



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Nanopartículas funcionalizadas con
Eysenhardtia polystachya: Una alternativa
para la conservación de jugo de piña
pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

DANIEL CEBALLOS SOTO

ASESORES:

**M. EN C. RICARDO MOISÉS GONZÁLEZ REZA
DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA**

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 2019



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR 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 Tesis**

Nanopartículas funcionalizadas con *Eysenhardtia polystachya*: Una alternativa para la conservación de jugo de piña pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido.

Que presenta el pasante: **Daniel Ceballos Soto**

Con número de cuenta: **311028111** 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 24 de mayo de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.A. Alfredo Álvarez Cárdenas	
VOCAL	Dra. Carolina Moreno Ramos	
SECRETARIO	M. en C. Ricardo Moisés González Reza	
1er. SUPLENTE	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
2do. SUPLENTE	M.N.H. Juana Gutiérrez Bautista	

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

LMCF/cga*

El presente proyecto fue financiado por:

- El proyecto PAPIIT IT201617, “Efecto de recubrimientos nanoparticulados y tratamiento con luz UV-C sobre la actividad antioxidante, enzimática e integridad de frutas y hortalizas cortadas” de la Dirección General de Asuntos de Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA-UNAM), por el financiamiento para la realización de este trabajo
- El Programa Interno de Apoyo a Proyectos de Investigación (PIAPI 1801) de la UNAM: “Evaluación y diseño de sistemas nanoparticulados para la conservación refrigerada y/o congelada de productos de origen vegetal”, por el apoyo en la adquisición de reactivos para el desarrollo de este trabajo.

Lugar de Realización de la Tesis:

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

DEDICATORIAS

A mi madre Paty, por su apoyo a lo largo de toda mi vida, por su esfuerzo y sacrificios para que a mi hermano y a mí no nos falte nada, por darme la mejor educación, inculcarme valores y enseñarme que las cosas se pueden lograr si te esfuerzas, por todos los consejos que me ha dado, por no dejar que me dé por vencido ante las situaciones difíciles, por todos los momentos de risa que hemos pasado, por dar lo mejor de ella para que yo estuviera bien, gracias porque sin ti no sería la persona que hoy soy y no estaría en donde estoy, simplemente gracias por ser mi madre y este logro en mi vida también es tuyo.

A mi padre Héctor que mientras estuvo conmigo siempre se preocupó porque estuviera bien y que no faltara nada, por tenerme paciencia mientras me explicaba cosas que no entendía, siempre estarás presente en mí y agradezco todo lo que hiciste por mí, mi hermano y mi mamá.

A mi hermano Paco, que a pesar de nuestras discusiones siempre hemos estado juntos apoyándonos, por madrugar solo para que no me fuera solo y por preocuparte por la hora en que me dormía, por ayudarme cuando te lo pido aunque terminemos discutiendo y por todos los momentos que hemos vivido juntos.

A mis amigos, Brenda; que siempre has estado conmigo en los mejores y peores momentos de mi vida, por todas esas anécdotas que tenemos y porque a pesar de que la situación no lo amerite siempre nos reímos y tratamos de encontrar la mejor forma de ver las cosas. Enrique; por acompañarme durante la carrera y apoyarme cuando las cosas se complicaban, por las historias que recordamos riéndonos. Abrahan; que a pesar de que a veces me desesperas o yo te hago enojar agradezco que estés aquí brindándome tu amistad.

A mis tíos Juana, Rebe, Chela, Jorge Lorenzo, Lalo, Chenco, Jorge y a mis primos Paty, Jorge, Edgar, Jonathan y Toño por el apoyo que le han brindado a mi familia en los momentos difíciles y en los momentos más gratos, pero sobre todo gracias por preocuparse por mi mamá.

A mis asesores M. en C. Ricardo Moisés González Reza y Dra. María De La Luz Zambrano Zaragoza, gracias por brindarme la oportunidad de trabajar con ustedes, por compartirme sus conocimientos, por confiar en mí y por la paciencia que me tuvieron.

A mis sinodales I.A. Alfredo Álvarez Cárdenas, Dra. Carolina Moreno Ramos, I.A. Miriam Alvarez Velasco y M.N.H Juana Gutiérrez Bautista, gracias por el tiempo dedicado a la revisión de mi trabajo de tesis, por todos sus buenos consejos y por el conocimiento transmitido.

A mi adorada Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de haber estudiado en dos de sus instituciones, el Colegio de Ciencias y Humanidades plantel Naucalpan y la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, en donde, además de obtener conocimientos y valores, obtuve grandes amistades e historias que me llenan de satisfacción. Gracias por brindarme la oportunidad de conocer a personas que admiro por su trayectoria y valores. Formar parte de la máxima casa de estudios de México es lo mejor que me pudo haber pasado, por todo esto puedo decir, con gran orgullo y alegría, que soy y seré sangre azul y piel dorada.

“Por mi raza hablara el espíritu.”

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
RESUMEN	I
INTRODUCCION	II
1	1
2 CAPITULO I. MARCO TEORICO	1
1.1 Piña	1
1.1.1 Variedades	1
1.1.2 Producción de piña en México	4
1.1.3 Composición y propiedades	5
1.1.4 Jugo de piña	7
1.2 Capacidad antioxidante	8
1.3 <i>Eysenhardtia Polystachya</i> (EP)	9
1.4 Alimentos funcionales	13
1.4.1 Bebidas funcionales	14
1.5 Conservación de alimentos	14
1.6 Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos	15
1.6.1 Nanotecnología	15
1.7 Luz UV-C	17
1.8 Ultrasonido	19
2 CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	22
2.1 Objetivos	22
2.2 Objetivo general	22
2.3 Objetivos particulares	22
2.4 Justificación	23
2.5 Materiales	23
2.6 Métodos	24

2.6.1	Material biológico	24
a)	Extracción de los flavonoides de EP	24
b)	Preparación de las nanoesferas	24
c)	Dispersión dinámica de la luz y movimiento electroforético	25
2.7	Diagrama de proceso para la pasteurización de jugo de piña	26
2.8	Proceso de extracción del jugo de piña	27
2.9	Pasteurización en frío por luz UV-C	27
2.10	Pasteurización en frío por ultrasonido	28
2.11	Tratamientos combinados (UV-C y Ultrasonido)	28
2.12	Análisis de las muestras en almacenamiento refrigerado	28
2.12.1	pH	29
2.12.2	Sólidos solubles	29
2.12.3	Ácido ascórbico	30
2.12.4	Carotenoides totales	30
2.12.5	Capacidad antioxidante	31
2.12.6	ABTS	31
2.12.7	DPPH	32
2.12.8	FRAP	32
2.13	Análisis estadístico	33
3	CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1	Caracterización de los sistemas nanoestructurados	34
3.2	Análisis de los jugos en almacenamiento refrigerado	35
3.2.1	pH	35
3.2.2	Sólidos solubles	37
3.2.3	Ácido ascórbico	39
3.2.4	Carotenoides totales	41
3.2.5	Capacidad antioxidante	42

3.2.6	ABTS	42
3.2.7	DPPH	44
3.2.8	FRAP	46
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Piña variedad azucarón (Cerrato, 2013).	2
Figura 2.	Piña variedad Cayena Lisa (Cerrato, 2013).	2
Figura 3.	Piña variedad champaka F-153 (Cerrato, 2013).	3
Figura 4.	Piña variedad MD2 (73-114) (Cerrato, 2013).	4
Figura 5.	Planta de palo azul.	9
Figura 6.	Estructura de los constituyentes fenólicos encontrados en el extracto de <i>E. polystachya</i> (Mexicano, 2002).	10
Figura 7.	Compuestos aislados de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Pérez-Gutiérrez et al., 2016).	11
Figura 8.	Compuestos aislados de <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Pérez-Gutiérrez et al., 2016).	12
Figura 9.	Instalación típica de un equipo de radiación UV con lámpara sumergida (Domínguez & Parzanese, 2009).	18
Figura 10.	Cambios en el pH de los diferentes tratamientos del jugo de piña.	34
Figura 11.	Cambios en el contenido de sólidos solubles en los diferentes tratamientos del jugo de piña.	36
Figura 12.	Cambios en la concentración de ácido ascórbico de los jugos de piña durante su almacenamiento refrigerado.	38
Figura 13.	Cambios en la concentración de carotenoides de los jugos de piña durante su almacenamiento refrigerado.	39
Figura 14.	Capacidad antioxidante (ABTS) en los tratamientos aplicados a jugo de piña en almacenamiento refrigerado.	41
Figura 15.	Capacidad antioxidante (DPPH) en los tratamientos aplicados a jugo de piña en almacenamiento refrigerado.	43
Figura 16.	. Capacidad antioxidante (FRAP) en los tratamientos aplicados a jugo de piña en almacenamiento refrigerado.	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química por 100g de piña (Macrae et al., 1993).	6
Tabla 2. Ensayos utilizados durante la parte experimental del proyecto.	29
Tabla 3. Nomenclatura de los tratamientos utilizados.	33
Tabla 4. Características de las nanoesferas de quitosán- <i>Eysenhardtia polystachya</i>	34

RESUMEN

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 propiedades presentes en el jugo se ven afectadas y en algunos casos se llegan a perder por completo. Por lo cual, el objetivo de este trabajo fue Evaluar el efecto de la aplicación de nanopartículas con extracto de *Eysenhardtia polystachya*, luz ultravioleta y ultrasonido en conjunto y por separado sobre las propiedades fisicoquímicas y actividad antioxidante en jugo de piña de la variedad MD2 almacenado en refrigeración a 4 °C. Para determinar el efecto del tratamiento se midió pH, sólidos solubles y actividad antioxidante por ABTS, FRAP y DPPH. Los tratamientos aplicados fueron control, nanopartículas con extracto de *Eysenhardtia polystachya*, nanopartículas con extracto más luz UV-C, nanopartículas con extracto más ultrasonido y nanopartículas con extracto más luz UV-C más ultrasonido. Las muestras se tomaron para todos los tratamientos a la semana uno de la aplicación de estos, posteriormente a la semana 2, 3, 4, 6 y 8 descartando los jugos con los tratamientos que presentaron descomposición. Mediante el análisis de la capacidad antioxidante y propiedades fisicoquímicas se demostró que los tratamientos aplicados alargan la vida útil del jugo de piña al menos en un 200 % como es el caso del tratamiento aplicado con solo nanopartículas con extracto de *Eysenhardtia polystachya*.

INTRODUCCION

La piña ha mostrado un incremento en el mercado de las frutas debido a la demanda de consumo por alimentos saludables, es por ello por lo que la piña es la fruta tropical de mayor demanda en el mundo por su agradable sabor y alto contenido de fibra, pero, sobre todo porque es una fuente importante de vitaminas C, B1, B6, ácido fólico y minerales como el potasio. Principalmente se le conoce por ser una fruta diurética que contribuye a la eliminación de toxinas por medio de la orina y que previene el estreñimiento porque contiene gran cantidad de fibra (Cerrato, 2013).

La comercialización de la piña y sus derivados se realiza de diferentes formas. Tradicionalmente la más común es el comercio de piña fresca, aunque con el desarrollo de los mercados y el cambio en las preferencias de los consumidores, el producto se ha ido industrializando y hoy en día se encuentra disponible de diferentes formas. Los productos más importantes en el comercio mundial son sin duda la piña fresca, la piña enlatada y el jugo de piña (Cerrato, 2013). México ocupa el séptimo lugar en producción de piña en el mundo con alrededor de 650 000 t de fruta fresca cosechadas anualmente en 12 500 ha, con un rendimiento de 52 t/ha (Rebolledo Martínez et al., 2006).

Domínguez & Parzanese (2011) mencionan que en general los alimentos son perecederos, por lo que necesitan ciertas condiciones de tratamiento, manipulación y conservación. Si los alimentos no son tratados adecuadamente, se producen cambios en la textura, color, olor, y sabor. Mientras que Koutchma (2008) menciona que en caso particular de los jugos de frutas, el oxígeno tiene un efecto negativo sobre algunas vitaminas, colores y sabores; además contribuye al crecimiento de microorganismos entre estos se encuentran principalmente bacterias lácticas, mohos y levaduras (López-Díaz, Palou, & López-Malo, 2012).

La radiación UV se utiliza en diferentes sectores de la industria de alimentos, debido al efecto nocivo que causa sobre el ADN de muchos microorganismos. Asimismo es elegida por tratarse de un proceso que no altera las propiedades organolépticas de los productos y reduce el uso de sustancias químicas (Domínguez & Parzanese, 2009). El efecto conservador del ultrasonido está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido. Sin embargo, la energía liberada, así como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el microentorno (Ochoa, 2012).

CAPITULO I. MARCO TEORICO

1.1 Piña

Ananas comosus (L.) Merr. var. *comosus*, conocida comúnmente como ananá o piña; es una planta herbácea liliopsida perenne tropical, de la familia de las Bromeliaceas. El cultivo comercial de la piña se realiza con gran eficiencia en los países de climas tropicales y subtropicales, debido a su condición de no tolerancia a las heladas. El clima afecta la productividad y la calidad de la fruta de piña, por ello el desarrollo óptimo del cultivo, se presenta en aquellas zonas con temperaturas medias entre 18 y 45 °C, siendo el óptimo entre 21-27 °C (Ebel, Giménez, González, & Luaces, 2016).

1.1.1 Variedades

La piña es una planta monocotiledóna, herbácea y perene perteneciente a la familia Bromeliaceae compuesta de 46 géneros y 2 000 especies aproximadamente (Cerrato, 2013). Azucaron: es una planta muy rustica resistente a la sequía con fruto en forma cónica y peso entre 0.5-2 kg, con pulpa de color amarillo intenso y muy jugosa. Su fruto se destina exclusivamente al consumo local como fruta fresca.



Figura 1. Piña variedad azucarón (Cerrato, 2013).

Cayena Lisa: También conocida como Hawaiana, es apta para procesamiento y consumo fresco, es una de las principales variables de exportación. La fruta es cilíndrica, grande con un peso aproximado de 2-3.5 kg, con ojos pequeños, pulpa amarilla, con poca fibra, muy jugosa y de excelente sabor.



Figura 2. Piña variedad Cayena Lisa (Cerrato, 2013).

Champaka F-153: Surgió por selección de la Ceyena Lisa en la india y evaluada en Hawái. Es una fruta de buen sabor, jugosa y de pulpa color amarillo pálido. Los frutos son grandes con un peso aproximado de 1-2.5 kg libras.



Figura 3. Piña variedad Champaka F-153 (Cerrato, 2013).

MD2 (73-114): También conocida como Amarilla o Dorada, es un cultivar híbrido derivado de la Cayena Lisa originaria de Hawái. La planta es de rápido crecimiento que resulta en un ciclo de producción más corto; la fruta es muy dulce y jugosa, y es de color verde amarillento, la pulpa es firme con una coloración amarillo intenso, muy aromática y tiene alto contenido de azúcares, sus flores son amarillas y el peso de la fruta alcanza hasta 3 kg (Cerrato, 2013).



Figura 4. Piña variedad MD2 (73-114) (Cerrato, 2013).

1.1.2 Producción de piña en México

México ocupa el séptimo lugar en producción de piña en el mundo con alrededor de 650 000t de fruta fresca cosechadas anualmente en 12 500 ha, con un rendimiento de 52 t/ ha (Rodríguez et al., 2016). El cultivar más utilizado es “Cayena lisa” en 80% de la plantación, además, se está introduciendo el cultivar “Champaka” y el híbrido MD-2 (conocido como “Oro”), que han dado buenos resultados en los agroecosistemas piñeros del país (Rebolledo Martínez et al., 2006). El proceso de comercialización de piña en México tiene básicamente tres mercados, en función del tamaño de la fruta:

- a) El mercado fresco de exportación, que requiere fruta de 1.3 a 2.2 kg.
- b) El mercado para la industria, que exige tamaños de 2.0 a 2.2 kg.
- c) El mercado fresco nacional, que demanda frutas de 2.5 kg en adelante (Rebolledo Martínez et al., 2006).

Esta fruta se puede consumir fresca o en conserva y existe toda una agroindustria alrededor de ella, elaborando diversos subproductos como jugos, néctares, jaleas, licores, mermeladas, dulces, piña en almíbar, etc. (Cerrato, 2013).

Uno de los productos más consumidos y exportados en México es la piña en almíbar y el jugo de piña destinando 25 408 t de la producción de piña a estos productos (Rebolledo Martínez et al., 2006).

1.1.3 Composición y propiedades

La piña es rica en carotenos y azúcares. El contenido de azúcares permanecen constante después de la cosecha, la acidez y el contenido de carotenos se incrementan moderadamente y la concentración de esteroides y el color aumentan considerablemente. El sabor depende principalmente del contenido de azúcares totales, el cual se puede alterar por la temperatura y la intensidad de la luz durante el crecimiento del fruto, así como también por la estación, el clima, el grado de madurez en la cosecha y las sustancias empleadas para su crecimiento como hormonas y pesticidas (Macrae, Robinson & Sadler, 1993).

Las frutas y vegetales contienen niveles significativos de componentes biológicamente activos que son benéficos para la salud, siendo una fuente importante de antioxidantes que incrementan la capacidad oxidativa en el plasma (Ramírez & Pacheco de Delahaye, 2011). Aunque se ha encontrado una alta correlación positiva entre la cantidad de vitamina C y la actividad antioxidante de las frutas, se ha demostrado que esta actividad antioxidante no solo es atribuible a esta vitamina, sino a otros fotoquímicos como fenoles, tioles, carotenoides, o tocoferoles presentes en las frutas (Ramírez & Pacheco de Delahaye, 2011). En la Tabla 1, se muestra la composición química de la piña con relación a 100 g.

Tabla 1. Composición química por 100g de piña (Macrae, Robinson & Sadler, 1993).

Componente	Contenido
Agua (g)	86
Proteína (g)	1
Lípidos (g)	0.1
Carbohidratos (g)	8
Fibra dietética (g)	2
Sodio (mg)	2
Potasio (mg)	180
Calcio (mg)	27
Magnesio (mg)	11
Hierro (mg)	0.3
Zinc (mg)	0.2
β -caroteno (μ g)	25
Tiamina (μ g)	40
Riboflavina (μ g)	30
Acido nicotínico (μ g)	0.1
Vitamina C (μ g)	21

Tanto los tallos como la piña contienen bromelaína que es una enzima proteolítica digestiva, su utilización es muy diversa, se usa como antidermatoso, antirimbótico (para prevenir la formación de coágulos en la sangre) y con actividad fibrinolítica, como anti-inflamatorio y analgésico (García & Serrano, 2005). La piña contiene peroxidasa, fosfatasa ácida e inhibidores de proteasas y calcio. Junto con estas, la bromelaína actúa como inmunomodulador, aumentando la inmunocitotoxicidad contra células tumorales, induce la producción de distintas citosinas como la interleucina (IL)-1 β , e IL-8 que causan necrosis del tumor (García & Serrano, 2005).

El poder antioxidante de la piña se debe al contenido de vitaminas C, B6, y B12, así como a los minerales, que tienen una acción que bloquea el daño causado por los radicales libres. Los radicales libres son moléculas muy reactivas que se producen por

procesos biológicos como la respiración celular o la digestión y por factores externos como la exposición a la radiación solar o al humo del tabaco. Los antioxidantes que contiene la piña neutralizan el daño oxidativo de los radicales libres, de esta misma forma actúa la bromelina contenida en la piña la cual posee virtudes antioxidantes (Abarca, 2018).

1.1.4 Jugo de piña

El consumo de jugos y néctares de frutas se ha incrementado en el mundo debido a las recomendaciones para una mejor nutrición y una alimentación mucho más saludable (Rojas et al., 2012). Por jugo de fruta se entiende el 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 (CODEX STAND 247-2005).

Los jugos se preparan mediante procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales de los zumos (jugos) de la fruta de que proceden. Podrían ser turbios o claros (CODEX STAND 247-2005). Los jugos de frutas tienen un gran potencial en el mercado de los productos alimenticios debido al incremento del consumo de bebidas que proporcionan vitaminas y minerales. Actualmente, existe un mercado creciente para bebidas compuestas por mezcla de frutas, principalmente frutas tropicales (Rojas et al., 2012).

1.2 Capacidad antioxidante

Actualmente, se sabe que tanto por causas ambientales (radiación), así como por la ingesta de algún contaminante o incluso como consecuencia del metabolismo, surgen algunas moléculas que pueden provocar daño. A estas se les conoce como especies oxígeno reactivas (ROS), que se asocian a enfermedades como cáncer, problemas cardíacos o al natural envejecimiento humano (Castañeda, Llica & Vasquez, 2008). Asimismo, existen moléculas que remueven los radicales libres por reacción directa (no catalítica) tales como: el glutatión reducido, los tocoferoles (vitamina E) y el ácido ascórbico (Vitamina C). En las frutas, las legumbres y algunos vegetales se encuentran muchas sustancias capaces de atrapar radicales libres, mejorando nuestra defensa antioxidante, reportándose que son capaces de detener o prevenir el desarrollo de tumores y efectos bioquímicos asociados con la progresión de estos; este potencial se atribuye principalmente, a sus propiedades antioxidantes (Castañeda, Llica & Vasquez, 2008).

La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres. Estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluyen la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides (Avello & Suwalsky, 2006).

La vitamina C constituye el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre y se puede encontrar en frutas y verduras, mientras que los carotenoides son compuestos coloreados tales como los betacarotenos, presentes en verduras y frutas amarillas y anaranjadas (Avello & Suwalsky, 2006).

El ácido ascórbico (vitamina C) es reconocido como un muy buen antioxidante ya que es un excelente captador de radicales libres que neutralizan especies como el H_2O_2 el O_2^- y el ácido hipocloroso, es por esto que en la industria alimenticia el ácido ascórbico y sus derivados se utilizan como antioxidantes en productos cárnicos, conservas vegetales, bebidas refrescantes, zumos, y fabricación de cerveza (Oro & Donnamaría, 2006).

Los carotenoides son antioxidantes naturales, captadores eficaces de oxígeno reactivo y de radicales libres, todos los carotenoides en general han demostrado esta eficacia como protectores frente a la oxidación, si bien esta puede variar entre ellos, algunos carotenoides, como el β -caroteno, también poseen la capacidad de ser precursores de la vitamina A, también evitan la oxidación de otras vitaminas como la vitamina E (Carné, 1997).

1.3 *Eysenhardtia Polystachya* (EP)

Eysenhardtia polystachya (Ortega) Sarg. (Leguminosae: Lotoideae) es un árbol pequeño distribuido en todo México y el sur de Texas ha sido utilizado en la macacina tradicional mexicana como un remedio herbario (Alvarez et al., 1998). El árbol *Eysenhardtia polystachya* conocida comúnmente como “palo azul” pertenece a la familia de las Leguminosae. Arbusto o árbol de 2 hasta 8m de altura, cuyas ramas jóvenes se recubren con pelos finos. Tiene las hojas divididas con apariencia plumosa, sus flores son blancas, olorosas, agrupadas en racimos apretados y verticales. La madera de color café rojizo es muy dura y puesta en agua desprende una sustancia que tiñe de color amarillo azulado (Alvarez et al., 1998).



Figura 5. Planta de palo azul (Alvarez et al., 1998).

Nombres comunes en México: Cute (Jal.); Coatillo (Pue.); Coatl (l. náhuatl); Cohuatli, Cuatle (Oax.); Lanaé (l. chontalpa, Oax.); Palo cuate, Rosilla (Sin.); Palo dulce (Sin., Mex., Hgo., Pue., Mich.); Taray (N.L., Dgo.); Tlapahuaxpatli; Ursa (l. otomí, Hgo.); Vara dulce, Varaduz (Dgo.). Esta planta es utilizada en la medicina tradicional. En investigaciones anteriores se demostró la propiedad antiutolitiásica del extracto acuoso. Así como también el aislamiento e identificación de los constituyentes fenólicos de la *E. polystachya* (7-hidroxi-2', 4',5'- trimetoxiisoflavona y 7-hidroxi-4'-etociisoflavona).

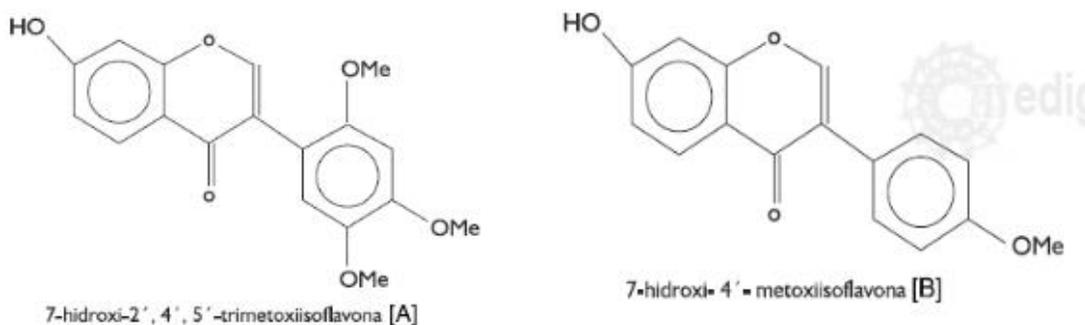


Figura 6. Estructura de los constituyentes fenólicos encontrados en el extracto de *E. polystachya* (Pérez-Gutiérrez et al., 2016).

Narváez-Mastache et al. (2003, 2006, 2007) reportó anteriormente que análisis químicos previos de algunas especies de *Eysenhardtia* han permitido el aislamiento de compuestos fenólicos tales como flavonoides, metilprenilflavinas, flavan-3-ols, al igual que Wächter et al. (1999) y Alvarez y Delgado (1999) aislaron varios flavonoides con actividad antimicrobiana e insecticida (Narváez-Mastache, Novillo, & Delgado, 2008). Entre los componentes que se han encontrado en los extractos de EP son auronas, flavonoides, isoflavonoides y matlalina. Se sabe que todos los flavonoides contienen un esqueleto de 15 carbonos, su estructura central es una 2-fenilbenzopiranona, en la que el puente de tres carbonos entre los grupos fenilo es comúnmente ciclizado con oxígeno. Otros componentes del extracto de la planta son los flavonoides metilados (Ferreira-García et al., 2017).

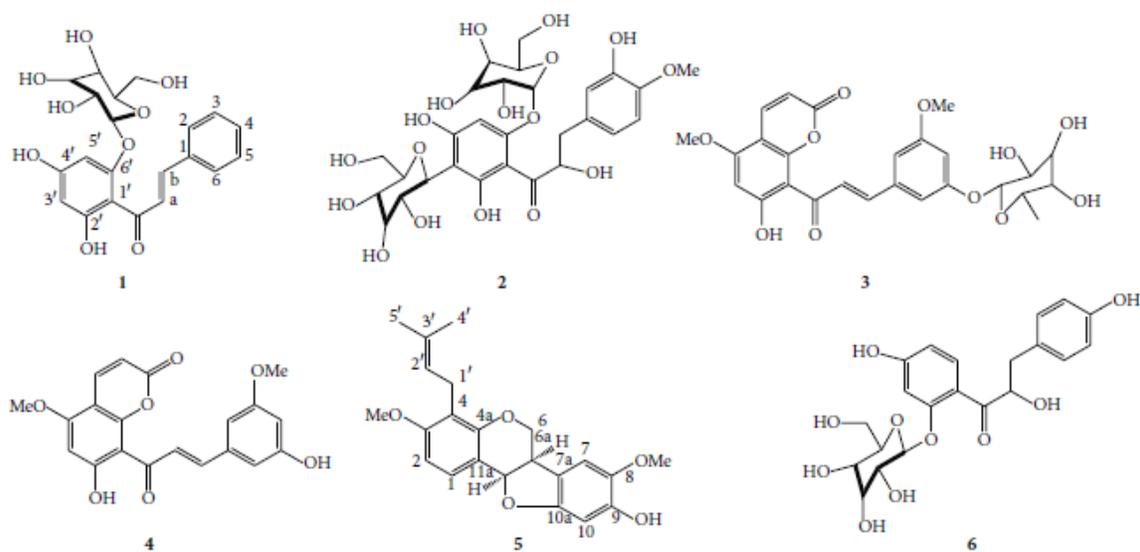


Figura 7. Compuestos aislados de *Eysenhardtia polystachya* (Pérez-Gutiérrez et al., 2016).

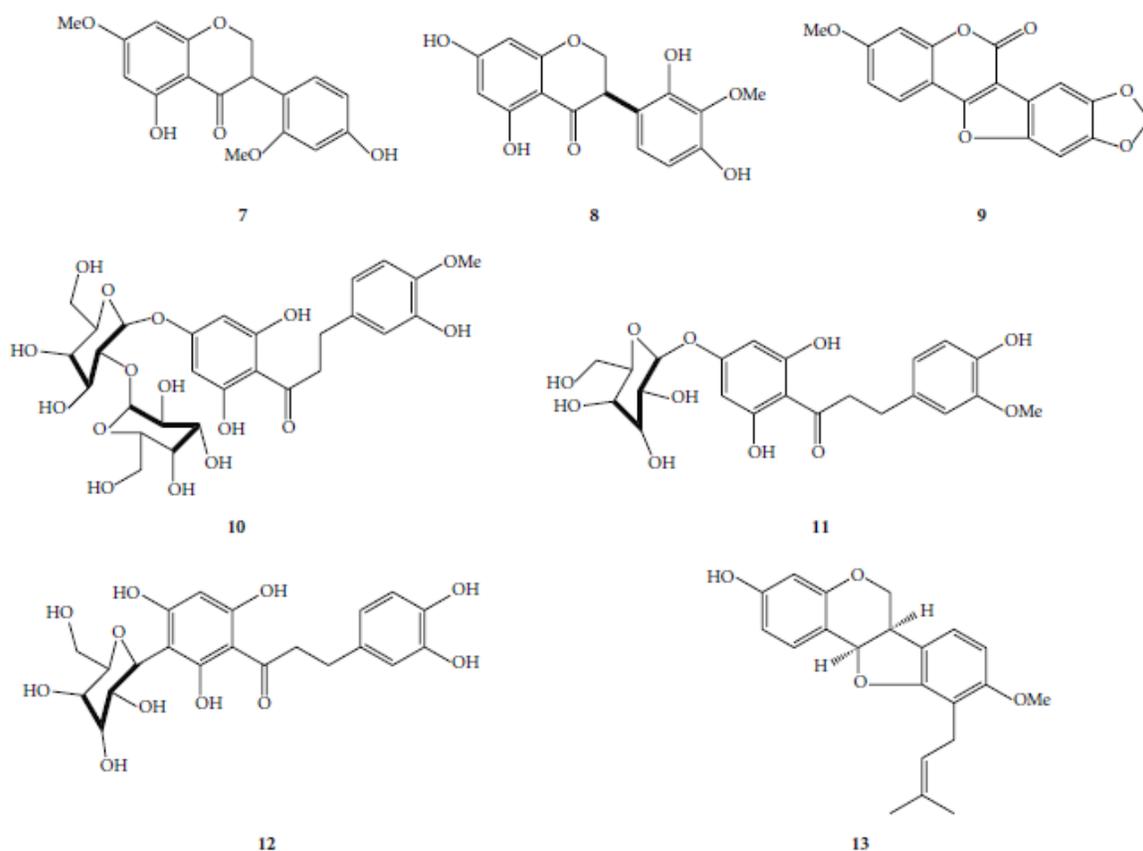


Figura 8. Compuestos aislados de *Eysenhardtia polystachya* (Pérez-Gutiérrez et al., 2016).

La figuras 7 y 8 muestran los compuestos aislados de la corteza de *Eysenhardtia polystachya*, siendo los seis primeros; (1) 2',4'-dihidroxichalcona-6'-O-β-D-glucopiranosido, (2) α,3',2',4'-tetrahidroxi-4-metoxi-dihidrocalcona-3'-C-β-D-glucopiranosido, (3) 7-hidroxi-5,8'-dimetoxi-6'α-L-ramnopiranosido-8-(3-fenil-trans-acrilóilo)-1-benzopiran-2-uno, (4) 6',7'-dihidroxi-5,8'-dimetoxi-8-(3-fenil-trans-acrilóilo)-1-benzopiran-2-uno, (5) 9-hidroxi-3,8'-dimetoxi-4-prenilpterocarpan, (6) α,4,4' trihidroxidihidrocalcona-2'-O-β-D-glucopiranosido, (7) 5,4'-dihidroxi-7,2'-dimetoxil-isoflavona, (8) (3R)-5,7-2',4'-tetrahidroxilo-3'-metoxil-isoflavona, (9) flemichaparina c, (10) neohesperidina dihidrocalcona, (11) hesperetina dihidrocalcona glucósido, (12) aspalathin y (13) *sandwicensis* (Perez-Gutierrez et al., 2016).

1.4 Alimentos funcionales

Los alimentos funcionales no constituyen una entidad única, bien definida y correctamente caracterizada. De hecho, una amplia variedad de productos alimenticios se incluye (o se incluirán en el futuro) en la categoría de alimentos funcionales. Estos abarcan diversos componentes, nutrientes y no nutrientes, que afectan a toda una gama de funciones corporales relacionadas con el estado de bienestar y salud, la reducción del riesgo de enfermedad, o ambas cosas (Ashwell, 2004).

El término alimento funcional nació en Japón, posteriormente, han aparecido en todo el mundo una variedad de vocablos más o menos relacionados con los “alimentos de uso específico para la salud” (Foods for Specific Health Use, FOSHU). Dentro de ellos, hay términos más exóticos tales como alimentos nutraceúticos, alimentos diseñados, farmalimentos, medicalimentos y vitaminalimentos, y otros más tradicionales como suplementos alimentarios y alimentos enriquecidos. Todos son alimentos o productos alimenticios comercializados con mensajes que destacan sus propiedades saludables (Ashwell, 2004).

Un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto benéfico sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo tal que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos, y deben demostrar sus efectos en las actividades en que normalmente se consumen en la dieta. No se trata de comprimidos ni capsulas, sino de alimentos que forman parte de un régimen normal (Ashwell, 2004).

1.4.1 Bebidas funcionales

Según USDA los jugos y bebidas funcionales (aquellos que brindan un beneficio para la salud más allá de la nutrición básica) son productos muy populares en el mercado estadounidense e incluyen una variedad de productos, tales como jugos y bebidas a base de frutas y vegetales; tés; bebidas a base de soja, arroz y almendra; yogur bebible y batidos; aguas embotelladas mejoradas; bebidas energizantes; bebidas deportivas; etcétera (Zhao,2012).

1.5 Conservación de alimentos

Los distintos métodos de conservación de alimentos procuran incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, idealmente, aplicando técnicas que impidan y mantengan la calidad del producto. La eficiencia de estos métodos depende del cuidado de la higiene durante el proceso productivo, siendo su objetivo disminuir la carga microbiana y evitar su desarrollo (Domínguez & Parzanese, 2009). Para tal fin muchos productos son tratados térmicamente, técnica que muchas veces modifica las características, tanto sensoriales (textura, sabor y color), como nutricionales (perdidas de vitaminas, principalmente) del alimento. Debido a estos efectos adversos del tratamiento a altas temperaturas, se encuentra en desarrollo procesos no térmicos de conservación, también denominados tecnologías suaves. Son poco agresivos y evitan la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos- por lo tanto, acordes con las demandas actuales del mercado- (Domínguez & Parzanese, 2009).

1.6 Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos

1.6.1 Nanotecnología

En las últimas décadas ha aumentado el interés por el uso de nanopartículas sobre todo en la industria farmacéutica. Las nanopartículas son partículas de tamaño coloidal que poseen diámetros de entre 1 y 1000 nm y las sustancias pueden estar encapsuladas, absorbidas o dispersas en ellas. Se ha desarrollado una amplia variedad de nanopartículas compuestas de una gama que incluye lípidos, polímeros y materiales inorgánicos, de acuerdo al material utilizado las nanopartículas varían en sus propiedades fisicoquímicas y por lo tanto en sus aplicaciones (Letchford & Burt, 2007).

Roco et al. (2011) Señala que cuando el tamaño de la partícula se reduce por debajo de este umbral, el material resultante exhibe propiedades físicas y químicas que son significativamente diferentes de las propiedades de los materiales a macroescala compuestas por la misma sustancia (Duncan, 2011).

1.6.1.1 Nanopartículas

Letchford y Burt (2007) definen las nanocápsulas como sistemas nano-vesiculares que exhiben una estructura núcleo-capa típica en el cual el medicamento esta confinando a un reservorio o dentro de una cavidad rodeada por una membrana de polímero, la cavidad puede contener la sustancia activa en forma líquida, solida, o como una dispersión molecular (Mora-Huertas, Fessi, & Elaissari, 2010). En general, existen seis métodos clásicos para la preparación de nanocápsulas: nanoprecipitación, emulsión-difusión, doble emulsión, coacervación en emulsión, revestimiento de polímero y capa por capa (Mora-Huertas et al., 2010).

Sozer y Kokini (2009) argumentan que las nanopartículas pueden usarse como compuestos bioactivos en alimentos funcionales, estos compuestos pueden encontrarse de forma natural en ciertos alimentos y tener beneficios fisiológicos pudiendo ayudar a reducir el riesgo de ciertas enfermedades, el usar la nanotecnología para reducir el tamaño de partícula ayuda a mejorar las propiedades de los compuestos bioactivos, como la entrega de propiedades, solubilidad, prolongar el tiempo de resistencia en el tracto gastrointestinal, esto es debido a la mayor área de superficie de las nanopartículas por unidad de masa, esperando que sean más activas biológicamente que las partículas de mayor tamaño de la misma composición química.

1.6.1.2 Gelación iónica

La formación de micropartículas por el método de gelación iónica consiste en la formación de una emulsión de dos fases, una hidrofóbica y otra hidrófila, esta última fase está compuesta por el biopolímero aniónico; en donde por agitación, se origina una gran cantidad de gotas, que son gelificadas por acidificación con δ -gluconolactona; liberando gradualmente el calcio contenido en la sal utilizada ($CaCO_3$) por reacción de sustitución (Matsukawa & Watanabe, 2007). El método de gelación iónica es un método ampliamente usado para la preparación de nanopartículas de quitosano. También se le conoce como reticulación iónica, este es generado por una auto agregación entre el quitosano o sus derivados y macromoléculas de carga opuesta, o cuando existe un agente reticulante (Wang et al., 2011). El agente reticulante más usado es el tripolifosfato de sodio (TPP). Cuando el agente TPP se añade continuamente a una solución de quitosano bajo agitación constante y a una temperatura moderada (temperatura ambiente), dos componentes con cargas opuestas se combinan para formar nanopartículas (Amidi, Mastrobattista, Jiskoot, & Hennink, 2010).

El mecanismo de este método para la formación de nanopartículas de quitosano plantea que la gelificación iónica del quitosano ocurre por interacciones electrostáticas entre productos de la disociación TPP en solución acuosa ($P_3O_{10}^{-5}$ y $HP_3O_{10}^{-4}$), con los grupos $-NH_3^+$ del quitosano (Calvo et al., 1997).

1.7 Luz UV-C

La radiación UV se utiliza en diferentes sectores de la industria de alimentos, debido al efecto nocivo que causa sobre el ADN de muchos microorganismos. Así mismo es elegida por tratarse de un proceso que no altera las propiedades organolépticas de los productos y reduce el uso de sustancias químicas (Domínguez & Parzanese, 2009). La radiación UV se utiliza para desinfectar agua, ya sea para ser comercializada como tal o en la industria de bebidas. Cabe destacar que el poder de penetración disminuye cuando se tratan de líquidos que no son transparentes y/o tienen sólidos en suspensión (Domínguez & Parzanese, 2009).

El uso de la tecnología UV con fines de desinfección involucra a la región ultravioleta del espectro electromagnético, con un rango de longitud de onda entre 100 y 400 nm. Este puede subdividirse en:

- UV de onda corta UV-C entre 200 y 280 nm, R (rango germicida).
- UV de onda media UV-B entre 280 y 315 nm.
- UV de onda larga UV-A entre 315 y 400 nm.

La radiación UV produce cambios fotoquímicos, cuyos efectos pueden variar según la especie de microorganismo que se trate. El mecanismo de acción letal depende de su absorción por el ADN, pudiendo detener el crecimiento celular y provocar la muerte (Domínguez & Parzanese, 2009). La luz ultravioleta es producida por lámparas de vapor de mercurio, de las que existen varios tipos, dependiendo del uso y la potencia

necesaria. Entre otras variantes las hay con y sin generación de ozono, compactas, para uso en aire, agua, etc. Los tipos de lámparas UV utilizadas en la industria son:

- Baja presión
- Presión media
- Baja presión de alta intensidad
- Presión media de alta intensidad
- Amalgama

Las de baja presión generalmente se utilizan para situaciones de flujos bajos que no poseen elevado requerimiento de potencia. Las lámparas de alta presión son empleadas para flujos mayores que requieren alta intensidad de energía UV. Las de amalgama presentan las ventajas de las lámparas de baja presión (alta eficiencia en la emisión de una determinada longitud de onda) pero con mayor potencia (Domínguez & Parzanese, 2009).

En el diseño del equipo es importante asegurarse que cada microorganismo reciba la dosis de radiación necesaria para ser eliminado, determinando espacio correcto entre las lámparas y las superficies reflectoras del interior de la cámara, como también una adecuada agitación del agua a fin de exponer el flujo a la misma dosis de radiación, logrando un proceso eficaz (Domínguez & Parzanese, 2009).

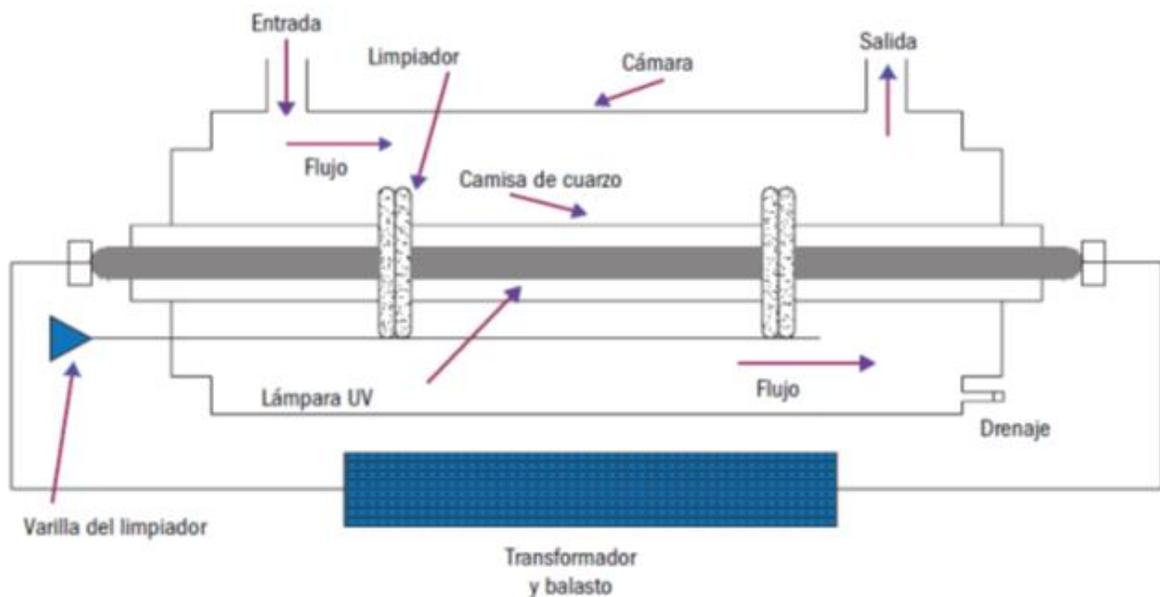


Figura 9. Instalación típica de un equipo de radiación UV con lámpara sumergida (Domínguez & Parzanese, 2009).

A principio del año 2017 en diversas universidades de México se comenzaron a realizar investigaciones utilizando luz ultravioleta como método de pasteurización en jugos y bebidas funcionales ya que garantiza el daño a microorganismos patógenos y de descomposición sin dañar las características sensoriales propias de las bebidas y sin dañar componentes del jugo que tienen un aporte benéfico para la salud de los consumidores.

1.8 Ultrasonido

El ultrasonido de potencia representa una tecnología novedosa, la cual ha creado bastante interés debido a sus efectos promisorios en las áreas de procesamiento y conservación de alimentos (Ochoa, 2012). Hoover (2000) define ultrasonido como una forma de energía que viaja en ondas de sonido iguales o mayores a 20000 vibraciones por segundo, otra definición la realizó Mason et al (2005), en la cual lo establece como cualquier sonido con frecuencia más allá de lo que el oído humano

puede percibir (16 KHz). Las aplicaciones de las ondas ultrasónicas se dividen por lo general en dos grupos: baja y elevada intensidad. Las aplicaciones de baja intensidad son aquellas cuyo objetivo es obtener información sin producir ninguna modificación en su estado. Por el contrario, las aplicaciones de elevada intensidad son aquellas en la que la energía ultrasónica se utiliza para producir cambios permanentes en el medio tratado (Ochoa, 2012).

La generación de ultrasonido (US) se fundamenta en la deformación elástica de materiales ferroeléctricos, dentro de un campo eléctrico de alta frecuencia y es causada por la mutua atracción de moléculas polarizadas en el campo. Para la polarización de las moléculas se debe transmitir una frecuencia alternante mediante dos electrodos hasta el material ferroeléctrico. Después se obtiene la conversión a oscilación mecánica y el sonido puede ser transmitido a un amplificador para finalmente transmitirse al medio (Ochoa, 2012).

El efecto conservador del ultrasonido está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido. La cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente. El resultado es la formación ininterrumpida de microburbujas cuyo tamaño aumenta miles de veces en la alternancia de los ciclos de presión, las microburbujas que alcanzan un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original. La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos y focales, que se disipan son que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado. Sin embargo, la energía liberada, así como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el microentorno (Ochoa, 2012).

Se considera como efectos ventajosos de esta tecnología lo siguiente:

- Efectiva contra células vegetativas, esporas y enzimas.
- Reducción de los tiempos y temperaturas de proceso.
- Pocos requerimientos de adaptación en plantas ya establecidas.
- Incrementos de los fenómenos de transferencia de calor.
- Posible modificación de la estructura y textura en alimentos.
- Puede emplearse en procesos continuos o intermitentes.
- Efecto sobre la actividad enzimática.

Los variables críticas que se consideran para la aplicación de esta tecnología son la naturaleza de la onda sónica, el tiempo de exposición, el tiempo de microorganismo, el volumen de alimento a procesar (Ochoa, 2012). Cuando las burbujas generadas por la cavitación se llenan con gas o vapor y debido a las oscilaciones irregulares las burbujas implosionan, provocando elevaciones de presión y temperatura y en consecuencia la desintegración de células y desnaturalización de enzimas. La cavitación estable está referida a la oscilación de las burbujas en un comportamiento regular durante los ciclos acústicos; su efecto es debido a la microcorriente que pueden estresar las especies biológicas. Se considera que las esporas son más resistentes que las células vegetativas y en el caso de las enzimas su desnaturalización por US se debe al efecto de despolimerización (Ochoa, 2012).

2 CAPÍTULO II. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1 Objetivos

2.2 Objetivo general

Establecer el efecto de la incorporación de nanopartículas funcionalizadas con un extracto rico en flavonoides de *Eysenhartia polystachya* sobre la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de jugo de piña pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido durante su almacenamiento en refrigeración.

2.3 Objetivos particulares

1. Analizar los parámetros fisicoquímicos (pH y sólidos solubles) en jugo de piña pasteurizado mediante potenciometría y refractometría como parámetros de control durante su almacenamiento refrigerado.
2. Evaluar el contenido de ácido ascórbico y carotenoides totales en jugo de piña adicionado con nanopartículas funcionalizadas de *E. polystachya* pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido mediante pruebas espectrofotométricas para su asociación con la pérdida de calidad durante el almacenamiento refrigerado.
3. Evaluar la capacidad antioxidante en jugo de piña adicionado con nanopartículas funcionalizadas de *E. polystachya* pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido utilizando diferentes radicales (ABTS, FRAP y DPPH) para su asociación a los mecanismos de degradación de sus compuestos bioactivos.

2.4 Justificación

Las tecnologías emergentes dan alternativas efectivas para la conservación y calidad de los alimentos, como lo es la nanotecnología, y en especial la nanoencapsulación de antioxidantes que brindan a los procesos alimentarios nuevos y sofisticados tratamientos ya sea para adquirir características diferentes o evitar la degradación de propiedades importantes, como el color o el valor nutrimental entre otros al pasar el tiempo en los productos, como lo son los jugos de frutas.

2.5 Materiales

Quitosán ($P_M = 50\ 000 - 190\ 000$ Da, $\mu = 20 - 300$ cP en solución de $\text{CH}_3\text{-COOH}$ (1%) a $25\ ^\circ\text{C}$), Pectinasa de *Aspergillus aculeatus* en solución acuosa ($\geq 3\ 800$ unidades/mL), 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfónico ($\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}_4$, $P_M = 548.68$ g/mol), 2,2-difenil-1-picrilhidracilo ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_5\text{O}_6$, $P_M = 394.32$ g/mol), ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico ($\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_4$, $P_M = 250.29$ g/mol) y 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine ($\text{C}_{18}\text{H}_{12}\text{N}_6$, $P_M = 312.33$ g/mol) fueron adquiridos de Sigma Aldrich®, EE.UU. Tween® 80 (monooleato de polioxietilen (20) sorbitano, $P_M = 1310$ g/mol HLB = 15, $\mu \approx 425$ mPas a $25\ ^\circ\text{C}$) fue obtenido de ICI Surfactantes de México. El agua fue calidad Milli-Q®. Todos los demás reactivos fueron de grado analítico.

2.6 Métodos

2.6.1 Material biológico

Las piñas *Ananas comosus* (L.) Merr. var. *comosus* se adquirieron en la central de abastos de Cuautitlán, México y se almacenaron a 10 °C previo a su utilización. La fruta fue seleccionada cuidadosamente de acuerdo a su tamaño, firmeza y la uniformidad de color. Las muestras de *E. Polystachya* se adquirieron en el mercado municipal de Cuautitlán México.

a) Extracción de los flavonoides de EP

La extracción de flavonoides se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por González-Reza, (2017). Se extrajo la fracción rica en flavonoides de *E. Polystachya* con una mezcla etanol/agua en una relación 2:1 asistida por ultrasonido mediante un procesador ultrasónico (Hielscher UP200Ht, Alemania) en un intervalo de 3 h haciendo la ultrasonicación cada 20 minutos con duración de 5 min cada uno a una temperatura de 25 °C con 50 W de potencia. La relación masa/volumen de producto y medio de extracción fue de 1:6. Posterior a la extracción se evaporó la solución a 6.66 kPa en un rotavapor (IKA® RV 10, EE.UU.) a 40 °C. Finalmente la solución restante fue secada en charolas en un horno convectivo a 40 °C para obtener los sólidos que serán el extracto rico en flavonoides.

b) Preparación de las nanoesferas

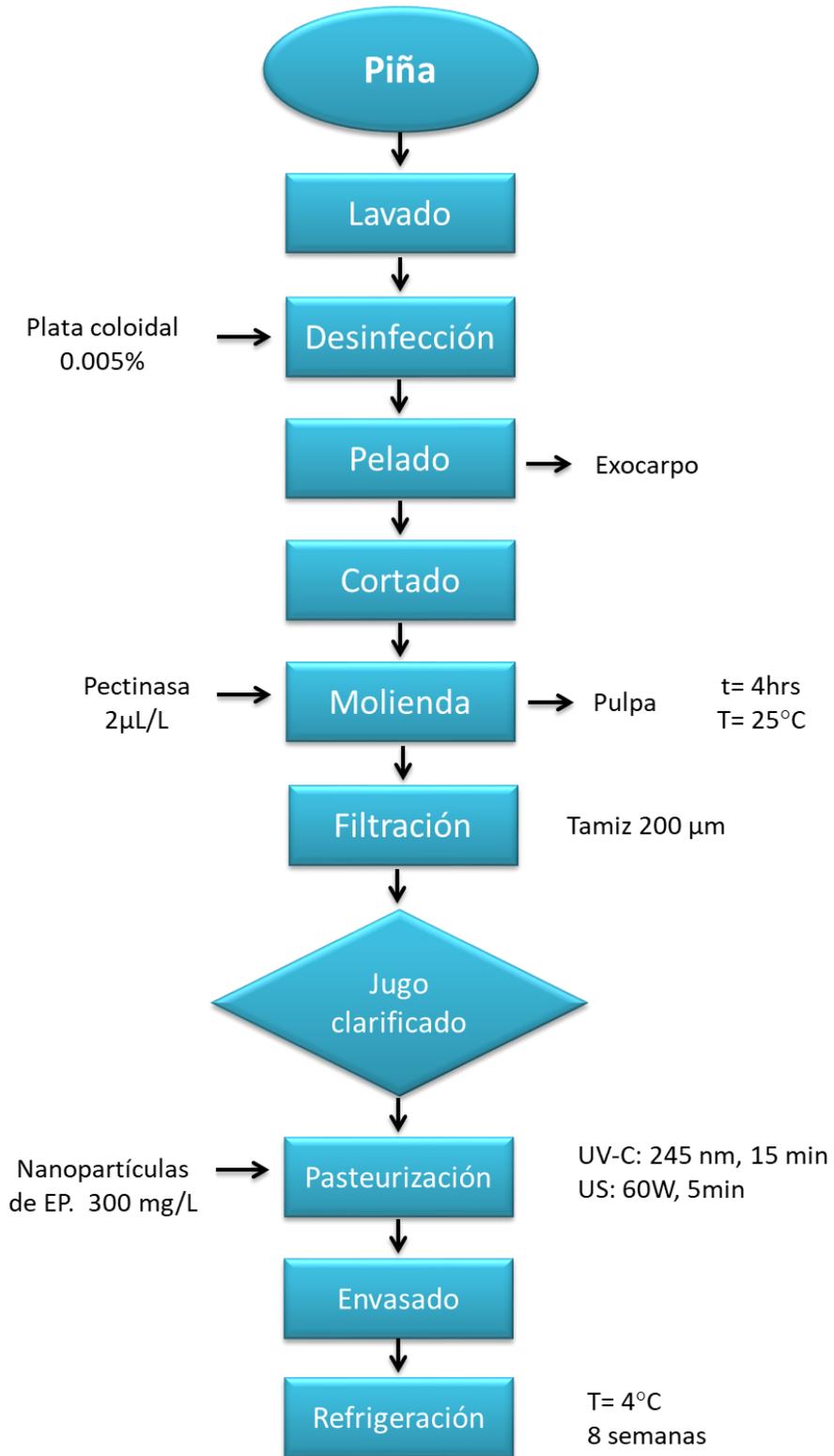
Las nanoestructuras con quitosán se prepararon por gelación iónica de acuerdo a la metodología propuesta por González-Reza, (2017). Brevemente, 50 mL de una dispersión de quitosán (3 g/L) en solución de ácido acético glacial al 1% y Tween® 80 (10 g/L) se preparó por agitación magnética a 500 rpm durante 24 horas. Una vez que

la mezcla estuvo completamente homogénea se agregó por goteo (1 mL/min) una solución de tripolifosfato (20 mL) a 3 g/L por agitación magnética a 700 rpm a 25 °C. Una vez mezclados los componentes se aplicó ultrasonificación durante 3 minutos mediante un procesador ultrasónico (Hielscher UP200Ht, Alemania) a una frecuencia de 50 W para posteriormente ajustar el pH de la mezcla a un valor de 5. La dispersión se centrifugó a 7500 rpm en una ultracentrífuga (Hermle LaborTechnik GmbH Z323K, Alemania) durante 30 minutos a 4 °C para recuperar las nanoestructuras obtenidas para después ser resuspendidas en agua destilada. Posteriormente se funcionalizaron las nanoestructuras con el extracto rico en flavonoides (500 mg/L) con asistencia de ultrasonido (3 min) a una frecuencia de 50 W. Finalmente la mezcla se agito durante 24 horas a 1000 rpm con un agitador magnético a 25 °C. La suspensión obtenida se tomó como el sistema nanoestructurado final para su aplicación directa a los jugos de piña.

c) Dispersión dinámica de la luz y movimiento electroforético

El tamaño de partícula (TP) y el índice de polidispersión (IPD) de las nanopartículas se determinaron por la técnica de dispersión de luz láser en un ángulo fijo de 273°, a una temperatura de 25 °C utilizando un Z-sizer Nano ZS90 (Malvern Ltd., Enigma Business Park, Grovewood Road, UK) (González-Reza, Quintanar-Guerrero, Del Real-López, Piñon-Segundo, & Zambrano-Zaragoza, 2018). Las dispersiones se diluyeron con agua Milli-Q® para obtener los histogramas de frecuencias de volumen. El potencial zeta (ζ) se determinó para la evaluación de la estabilidad coloidal de las nanopartículas utilizando un Z-sizer Nano ZS90 (Malvern Ltd., Enigma Business Park, Grovewood Road, UK) una vez diluidas con agua Milli-Q® (González-Reza, Quintanar-Guerrero, Flores-Minutti, Gutiérrez-Cortez, & Zambrano-Zaragoza, 2015). El valor del potencial zeta fue normalizado con dispersión patrón de poliestireno ($\zeta = -55$ mV). Las mediciones se realizaron a 25 °C por triplicado.

2.7 Diagrama de proceso para la pasteurización de jugo de piña



2.8 Proceso de extracción del jugo de piña

Para la obtención de jugo de piña se utilizó piña de la variedad MD2. La cual fue adquirida en el mercado municipal de Cuautitlán México. Inicialmente, a las piñas se les retiró la cascara y corona, posteriormente se cortaron en torsos pequeños y con ayuda de un extractor se obtuvo el jugo. Una vez obtenido el jugo, este se despectinizó con el fin de obtener un jugo clarificado, para lo cual a la muestra se le adicionaron 2µL de la enzima pectinasa obtenida de *Aspergillus aculeatus* por cada litro de muestra. La muestra estuvo en movimiento en intervalos de 30 minutos (agitación/descanso) en un agitador de velocidad variable (Eurostar Power Control Visc, IKA® Wilmington, EE.UU.) a 600 rpm con un tiempo total de despectinización de 4 h. Una vez terminada la despectinización se realizó una filtración a través de una maya número 200. Al jugo de piña despectinizado obtenido se le adicionaron las nanoesferas de quitosán-extracto de *E. polystachya* en una concentración de 500 mg/L.

2.9 Pasteurización en frío por luz UV-C

El reactor de pasteurización por luz ultravioleta consistió en una lámpara UV-C (VIQUA®, Modelo S212RL, 254 nm, 23 cm de longitud y 5 cm de diámetro, Guelph, Ontario, Canadá) dentro de un tubo de cuarzo (31.8 cm x 6.5 cm), la cual funciona como reactor de irradiación. La lámpara UV-C se encendió durante 15 minutos previos a su utilización para estabilizar y esterilizar el reactor de irradiación. La entrada y salida del jugo de piña al reactor se llevó a cabo mediante mangueras flexibles grado alimenticio, las cuales descargaron el producto en un recipiente metálico desinfectado. El jugo de piña (2 L) se agregó al recipiente metálico (5 L) y se recirculó (16.92 L/h) a través del dispositivo usando una bomba sumergible (M60A, Beckett Corp, China). El tiempo de residencia contemplado para el tratamiento no térmico fue de 15 minutos. La pasteurización UV-C fue realizada a 25 ± 2 °C. Todos los ensayos se

realizaron por triplicado. La dosis aplicada al jugo de piña fue determinada de acuerdo a la metodología propuesta por Esquivel-Ortega (2018).

2.10 Pasteurización en frío por ultrasonido

Para el tratamiento por ultrasonido las muestras se colocaron en recipientes de 1 L con un volumen efectivo de 500 mL de jugo. Se utilizó un procesador ultrasónico (Hielscher Ultrasonics gmbh, UP200Ht, Teltow, Alemania) a una frecuencia de 60 W utilizando un sonotrodo de titanio (diámetro = 4 cm y longitud = 8 cm, Hielscher Ultrasonics gmbh, S26d40, Teltow, Alemania) en intervalos de sonicación/reposo de 1 minuto con un tiempo total de procesamiento de 5 minutos. La pasteurización por ultrasonicación fue realizada a 25 ± 2 °C. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

2.11 Tratamientos combinados (UV-C y Ultrasonido)

En este tratamiento se siguió el procedimiento de los métodos anteriores (2.13 y 2.14), primero se aplicaron las nanopartículas, después se circuló por el reactor de luz UV-C y por último fue sometido a ultrasonido, utilizando las mismas condiciones en los tratamientos anteriores. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

2.12 Análisis de las muestras en almacenamiento refrigerado

Las muestras fueron envasadas en frascos de 125 mL de poliestireno de alta densidad con sello hermético, los cuales previamente fueron lavados y desinfectados, no dejando espacio libre de cabeza. Las muestras se almacenaron en refrigeración a 4 °C durante 8 semanas. La Tabla 2, muestra los ensayos realizados durante el monitoreo de los jugos.

Tabla 2. Ensayos utilizados durante la parte experimental del proyecto.

Factores de Variación	Niveles de Variación	Factores Dependientes	Factor Respuesta
Nanopartículas <i>E. polystachya</i>	Con y sin	Absorbancia (ABTS, DPPH y FRAP)	Capacidad Antioxidante
Tratamiento UV-C	Con y sin	pH °Brix	Parámetros de Calidad
Tratamiento Ultrasonido	Con y sin	Absorbancia (Carotenoides Totales y Ácido Ascórbico)	Contenido de Compuestos Bioactivos

2.12.1 pH

La determinación de pH en las muestras se realizó mediante un potenciómetro (Hanna® HI 208 pH meter, Porto, Portugal), con un electrodo de pH con sensor de temperatura incorporado (Hanna® HI1291D pH meter, Porto, Portugal). Previo a la determinación se calibro con soluciones reguladoras de pH de 7 y 4. Se realizó directamente la medición en todas las muestras de jugo de piña, todas las mediciones se realizaron tres veces a 25 °C.

2.12.2 Sólidos solubles

Los sólidos solubles de los jugos fueron determinados de acuerdo con la NMX-F-103-1982, para la determinación en alimentos, frutas y derivados. La determinación de °Brix se realizó con un refractómetro digital (Hanna® HI96801, Porto, Portugal) calibrado previamente el equipo con agua destilada a 0°Brix, finalmente se colocó la muestra de jugo de piña con ayuda de un gotero sobre el prisma. La determinación se realizó por triplicado a 25 °C.

2.12.3 Ácido ascórbico

La determinación de ácido ascórbico se realizó utilizando el método de Robinson Stock citado por (Ranganna, 2005). Se incorporaron 10 mL de jugo de piña en 10 mL de ácido metafosfórico (HPO_3) al 2%. Después se tomó una alícuota de 5 mL del extracto resultante y se adicionaron 10 mL de solución indicadora 2, 6 - diclorofenol - indofenol, se midió la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro UV - Visible Genesys 10s (Thermo scientific, Waltham, MA, EE.UU.). Se realizó la determinación para cada muestra por triplicado a 25 °C. La concentración fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{mg de ácido ascórbico}}{100 \text{ mL de muestra}} = \frac{A_c * B * 100}{C * 1000 * m} \quad \text{Ec. (1)}$$

Dónde: A_c = Contenido de ácido ascórbico estimado en la curva patrón, B = Volumen Aforado, C = Volumen de la solución, m = volumen de la muestra (mL).

2.12.4 Carotenoides totales

Para la determinación de carotenoides totales se utilizó la metodología propuesta por Barba et al., (2006). Inicialmente se preparó una mezcla de solventes la cual contenía Hexano/Acetona/Etanol (50:25:25 v/v). Se tomaron 5 mL de jugo de piña y posteriormente se adicionaron 20 mL de la mezcla de solventes. La mezcla se agito durante 10 minutos a 700 rpm a 25 °C en frascos herméticamente cerrados. Posteriormente a las muestras se les adicionó 5 mL de agua destilada en agitación por 5 minutos para fomentar la difusión de los solventes y separar la fase de hexano.

La muestra se centrifugó en una ultracentrífuga (Hermle Z323K, Labortechnik GMBH, Wehingen, Alemania) a 4 °C. La muestra que contenía los carotenoides se separó y se midió la absorbancia a 460 nm en un espectrofotómetro UV - Visible Genesys 10s

(Thermo scientific, Waltham, MA, EE.UU.). Se realizó la determinación para cada muestra por triplicado a 25 °C. Para la cuantificación se elaboró una curva patrón de β -caroteno. Los resultados se expresaron en μg equivalentes de β -caroteno/mL de jugo.

2.12.5 Capacidad antioxidante

2.12.6 ABTS

La capacidad antioxidante por ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-ácido sulfónico) se determinó por la metodología propuesta por Re et al., (1999). Una solución madre del catión radical ABTS se preparó mezclando solución de persulfato de potasio y solución de ABTS a 7 mmol y 2.45 mmol, respectivamente. La mezcla se mantuvo en oscuridad a 25 °C durante 16 horas previo de su utilización. La solución ABTS de trabajo fue obtenida por dilución en solución reguladora de fosfatos de pH 7.4 de la solución madre para lograr un valor de absorbancia de 0.7 (\pm 0.02) a 734 nm. Una alícuota de muestra se añadió a la solución de trabajo ABTS.

Para la curva en blanco y estándar se utilizó solución reguladora de fosfatos de pH 7.4 o solución de Trolox, respectivamente. La absorbancia se midió utilizando un espectrofotómetro UV/VIS (Genesys 10s, EE.UU.) a 734 nm después de 6 minutos. Una curva de referencia estándar fue construida por el trazado de valores de absorbancia contra concentraciones 100 - 1000 μmol de Trolox. La capacidad de captación de radicales de las muestras se cuantificó como μmol equivalentes de Trolox/mL de bebida. El análisis se realizó por triplicado a 25 °C.

2.12.7 DPPH

La capacidad secuestradora DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) se determinó por la metodología propuesta por Brand-Williams, Cuvelier, & Berset, (1995) con algunas modificaciones. Brevemente, una solución que contuvo 100 μmol de DPPH (en metanol) se preparó. Una alícuota de muestra se mezcló con solución de DPPH en metanol. La mezcla se agito vigorosamente y se incubo a 25 °C durante 30 minutos en oscuridad. La absorbancia se medió a 517 nm en un espectrofotómetro UV/VIS (Genesys 10s, EE.UU.). Se preparó un control sin muestra. Trolox se utilizó como control positivo en la prueba.

Una curva de referencia estándar fue construida por el trazado de valores de absorbancia contra concentraciones 100 - 1000 μmol de Trolox. La capacidad de captación de radicales de los jugos se cuantificó como μmol equivalentes de Trolox/mL de bebida. El análisis se realizó por triplicado a 25 °C.

2.12.8 FRAP

La actividad antioxidante de las nanopartículas se evaluó por su capacidad de reducción férrica (ensayo FRAP), que se determinó de acuerdo con el método descrito por Benzie & Strain, (1996). Se incubó por triplicado una alícuota de muestra conocida con reactivo FRAP (que contiene 2,4,6-tri (2-piridil)-s-triazina y FeCl_3) y agua destilada a 37 °C. Los valores de absorbancia se leyeron a 595 nm en un espectrofotómetro UV/VIS (Genesys 10s, EE.UU.) después de 4 min y 30 min. Se preparó un control sin muestra. Trolox se utilizó como control positivo.

Una curva de referencia estándar fue construida por el trazado de valores de absorbancia contra concentraciones 100 - 1000 μmol de Trolox. La capacidad

quelante de las muestras se cuantificó como μmol equivalentes de Trolox/mL de bebida. El análisis se realizó por triplicado a 25 °C.

2.13 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron utilizando el software estadístico Minitab (Minitab® Statistical Software 18 Inc., Centre, PA, EE.UU.), para determinar el efecto de la adición de nanopartículas que contienen extracto de *Eysenhardtia polystachya* además de la aplicación de sistemas de pasteurización en frío tales como el ultrasonido y luz UV-C sobre la estabilidad, cambios fisicoquímicos y la capacidad antioxidante de los jugos almacenados en refrigeración.

Las diferencias entre tratamientos se realizaron en función de la variación con respecto a la media realizándose una prueba de ANOVA ($\alpha=0.05$). La Tabla 3, muestra los diferentes tratamientos que se evaluaron en el presente trabajo experimental.

Tabla 3. Nomenclatura de los tratamientos utilizados.

Tratamiento.	Nomenclatura.
Control	C
Nanopartículas	NP
Nanopartículas + Ultrasonido	NP+US
Nanopartículas + Luz UV-C	NP+UV
Nanopartículas + Ultrasonido + Luz UV-C	T

3 CAPÍTULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de los sistemas nanoestructurados

La Tabla 4, muestra que el tamaño de partícula y el índice de polidispersión de las nanoesferas de quitosán-*Eysenhardtia polystachya* es similar a lo reportado por González-Reza (2017) para un sistema de talla submicrónica con el mismo activo. (Zambrano-Zaragoza et al., 2018) reporta que este método permite tamaños controlados de nanocápsulas de 100 – 1000 nm, la distribución de los tamaños de partícula obtenidos en este sistema nos indica la homogeneidad del sistema.

Tabla 4. Características de las nanoesferas de quitosán-*Eysenhardtia polystachya*

TP (nm)	IPD (-)	ζ (mV)
210.01 \pm 5.97	0.148 \pm 0.012	9.08 \pm 0.42

El ζ obtenido para las nanoesferas fue de 9.08 mV representa que el sistema tiende a la estabilidad con poca probabilidad de agregación debido a que las nanopartículas se repelen entre sí y por lo tanto superan la tendencia natural a agregarse (Noriega-Peláez et al., 2011). De acuerdo con Heurtault et al. (2003) la medición del ζ nos permite realizar predicciones acerca de la estabilidad de almacenamiento de una dispersión coloidal.

3.2 Análisis de los jugos en almacenamiento refrigerado

3.2.1 pH

Una modificación en el pH de los alimentos generalmente se debe a la adición de compuestos químicos, por la fermentación de microorganismos presentes, o por reacciones químicas de degradación (Lupano, 2013). Sin embargo, el pH es un parámetro que no se ve afectado directamente por tratamientos físicos o de conservación como se puede observar en la Figura 10.

El pH obtenido en los jugos se encuentra en un intervalo de 3.1 - 3.6 en los diferentes tratamientos realizados. En la Figura 10, se muestran las tendencias obtenidas por los cambios en el pH durante el almacenamiento de jugo de piña. El valor en la semana 1 para todos los tratamientos es de 3.5 lo cual indica que los tratamientos aplicados no modifican las propiedades químicas del jugo.

En el tratamiento control se observa un incremento en el pH en la semana 2, esto a causa de que la muestra no tiene ningún tratamiento que pueda retardar o evitar la oxidación de los componentes del jugo como lo es el ácido ascórbico. Para el tratamiento de NP se puede observar que hay un ligero incremento en el pH, el incremento en la semana 2, 3 y 4 es menor al incremento que hay en el tratamiento control en la semana 2, lo que demuestra que las nanopartículas con *Eysenhardtia polystachya* tienen un efecto antioxidante el cual ayuda a retardar la oxidación de algunos compuestos del jugo de piña.

El comportamiento del pH en el tratamiento NP+US muestra una disminución en la semana 2 y 3, así como un incremento en la semana 3 manteniéndose igual en la semana 4, lo que indica que el uso de ultrasonido como método de pasteurización

tiene un efecto favorable ya que evita el crecimiento de microorganismos que pueden producir ácidos orgánicos lo que también puede ser causa del incremento del pH.

El tratamiento con NP+UV muestra una disminución del pH en la semana 3 y 8 a demás que en las semanas 2, 4 y 6 el valor de pH no tiene una gran variación con respecto al valor inicial. Posteriormente el tratamiento T se puede observar una disminución en el pH en la semana 2 y 3 para posteriormente tener un incremento en la semana 4 y 6 que al igual que en el caso del tratamiento NP+US puede deberse al crecimiento de microorganismos.

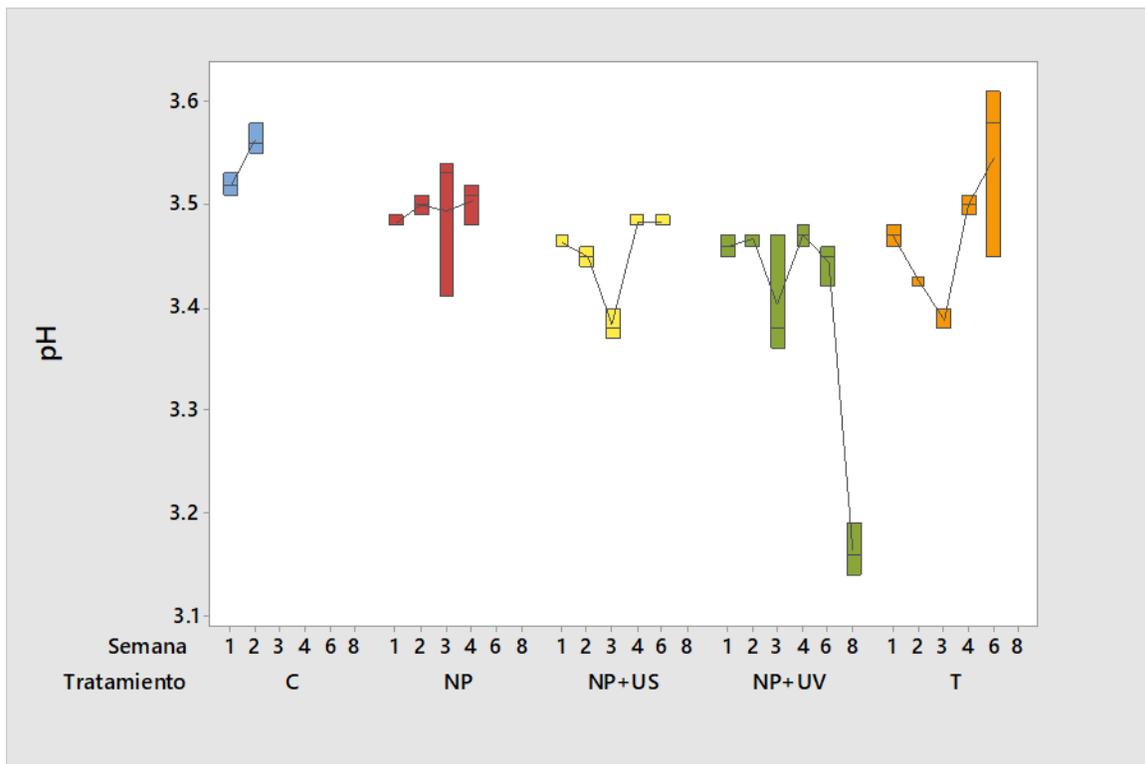


Figura 10. Cambios en el pH de los diferentes tratamientos del jugo de piña.

Tomando en cuenta los resultados obtenidos, se demuestra que la adición de nanopartículas con *Eysenhardtia polystachya* tiene un efecto positivo en el jugo de piña ya que ayuda a retrasar la oxidación de compuestos en este, además de ayudar a disminuir las variaciones en el pH, teniendo un mayor efecto en conjunto con la

pasteurización por medio de luz UV-C, igualmente todos los tratamientos utilizados tienen un efecto significativo ($p < 0.05$) e independientemente del tratamiento el tiempo de almacenamiento en refrigeración del jugo de piña tiene efecto significativo sobre el pH.

3.2.2 Sólidos solubles

Los sólidos solubles son un importante parámetro para determinar la calidad en la industria de frutas, vinos y jugos. 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.

La Figura 11, muestra los cambios presentes en el contenido de sólidos solubles de los diferentes tratamientos aplicados al jugo de piña. El ANOVA realizado muestra que hay un efecto significativo por parte de los tratamientos ($p < 0.05$). En la Figura 11, se observa que los tratamientos NP, NP+US, NP+UV y T tienen un valor inicial de sólidos solubles menor al del tratamiento control, esto se debe a que estos tratamientos se les adiciono nanopartículas con *Eysenhardtia polystachya* lo cual modifica el contenido de sólidos en el jugo.

Así mismo, el tiempo de almacenamiento refrigerado tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre todos los tratamientos, se observa que durante la semana 2 y 3 el rango de contenido de sólidos solubles es muy cercano entre los tratamientos adicionados con un sistema nanoparticulado.

De acuerdo con la NMX-F-117-1968, el jugo de piña debe estar en un rango de 10 a 12 °Brix para poder decir que es de calidad, como se observa en la figura 2 todos los jugos con los diferentes tratamientos entran en dicho rango por lo que se puede decir que es un jugo de calidad y que los tratamientos no alteran el contenido de sólidos solubles.

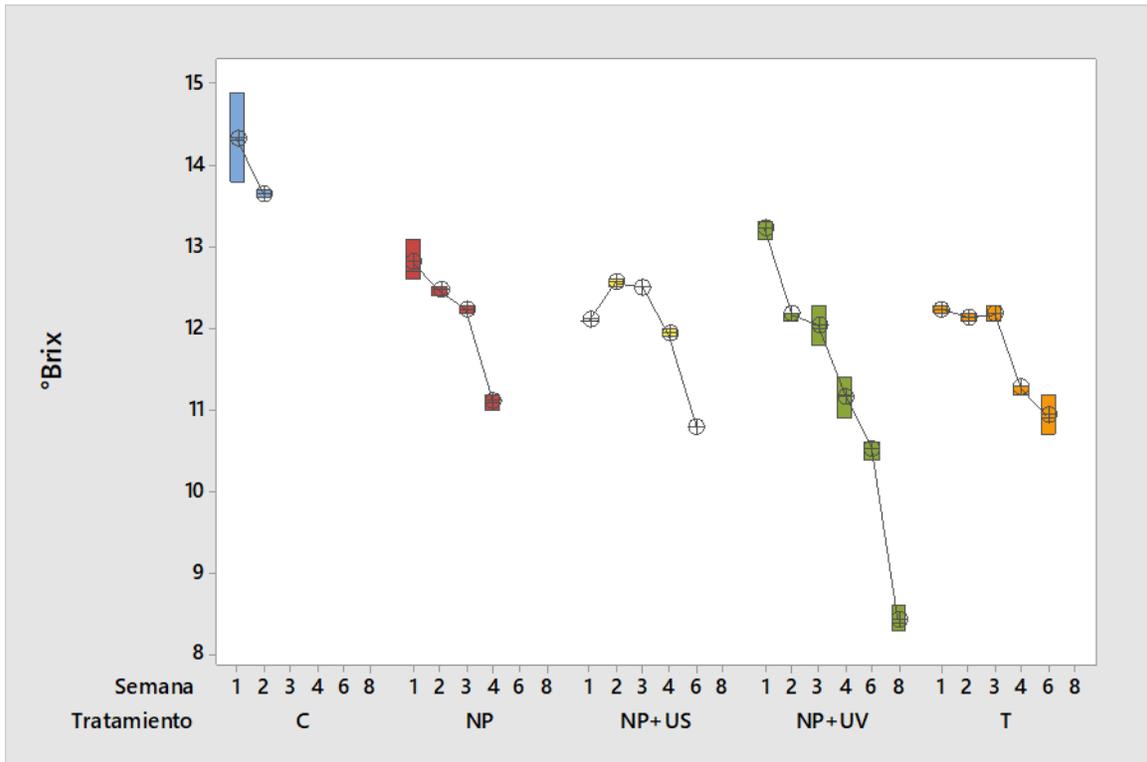


Figura 11. Cambios en el contenido de solidos solubles en los diferentes tratamientos del jugo de piña.

3.2.3 Ácido ascórbico

El ácido ascórbico más conocido como vitamina C, actúa como donador de equivalentes reductores al oxidarse a ácido deshidroascorbico. La vitamina C participa en la absorción del hierro en el organismo y este puede formar quelatos de bajo peso molecular (Reyes et al, 2009). La Figura 12 muestra el comportamiento de la concentración de ácido ascórbico en el jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados. El ANOVA realizado demostró que los diferentes tratamientos tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) a excepción del tratamiento NP+UV el cual no presentó un efecto significativo ($p > 0.05$).

Como se observa en la Figura 12, el valor inicial del tratamiento NP para la concentración de ácido ascórbico es el más alto (218 mg/100 mL) y el tratamiento en el que hay un menor incremento semana a semana. El valor inicial más bajo lo obtuvo el tratamiento T teniendo un valor aún más bajo que el valor inicial de la muestra control (151 mg/100 mL), aunque los valores finales de la concentración de ácido ascórbico se asemejan a los valores de las demás muestras a la misma semana.

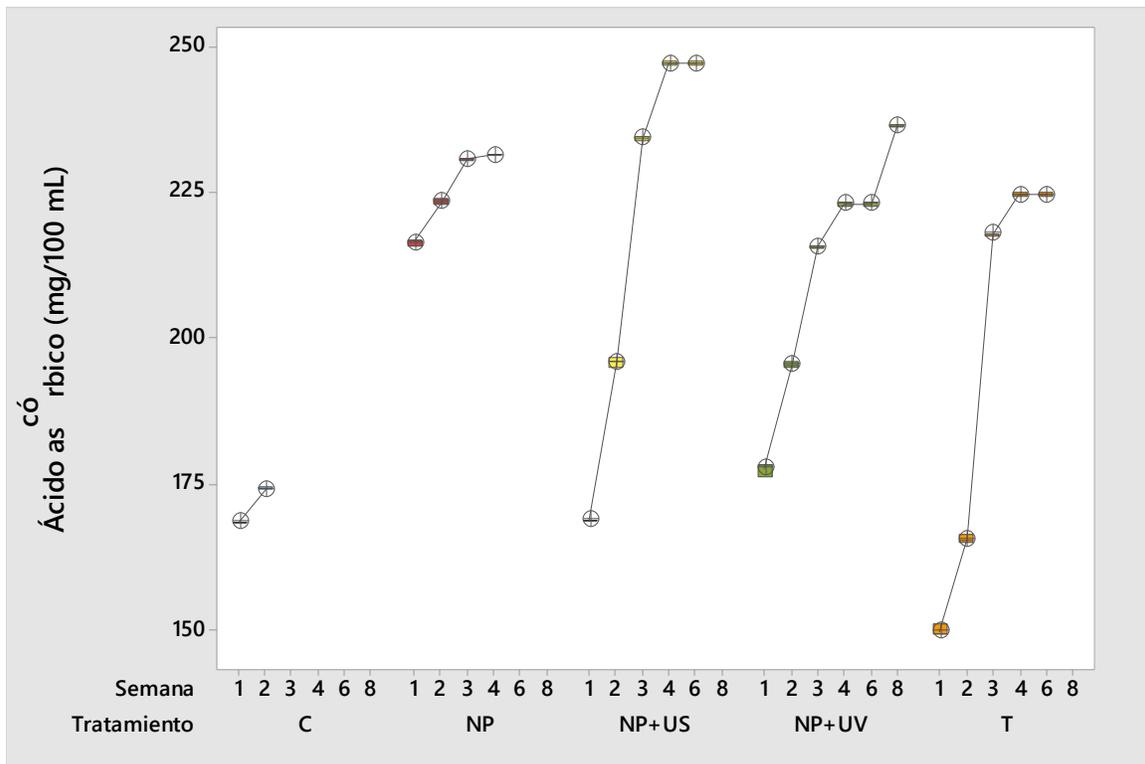


Figura 12. Cambios en la concentración de ácido ascórbico de los jugos de piña durante su almacenamiento refrigerado.

El tratamiento NP+US es el que presento mayor diferencia en la concentración de ácido ascórbico de una semana a otra, pero fue el que tuvo el valor más alto en la concentración. El tratamiento NP+UV mantuvo casi constante la concentración entre la semana 4 y 6 al que los demás tratamientos, pero a la semana 8 tuvo de nuevo un incremento en la concentración de ácido ascórbico además de ser el tratamiento en que fue más constante el incremento de ácido ascórbico. El ANOVA también demostró que el tiempo de almacenamiento del jugo de piña en refrigeración fue significativo ($p < 0.05$) para todos los tratamientos aplicados al jugo.

3.2.4 Carotenoides totales

La Figura 13, muestra el comportamiento de la concentración de carotenoides en el jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados. El ANOVA evidencio que el tratamiento NP+UV no tuvo un efecto significativo ($p>0.05$), mientras que los demás tratamientos si tuvieron un efecto significativo ($p<0.05$), como se puede observar en la figura 6 los valores iniciales de la concentración de carotenoides en todas las muestras se encuentran por debajo de la muestra control, teniendo el valor más bajo disminuyendo en un 12% del valor inicial de la muestra control.

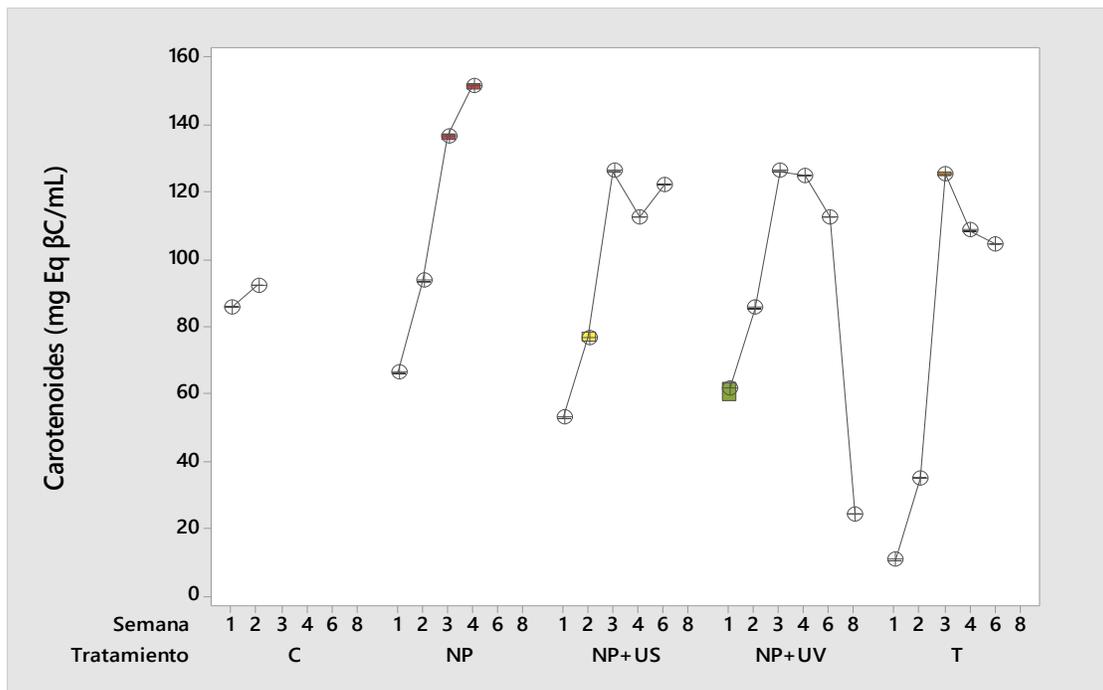


Figura 13. Cambios en la concentración de carotenoides de los jugos de piña durante su almacenamiento refrigerado.

El aumento en la concentración de carotenoides se debe a que los tejidos expuestos a la luz UV-C tienden a la regeneración como medio de respuesta a daños externos. Esto es consistente a los estudios realizados por Sankari et al., (2017) en el análisis del efecto de la radiación UV-C y sus implicaciones en la ruta de los carotenoides en

Bixaorellana L, donde el aumento en la concentración de β -caroteno pasa de 1.583 a 3.0 (unidades no reportadas).

La importancia de los carotenoides en los alimentos va más allá de su rol como pigmentos naturales, ya que a estos compuestos se les han atribuido funciones y acciones biológicas, además de estar relacionados con un mejoramiento del sistema inmune y una disminución del riesgo de enfermedades degenerativas tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares, esto se debe a que los carotenoides poseen actividad antioxidante, a través de la desactivación de los radicales libres y a la capturar el oxígeno singlete (Barba et al., 2006)

3.2.5 Capacidad antioxidante

3.2.6 ABTS

Entre los métodos utilizados para determinar la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres, se encuentra el método ABTS que es uno de los métodos más aplicados, ya que se considera un método de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable (Antioxidante et al., 2005). La Figura 14, muestra la evolución de la capacidad antioxidante determinado por el método ABTS. El ANOVA realizado mostro que hay efecto significativo ($p < 0.05$) para los tratamientos C y NP, mientras que para los tratamientos NP+US, NP+UV y T no hay efecto significativo ($p > 0.05$). El incorporar al jugo de piña nanopartículas con extracto de *Eysenhardtia polystachya* causa un efecto favorable debido a que el extracto y las nanoesferas formadas con quitosán contienen fenoles.

El contenido de fenoles está relacionado con la capacidad antioxidante ya que a mayor concentración de fenoles se tendrá mayor capacidad antioxidante, esto se debe a que los fenoles tienen un carácter marcadamente antioxidante, ya que experimentan la

oxidación antes que otras especies susceptibles a ser oxidadas (González-Reza, 2017). Este efecto se puede apreciar a partir de la segunda semana, esto puede deberse a que las nanopartículas tardaron en estabilizarse.

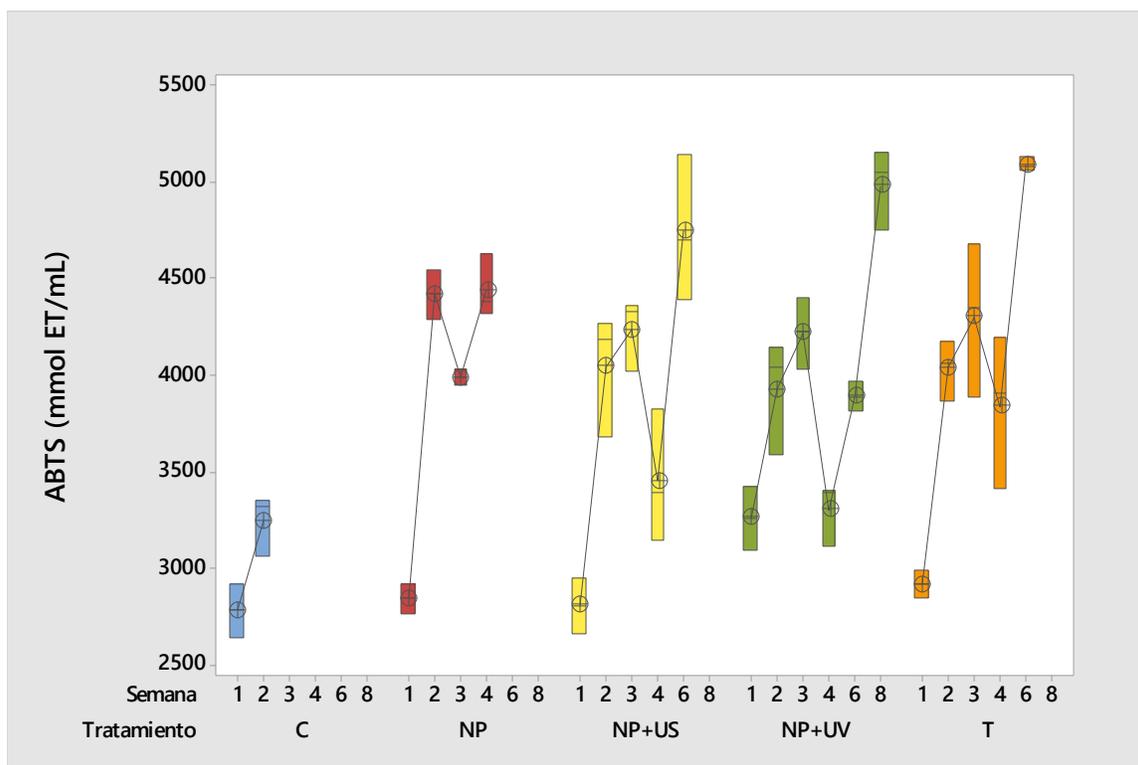


Figura 14. Capacidad antioxidante (ABTS) en los tratamientos aplicados a jugo de piña en almacenamiento refrigerado.

En el tratamiento NP+UV se puede observar un incremento desde la primera medición, lo que demuestra que es más fácil la estabilización del medio nanoparticulado al sistema utilizando luz UV-C como método de pasteurización, además de que a la semana 8 sigue incrementando su capacidad antioxidante determinada por ABTS. El tiempo en refrigeración de acuerdo al ANOVA realizado no tienen efecto significativo ($p > 0.05$) en la semana 2 y 3.

3.2.7 DPPH

El 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es un radical libre estable que tiene un electrón de valencia desapareado en un átomo de puente de hidrogeno, por lo que la eliminación del radical DPPH es la base del método, el radical libre es susceptible de reaccionar con compuestos antioxidantes a través de un proceso caracterizado por la cesión de un átomo de hidrogeno proporcionado por el agente antioxidante (Sharma & Bhat, 2009).

En la Figura 15, se observa el comportamiento de la capacidad antioxidante determinada por el método DPPH en los diferentes tratamientos aplicados al jugo de piña. El ANOVA realizado evidenció que todos los tratamientos tienen un efecto significativo ($p < 0.05$), a excepción del tratamiento NP+US el cual no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$), mientras que el tiempo de almacenamiento refrigerado tuvo un efecto significativo en todos los casos.

En las muestras analizadas se puede observar un incremento en la capacidad antioxidante determinado por DPPH a partir de la primera semana, este incremento es mayor en las muestras en las que se aplicó luz UV-C como parte del tratamiento aplicado al jugo de piña, este incremento es mayor en el tratamiento NP+UV, en general el comportamiento de la capacidad antioxidante es muy similar en los tratamientos a los que se le agregó nanopartículas con *Eysenhardtia polystachya*, teniendo valores muy similares a partir de la semana 2.

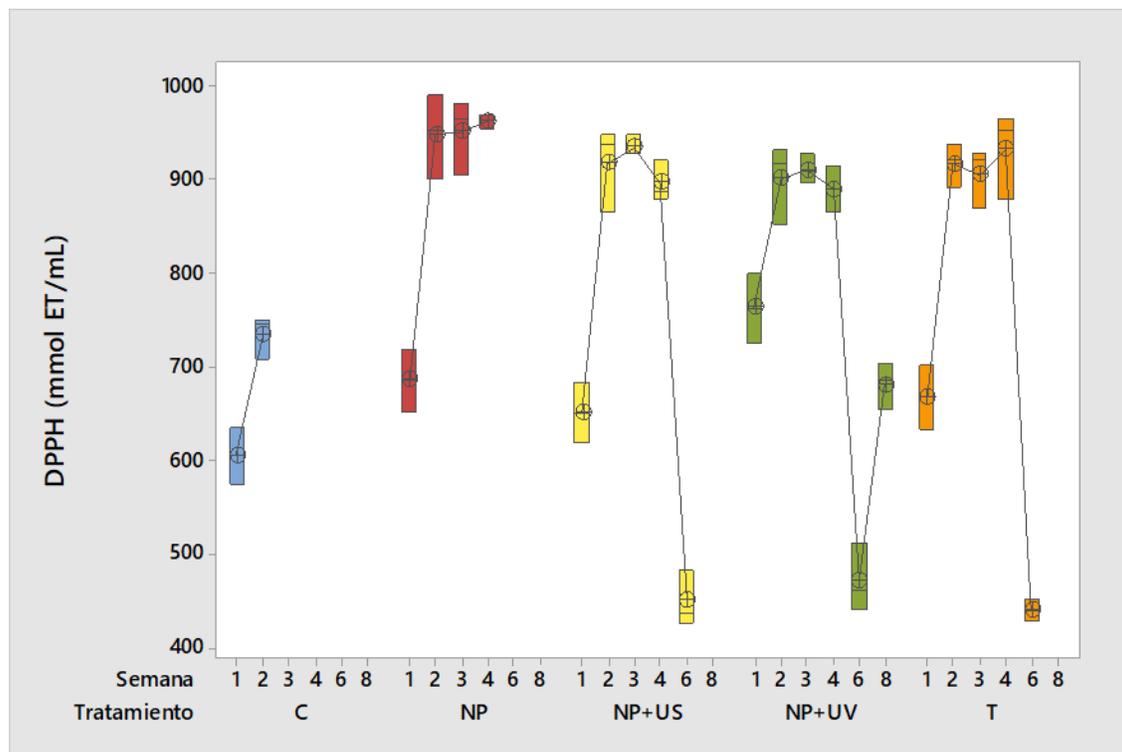


Figura 15. Capacidad antioxidante (DPPH) en los tratamientos aplicados a jugo de piña en almacenamiento refrigerado.

Estudios realizados por González-Reza, (2017) en bebidas funcionales de manzana, aseguran que la capacidad antioxidante determinada por DPPH es mayor cuando se agregan nanoestructuras de quitosán-EP, dado a que además de que los flavonoides confieren capacidad antioxidante, ya es bien conocido que el quitosán posee propiedades antioxidantes, las cuales se reflejan en la conservación de fitoquímicos importantes como lo son el ácido ascórbico y el β -caroteno, discutidos anteriormente.

3.2.8 FRAP

Es una prueba simple que mide la capacidad de reducción férrica, es decir evalúa la capacidad antioxidante de un compuesto mediante la reducción del ion ferroso (Benzie & Strain, 1996). En la Figura 16, se observa el comportamiento de la capacidad antioxidante determinada por FRAP, en la cual los valores obtenidos son menores a los determinados por ABTS en una proporción del 10%. El ANOVA realizado mostro que hay un efecto significativo ($p > 0.05$) para todos los tratamientos empleados en el jugo de piña, se puede observar en la Figura 16, que la capacidad antioxidante incremento desde la primer medición en comparación con el tratamiento control, y que los tratamientos en los que se utilizó nanopartículas con *Eysenhardtia polystachya* la capacidad antioxidante tuvo el mismo comportamiento, teniendo dos incrementos uno en la semana 2 y otro en la semana 6, esto se debe a que las nano esferas liberan el activo con respecto al tiempo, prueba de ello es el hecho de que las muestras a las que se les agrego dicho tratamiento perduraron por más tiempo refrigeradas a diferencia de la muestra control.

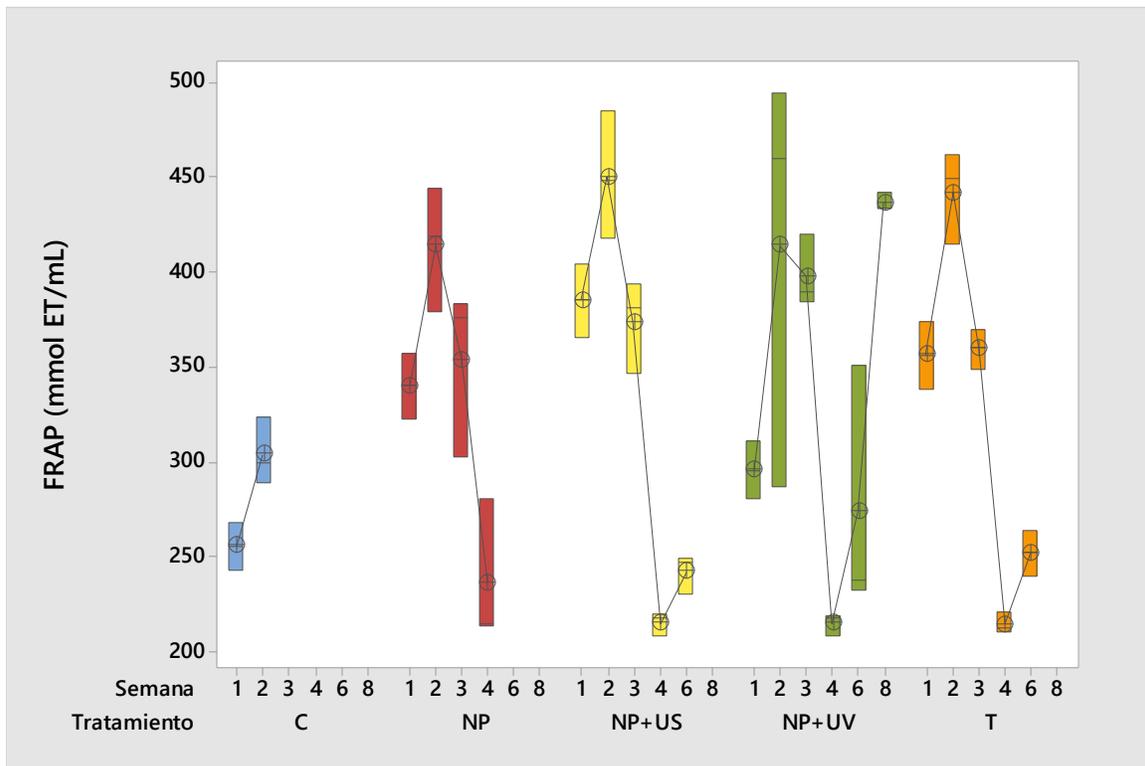


Figura 16. Capacidad antioxidante (FRAP) en los tratamientos aplicados a jugo de piña en almacenamiento refrigerado.

A pesar de que en todos los tratamientos hay una disminución de la capacidad antioxidante, aun en la semana 6 se puede reportar un valor de la actividad antioxidante el aplicar nanopartículas con *Eysenhardtia polystachya* sigue teniendo un efecto sobre el jugo evitando que se oxiden compuestos que pueden favorecer la descomposición del jugo. Existen pocos estudios sobre piña que son sometidos a este tipo de tratamientos, (Yeoh & Ali, 2017) reportaron que, para piña tratada con ultrasonido a bajas temperaturas, se reducía la capacidad antioxidante determinada por el método FRAP, presentando una tendencia a disminuir, lo que concuerda con los datos obtenidos en este trabajo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La aplicación de nanotecnología junto con luz ultra violeta, ultra sonido y refrigeración son una alternativa de conservación en productos mínimamente procesados ya que ayudan a conservar características propias del jugo, por esta razón dichos métodos son sujeto de diversos estudios tanto en jugos como en frutos, con el fin de encontrar una tecnología emergente combinada que sea apropiada para la conservación de los productos.
- En general, todos los tratamientos demostraron tener efecto positivo sobre el jugo de piña pasteurizado ya que todos alargaron la vida útil de este, pero el mejor tratamiento fue NP+UV, ya que incremento la vida de anaquel del jugo en un 400%, esto se ve reflejado en los valores de retención de capacidad antioxidante.
- Se demostró que los tratamientos de pasteurización en frio no afectan características propias del jugo ya que en comparación con el tratamiento control los demás tratamientos no presentan un cambio significativo en los resultados de pH y solidos solubles, además de carotenoides totales.
- La utilización en conjunto de nanopartículas con un compuesto que presenta capacidad antioxidante y un método de pasteurización en frio (métodos combinados) presentan mejores resultados en comparación de la utilización de los métodos de conservación por si solos.

- Se debe realizar un análisis acerca de la concentración de extracto que se libera con respecto al tiempo en la bebida funcional, además de determinar que concentración de extracto de *E. Polystachya* se encuentra presente, para el posible análisis y correlación con otros parámetros de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, L. F. M. (2018). Producción y rendimiento del cultivo de la piña (*ananas comosus*) en Costa Rica, periodo. *REVISTA E-AGRONEGOCIOS*, 4(2).
- Alvarez, L., & Delgado, G. (1999). C-and O-glycosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry*, 50(4), 681-687.
- Alvarez, L., Rios, M. Y., Esquivel, C., Chávez, M. I., Delgado, G., Aguilar, M. I., ... & Navarro, V. (1998). Cytotoxic Isoflavans from *Eysenhardtia polystachya*. *Journal of Natural Products*, 61(6), 767-770.
- Amidi, M., Mastrobattista, E., Jiskoot, W., & Hennink, W. E. (2010). Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(1), 59-82.
- Ashwell, M. (2004). Conceptos sobre los alimentos funcionales. ILSI Europe.
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172.
- Barba, A. O., Hurtado, M. C., Mata, M. S., Ruiz, V. F., & De Tejada, M. L. S. (2006). Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95(2), 328-336.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Calvo, P., Remunan-Lopez, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*, 63(1), 125-132.
- Cardero Reyes, Y., Sarmiento González, R., & Selva Capdesuñer, A. (2009). Importancia del consumo de hierro y vitamina C para la prevención de anemia ferropénica. *Medisan*, 13(6).

- Carné, S. (1997). Carotenoides en reproductoras para la protección antioxidante e inmunomoduladora de los pollitos, (2013), 1-4.
- Castañeda, B. C., Llica, E. R., & Vasquez, L. I. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico (Lima)*, 8(1), 56-72.
- Cerrato, I. (2013). Panorama mundial de la piña. Pronagro.premperhn.com
- CODEX STAND 247-2005, Standard, T. (2005). CODEX STAN 247 Página 1 de 21, 1-21.
- Domínguez, L., & Parzanese, M. (2009). Luz Ultravioleta en Alimentos. *Alimentos Argentinos. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Gobierno Argentino*, 1(1), 71-73.
- Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 363(1), 1-24.
- Ebel, A. I., Itati Giménez, L., González, A. M., & Alayón Luaces, P. (2016). Evaluación morfoanatómica de hojas " D" de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr. var. *comosus*) en respuesta a la implantación de dos sistemas de cultivo en Corrientes, Argentina. *Acta Agronómica*, 65(4), 390-397.
- Ferreira-García, M. G., Hernandez-Martinez, A. R., Esparza, R., Molina, G. A., Rodriguez-Melgarejo, F., Jiménez, S., & Estevez, M. (2017). Effects of extraction solvents on photoluminescent properties of *eysenhardtia polystachia* and their potential usage as biomarker. *Materials Science and Engineering: C*, 72, 42-52.
- Fonseca-García, L., Calderón-Jaimes, L. S., & Rivera, M. E. (2014). Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia). *Vitae*, 21(3).
- García, M. D., & Serrano, H. (2005). La piña, *Ananas comosus* (L.) Merr.(Bromeliaceae), algo más que un fruto dulce y jugoso. *Contacto S*, 56, 55-61.
- González-Reza, R. M. (2017). *Síntesis y funcionalización de nanoestructuras con compuestos fluorescentes extraídos de Eysenhardtia polystachya para su aplicación en una bebida funcional*. IPN.

- González-Reza, R. M., Quintanar-Guerrero, D., Del Real-López, A., Piñon-Segundo, E., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2018). Effect of sucrose concentration and pH onto the physical stability of β -carotene nanocapsules. *LWT*, 90, 354-361.
- González-Reza, R. M., Quintanar-Guerrero, D., Flores-Minutti, J. J., Gutiérrez-Cortez, E., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2015). Nanocapsules of β -carotene: Thermal degradation kinetics in a scraped surface heat exchanger (SSHE). *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 124–130.
- Gutiérrez, R. M. P., Solís, R. V., Dueñas, L. M. G., & Badillo, L. D. (2002). Efecto de isoflavonas aisladas de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* sobre el crecimiento de cristales de oxalato y fosfato de calcio urinario. *Boletín del Colegio Mexicano de Urología*, 17(3), 134-139.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. E., & Benoit, J. P. (2003). Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24(23), 4283-4300.
- Histórica, B. R. (2006). Acción farmacológica, biofísicoquímica y estructura dinámica de la vitamina C. *Acta Farm. Bonaerense*, 25(1), 145-54.
- Hoover, D. G. (2000). Ultrasound. *Journal of Food Safety*, 65(8), 93-95.
- Koutchma, T. (2008). UV light for processing foods. *Ozone: Science and Engineering*, 30(1), 93-98.
- Lechford, K., Burt, H., 2007. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures. Micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *Eur J. Pharm. Biopharm.* 65, 259-569.
- Letchford, K., & Burt, H. (2007). A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65(3), 259-269.
- López-Díaz, A., Palou, E., & López-Malo, A. (2012). Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2), 79-93.

- Lupano, C. E. (2013). Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento. *Buenos Aires (Argentina): Universidad Nacional de La Plata.*
- Macrae, R., R.K. Robinson and M.J. Sadler, 1993. Wine. In: Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition. Harcourt Brace Jovanovich Publishers, New York, 4921-4946.
- Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A., & Lopez-Buesa, P. (2005). Application of ultrasound. In *Emerging technologies for food processing* (pp. 323-351). Academic Press.
- Matsukawa, S., & Watanabe, T. (2007). Gelation mechanism and network structure of mixed solution of low-and high-acyl gellan studied by dynamic viscoelasticity, CD and NMR measurements. *Food Hydrocolloids*, 21(8), 1355-1361.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 385(1-2), 113-142.
- Narváez-Mastache, J. M., Garduño-Ramírez, M. L., Alvarez, L., & Delgado, G. (2006). Antihyperglycemic activity and chemical constituents of *Eysenhardtia platycarpa*. *Journal of Natural Products*, 69(12), 1687-1691.
- Narváez-Mastache, J. M., Novillo, F., & Delgado, G. (2008). Antioxidant aryl-prenylcoumarin, flavan-3-ols and flavonoids from *Eysenhardtia subcoriacea*. *Phytochemistry*, 69(2), 451-456.
- Narváez-Mastache, J. M., Soto, C., & Delgado, G. (2007). Antioxidant evaluation of *Eysenhardtia* species (Fabaceae): Relay synthesis of 3-O-Acetyl-11 α , 12 α -epoxy-oleanan-28, 13 β -olide isolated from *E. platycarpa* and Its Protective Effect in Experimental Diabetes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(8), 1503-1510.
- Narváez-Mastache, J.M., Delgado, G., Garduño-Ramírez, M.L., Alvarez,L., 2003. Constituyentes bioactivos de *Eysenhardtia platycarpa* (Fab-aceae). *Journal of the Mexican Chemical Society*. 47 (Special issue 1), 149.
- Noriega-Peláez, E. K., Mendoza-Muñoz, N., Ganem-Quintanar, A., & Quintanar-Guerrero, D. (2011). Optimization of the emulsification and solvent

- displacement method for the preparation of solid lipid nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37(2), 160-166.
- Perez-Gutierrez, R. M., Garcia-Campoy, A. H., & Muñiz-Ramirez, A. (2016). Properties of flavonoids isolated from the bark of *eysenhardtia polystachya* and their effect on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetes mellitus in mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Programa, E. L., & Alimentos, U. D. E. (1968). Ananas Sativus, Ananas Comosus), 1-5.
- Quintanar, D., Alleman, E., Fessi, H., Doelker, E., 1998a. Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, 1113-1128.
- Ramírez, A., & Pacheco de Delahaye, E. (2011). Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*, 36(1).
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*. Tata McGraw-Hill Education.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rebolledo Martínez, A., del Ángel Pérez, A. L., Rebolledo Martínez, L., Becerril Román, A. E., & Uriza-Ávila, D. (2006). Rendimiento y calidad de fruto de cultivares de piña en densidades de plantación. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29(1).
- Robles-Ozuna, L. E., & Ochoa-Martínez, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 13(2).
- Rodríguez, R., Becquer, R., Pino, Y., López, D., Rodríguez, R. C., Lorente, G. Y., ... & González, J. L. (2016). Producción de frutos de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) MD-2 a partir de vitroplantas. *Cultivos Tropicales*, 37, 40-48.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (1999). Carotenoides y preparación de alimentos: La retención de los Carotenoides Provitamina A en alimentos preparados,

- procesados y almacenados (p. 99). Agencia para el Desarrollo Internacional de los Estados Unidos.
- Rojas, J., Gordillo, C., Guerrero, N., Izáziga, N., Laguna, B., & Lázaro, M. (2012). Efecto de la proporción de naranja (*Citrus sinensis*), papaya (*Carica papaya*) y piña (*Ananas comosus*) en la aceptabilidad sensorial de un néctar mixto. *Agroindustrial Science*, 2(2), 132-138.
- Sandoval, E. A. (2011). Programa Estratégico para el Desarrollo Rural Sustentable de la Región Sur-Sureste de México: Trópico Húmedo 2011. *Paquete Tecnológico Palma de Aceite (AlaegisguinnensisJacq.) Establecimiento y mantenimiento. SAGARPA. INIFAP, México.*
- Sankari, M., Hridya, H., Sneha, P., Doss, C. G. P., & Ramamoorthy, S. (2017). Effect of UV radiation and its implications on carotenoid pathway in *Bixa orellana* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 176, 136-144.
- Sharma, O. P., & Bhat, T. K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Sozer, N., & Kokini, J. L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in biotechnology*, 27(2), 82-89.
- Wächter, G. A., Hoffmann, J. J., Furbacher, T., Blake, M. E., & Timmermann, B. N. (1999). Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochemistry*, 52(8), 1469-1471.
- Wang, J. J., Zeng, Z. W., Xiao, R. Z., Xie, T., Zhou, G. L., Zhan, X. R., & Wang, S. L. (2011). Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 765.
- Xammar Oro, J. R. D., & Donnamaría, M. C. (2006). Acción farmacológica, biofísicoquímica y estructura dinámica de la vitamina C. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 25.
- Yeoh, W. K., & Ali, A. (2017). Ultrasound treatment on phenolic metabolism and antioxidant capacity of fresh-cut pineapple during cold storage. *Food Chemistry*, 216, 247-253.

- Zambrano-Zaragoza, M., González-Reza, R., Mendoza-Muñoz, N., Miranda-Linares, V., Bernal-Couoh, T., Mendoza-Elvira, S., & Quintanar-Guerrero, D. (2018). Nanosystems in edible coatings: A novel strategy for food preservation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), 705.
- Zhao, Y. (2012). *Specialty foods: processing technology, quality, and safety*. CRC Press