida útil sensorial de los alimentos. Ed.G. Hough, & S. Fiszman, Madrid, España: Programa CYTED.
- Darío, Z. (2016), La vida en verde. Livefire. Fecha de consulta: 15/09/2016. Sitio web: <http://www.revistaohlala.com/1936054-la-vida-en-verde-en-el-ohlaladay>
- Díaz A., López, M., (2012). Privilegiada ubicación geográfica de México. Temas selectos de Ingeniería en alimentos. 79-93.
- Domínguez, L. (2015). Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. Alimentos Argentinos, 71-76.
- ENAC. Entidad Nacional de Acreditación (2003). Guía para la acreditación de laboratorios de análisis sensorial, pp.14.
- Eroski Consumer. (2015). Guía práctica de Verduras. Fecha de consulta: 24/08/16, de Fundación Eroski Sitio web: <http://verduras.consumer.es/espinacas/introduccion>
- Escudero E., González E. (2006). La fibra dietética. Nutrición Hospitalaria. 21(2): 61-72.
- FAO. (1999). Los carbohidratos en la nutrición humana. FAO/OMS. Fecha de consulta: 10/02/2017 sitio web: https://books.google.com.mx/books?id=FZ_ed5pkNdoC&pg=PA3&dq=definicion+de+carbohidrato&hl=es419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=definicion%20de%20carbohidrato&f=false

- Fernández, J., Molina G., Barbosa C., Barry G. (2001). Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos. *Arbor* CLXVIII. 661: 155-170.
- Fernández, R. (2012). Jugos naturales. *Buena Salud*. 48: 18-21.
- Foglioni V., Verde V., Randazzo G., Ritieni A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and It's application to monitoring the antioxidant capacity of eines. *Food Chemistry*. 47 (3): 1650-1656.
- Folin O. y Vintilia C. (1927). On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *The Journal of Biological chemistry*. 73 (2), 627-648.
- Franco-Vega, A. y López-Malo, P.(2012). Combinación de ultrasonido de baja frecuencia con factores convencionales y/o emergentes como métodos de inactivación de microorganismos en alimentos. *Temas selectos de Ingenieria en Alimentos*. 6(1): 73-83.
- Frazier W. (2003). *Microbiología de los alimentos*. Editorial Acribia S.A, 2ª Edición. p.p. 68 - 196.
- Frisón L., Vissani M., Ocampo H., Ponisio D., Basílico J. (2013). Efectos del agua ozonizada sobre microorganismos patógenos y alterantes de frutas y hortalizas. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4(1): 119-131.
- Gallardo P. (2015). Colores y sabores en los alimentos: comer con los sentidos. Fecha de consulta: 08/09/2016. El color comunica. Sitio web: <http://www.elcolorcomunica.com/2015/08/colores-y-sabores-en-los-alimentos.html>.
- García C., Molina E., (2008). Estimación de la vida útil de una mayonesa mediante pruebas de vida acelerada. *Ingeniería San José Costa Rica*. 18 (1,2): 57-64.
- García C., Chacón G. y Molina E., (2011). Evaluación de la vida útil de una pasta de tomate mediante pruebas de vida acelerada por temperatura. *Ingeniería San José Costa Rica*. 21 (2): 31-38

- García-Alonso, F.J. (2005). Evaluación *in vitro* e *in vivo* de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Murcia, España.
- Giraldo I. (1999). Métodos de estudio de vida de anaquel en los alimentos. Trabajo de Investigación para obtener la categoría de profesor asociado. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ciencias, pp. 96.
- Gómez -Dáaz J., Lopez- Malo A. (2009). Aplicación de ultrasonido en el tratamiento de alimentos. Temas selectos de ingeniería en alimentos. 3(1): 59-73.
- González-Aguilar G A., Ayala-Zavala, J., Rivera-López R., Zavaleta-Gatica M., Villegas-Ochoa W., Tejedor-Espinoza. (2005). Reducción de deterioro en frutos de mango, durazno y nectarina utilizando irradiación ultravioleta. Ciencia de la Frontera. 3:49- 57.
- Grupo Cooperativo Cajamar (2014). Parámetros de calidad interna de hortalizas y frutas en la industria agroalimentaria. Negocio Agroalimentario y Cooperativo. 005: 2
- Gutiérrez, A., A. López, M., & Ramírez, C., (2015). Métodos para la determinación de la dosis de irradiación ultravioleta de onda corta (UVC) en alimentos. Temas Selectos de Ingeniería en alimentos, 30-40.
- Hernández J.J. (2006). Diseño y desarrollo de productos alimenticios. Fecha de consulta: 01/09/2016 .Unidad Politécnica para el Desarrollo y la Competitividad Empresarial sitio web: <file:///C:/Users/Jobany/Downloads/DISENO%20Y%20DESAROLLO%20DE%20PRODUCTOS%20ALIMENTICIOS.pdf>
- Hernandez, J. (2009). Pruebas de vida acelerada en confiabilidad. Temas de ciencia y tecnología. 13 (38): 33-37.

- Industria Alimenticia. (2013). Informe anual de bebidas. Las Vegas.: BNP media.
- Inungaray M., & Munguía A. (2013). Vida útil de los alimentos. Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Vol. 2: 207-232.
- Jeffrey S. y Sumphrey G. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemistry Physiol. Pflanz.* 167: , 191-194.
- Joseph. M.(2013). *Journal of Food Science.* 4(12), 764 - 774
- Kent L. T., (2014). ¿Cuáles son los beneficios de beber jugo verde? *Better Nutrition magazine*, 20-23.
- Kharisov, B. (1999). Uso del Ultrasonido en procesos químicos. *Revista de Ingenierías UANL.* 2(5): 14-21.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V. & Lee, D. (2004). Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology.* 15(5): 261-266.
- Kreyszig E. (2003). *Matemáticas avanzadas para ingeniería*, Mexico. Editorial Limusa. 3^a. 2
- Krodish J., (1993). *El poder de los zumos*. Barcelona. Emecé Editoriales
- Labuza, T. (1986). *Shelf life dating of foods*. Westport, Connecticut: Food & Nutrition Press.
- Labuza, T.P., Riboh, D. (1982). Theory and applications of Arrhenius kinetics to the prediction of nutrient losses in foods. *Food Technology.* 36, 66–74.
- La Torre, L., Pantoja, L., Mejía-España, D., Osodio, O., Hurtado, M. (2013). Evaluación de tratamientos térmicos para inactivación de enzimas en jugo de fique

- (*Furcraea gigantea Vent*). Biotecnología en el sector agropecuario y agroindustrial. 113-122.
- Lili A. (2009). PIÑA. Sabrosa, nutritiva y saludable. *American Health and Fitness*, 61-63.
 - Llanos G., Yáñez M., Llanos C., Gómez Z., Acosta L. (2010). Effect of the drying temperature on the functional properties of the dietary fiber contained in citropulp. *Revista Lasallista de Investigación*.7(2): 85-93.
 - López B. (2016). La piña – Artículo informativo. Fecha de consulta: 24/08/2016, de Casa Pía Sitio web: <http://dietetica.casapia.com/articulos-aportados-por-colaboradores-de-esta-web/la-pina-articulo-informativo.html>
 - López M. (2012). Composición química de los alimentos. Red tercer milenio. México, pp. 245.
 - López, Sarmiento, R. (2010). Análisis de la cadena productiva de la piña en la región de Papaloapan, Veracruz (Tesis de licenciatura.). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
 - López-Días A.S, Palou E y López-Malo E. (2004). Luz ultravioleta aplicada a la conservación de alimentos. *Tecnologías emergentes en alimentos*, 405-421.
 - López-Días A.S., Palou E., López-Malo E. (2012). Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos*. 6(2): 79-93.
 - Lossada F. (2012). El color y sus armonías. Colección de textos universitarios. Editado en República Bolivariana de Venezuela, p. 12.
 - Lupano E. (2013). Modificación de los componentes de alimentos. Cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento. Editorial de la Universidad de la Plata. Buenos Aires, Argentina, pp. 217.

- Man, D. (2004). Caducidad de los alimentos . Zaragoza, España . Acriba S.A. p. 150.
- Manrique, E. (2003). Los pigmentos fotosintéticos, algo más que la captación de luz. Ecosistemas. Fecha de consulta 15/08/2016. Sitio web: <http://www.aeet.org/ecosistemas/031/informe4.htm>
- Martínez, J. (2014). Alimentación saludable, la gran tendencia de consumo actual. 7 claves orientativas. Fecha de consulta: 15/06/2016, de Ainia Sitio web: <http://tecnoalimentalia.ainia.es/web/tecnoalimentalia/consumidor-y-nuevos-productos/-/articulos/rT64/content/alimentacion-saludable-la-gran-tendencia-de-consumo-actual-7-claves-orientativas>
- Mazzei, M. (2014). El jugo verde, la bebida saludable que se impone esta temporada. La Nación, 9-11.
- Meléndez-Martínez, Vicario I., Heredia F. (2007). pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas. Archivos Latinoamericanos de nutrición. 57 (2).
- Mendoza M. (2016). Jugos y batidos naturales para la salud. Fecha de consulta: 20/08/16, de Natursíma Sitio web: <http://www.naturisima.org/jugos-y-batidos-naturales-para-la-salud/>
- Mercola J. (2014). Jugos: ¿Qué Tan Saludables Son?. Fecha de consulta: 12/06/2016, de Mercola Sitio web: <http://articulos.mercola.com/sitios/articulos/archivo/2014/07/05/beneficios-de-los-jugos.aspx>
- Merluzzi A. (2014). Cognition Colored by Emotion Association for Psychological Science. Journal Psychological Science.27 (2): 58-61.

- MetAs & Metrólogos Asociados. 2009. Medición de color. Fecha de consulta: 15/08/2016. Sitio web: <http://www.metas.com.mx/guiametas/la-guia-metas-09-07-medicion-de-color.pdf>
- Mintel International. (2010). Estadísticas del mercado de bebidas saludables. Énfasis. 2: 1-7
- Nelson, W. (1990). Accelerated testing. Statistical models, test plans and data analyses. New York: Wiley.
- NMX-F-066-S-1978. Determinación de cenizas en alimentos.
- NMX-F-090-S-1979. Determinación de fibra cruda en alimentos.
- NMX-F-117-S- 1968. Alimentos. Calidad para jugo de piña.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos.
- NMX-F-103-S-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados Brix.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-111-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- NOM-113-SSA1-1995, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- NOM-173-SCFI-2009, Jugos de frutas preenvasados-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.

- Oliva H., Rodriguez M., Gutierrez C., Frometa C. (2012). Estudio Mercadotécnico en relación con la Vitamina C obtenida de fuentes naturales. Instituto de Investigaciones de Cítricos y Frutales. MINAGRI. CITMA. Provincia La Habana. 115 – 127.
- OMS. (2016). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Fecha de consulta: 07/07/2016, de Organización Mundial de la Salud Sitio web: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/index1.html>
- Orrego E. (2003). Procesamiento de alimentos. Universidad Nacional de Colombia, p. 320.
- Parzanese, M. (2009). Tecnologías para la Industria Alimentaria: Ozono en alimentos . Alimentos Argentinos,4: 1-14.
- Patil, S., Valdramidis, V., Frias, M. J., Cullen, P. y Bourke, P. (2006). Ozone inactivation of acid stressed *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in orange juice using a bubble column. Food Control, 21 (13): 1723-1730.
- Pelayo M. (2009). Vida útil de un alimentos. Eroski Consumer. Fecha de consulta: 15/07/2016 Sitio web: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2010/08/26/195339.php>
- Pelayo V. (2006). Pasteurización. Fecha de consulta: 09/07/2016, de Atom Sitio web: <http://pasteurizacionyesterilizacion.blogspot.mx/2010/04/pasteurizacion-la-pasteurizacion-es-un.html>.
- Pineda D., Salucci M., Lázaro R., Maiani G. y Ferro-Luzzi A. (1999). Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Revista Cubana Aliment Nutri, 13(2), 104-111.
- Piyasena P., Mohareb E. y McKellar R. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound. International Journal of Food Microbiology, 87: 207-216.

- Porras O; González G; Castellanos A; Ballesteros J; Pacheco M. (2011). Efecto de la aplicación de ondas de ultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas, reológicas y microbiológicas de pulpa de mango (*Mangifera Indica L.*) variedad común. Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología Alimentaria, 20(23): 53-78.
- Porras-Loaiza P., Lopez-Malo A, (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas selectos de Ingeniería en Alimentos, 3(1): 121-134.
- Quintero, J.P, Bohórquez, J., Valenzuela, C., Solanilla, F., (2013). Avances en la aplicación de luz ultravioleta de onda corta (UVc) en frutas y vegetales enteros y mínimamente procesados. Revista Tumbaga, 1: 29-60.
- Raichel, D. (2000). En The science and application of acoustics New York: Robert T. Bayer, p.418.
- Ramírez C. (2002). Oxidación de fenoles con peróxido de hidrogeno y ozono. XXVIII Congreso de ingeniería sanitaria y ambiental. Cancún México.
- Ramírez J.S. (2012). Análisis sensorial: pruebas orientadas al consumidor. Revista ReCiTeIA, 12 (1): 82-102
- Reardon. J. (2013). ¿Por qué la clorofila es saludable?. Food and Drug Protection Division. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services, p. 351.
- Restrepo A.F., Montoya C.A., (2010). Implementación y diseño de procedimiento para determinación de vida útil de quesos frescos, chorizos frescos y aguas en bolsa. Tesis para obtener el grado de Tecnólogo Químico en Universidad tecnológica de Pereira.
- Roberts, D & Greenwood, M. (2003). Pracytical Food Microbiology. 3rd ed. U.K.
- Rojas-Higuera N , Sánchez-Garibello A , Matiz A , Salcedo J, Carrascal A, Pedroza A. (2010). Evaluación de tres métodos para la inactivación de coliformes y

- Escherichia coli* presentes en agua residual doméstica, empleada para riego. SCIENTIARUM, 15(2): 139-149.
- Ruiz - Lopez G, Qüesta A, Rodirguez S. (2010). Efecto de luz UVC sobre las - propiedades antioxidantes y calidad sensorial de repollo mínimamente procesado. Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, 11(1): 101-108.
 - Sánchez, G. (2014). Preservación de jugo de durazno mediante la aplicación de ozono. Efecto sobre la calidad y la actividad enzimática (Tesis de maestría). Buenos Aires Argentina.
 - Santos A., Aguirre-Álvarez G., Hernández-Fuentes D., Figueira C., Campos-Montiel. R. (2011). Efecto del ultrasonido en los compuestos fenolicos y actividad antioxidante por abts aplicado en diferentes mieles. Revistas y Boletines Cientificos de la Univercidad Autonoma del Estado de Hidalgo, (1): 60-66.
 - Schauff P. y Villarreal A M. . (2009). Nutri Pro. Boletin de Nutrición Nestle Profesional.. México,México: Nestle Profesional.
 - Selva E., (2011). Tono, saturación y luminosidad. NATURPIXEL. Fecha de consulta: 31/01/2017. Sitio web: <http://naturapixel.com/2011/08/17/tono-saturacion-y-luminosidad/>.
 - Seminario L.A., Acuña F. J., Williams S., (2005). El ozono y su aplicación en la conservación de alimentos. Departamento de Ingeniería Agroalimentaria, 1:3-7
 - SIAP. (2014). La produccion de piña en México. Fecha de consulta: 08/04/2016, de Secretaria de Agricultura, Ganaderia, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentacio Sitio web: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>
 - Tinoco G. (2015). Nuevas tecnologías en la conservación de alimentos. Fecha de consulta: 14/10/16. BM editores. Sitio web: <http://bmeditores.mx/nuevas-tecnologias-conservacion-alimentos/>

- Tzortzakis N., Singleton I., Barnes J. (2007) Deployment of low-level ozone-enrichment for the preservation of chilled fresh produce *Postharvest Biology and Technology*, 43: 261-270
- Umaña E. (2006), *Conservación de alimentos por frío. Fiagro y fusades proinnova*, p. 277.
- Vega, A. F., E., P. y., & López, M. (2012). Combinación de ultrasonido de baja frecuencia con factores convencionales y/o emergentes como método de inactivación de microorganismos en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería en Alimentos.*, 78-83.
- Villalobos-R., S., Castellanos-R., J.Z., Tijerina- Chávez, L., Crespo-Pichardo, G. (2002). Efecto de la radiación solar sobre las plantas. *Terra Latinoamericana*, 23 (1): 329-333.
- Villegas-Ruiz X., Ruiz-Espinoza H y Barcenas-Pozos E. (2010). Tecnologías de enmascaramiento del sabor amargo en los alimentos. *Temas selectos de ingeniería en alimentos*, 4(1): 27-36.
- Zamora E. (2007). *Evaluación Objetiva de la Calidad Sensorial de Alimentos procesados*. Ciudad de La Habana: Editorial Universitaria, p. 270
- Zapata K, Rojano B. y Cortes F. (2015). Efecto Térmico del Secado por Aspersión sobre los Metabolitos Antioxidantes de la Curuba Larga (*Passiflora mollissima* baley). *Informacion tecnología*, 26(1): 77-84.