



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

**Efecto del ultrasonido sobre compuestos  
bioactivos y actividad enzimática de jugo  
de zanahoria adicionado con  
nanocápsulas de aceite de limón**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERO EN ALIMENTOS**

PRESENTA:

**JAVIER HERNÁNDEZ SANTOS**

ASESORES:

**DR. RICARDO MOISÉS GONZÁLEZ REZA**

**DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA**

**CUAUTITLÁN IZCALLI EDO. DE MÉXICO 2022**



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  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN**

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

**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**



**ATN: DRA. MARIA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO**  
Jefa del Departamento de Titulación  
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 la: Tesis y examen profesional

**Efecto del ultrasonido sobre compuestos bioactivos y actividad enzimática de jugo de zanahoria adicionado con nanocápsulas de limón.**

Que presenta el pasante: **Javier Hernández Santos**

Con número de cuenta: **311173754** para obtener el título de: Ingeniero 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 14 de Marzo de 2022.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
<b>VOCAL</b>	M. en C. Julieta González Sánchez	
<b>SECRETARIO</b>	Dr. Ricardo Moisés González Reza	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. Araceli Ulloa Saavedra	
<b>2do. SUPLENTE</b>	I.A. Virginia López García	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/javg

## **EL PRESENTE PROYECTO FUE FINANCIADO POR:**

- El proyecto **PAPIIT IN222520**, “Manufactura, evaluación, caracterización y uso de sistemas nanoestructurados en el incremento de vida útil de alimentos”.
- El proyecto **PAPIME PE206421** de la UNAM: “Enseñanza, implementación de metodologías y elaboración de material audiovisual sobre procesos no térmicos como alternativa y área de oportunidad en la conservación de alimentos”.

## **LUGAR DE REALIZACIÓN DE LA TESIS:**

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

## AGRADECIMIENTOS

A mi madre y padre, no existen palabras de gratitud y amor para ustedes dos, siempre anhelábamos este momento y hoy por fin concluye. Doy gracias a la vida de tenerlos y de que estemos juntos, nada de lo que he logrado sería sin ustedes, son el motor y ejemplo de mi vida, siempre han estado para mí en todo momento, un consejo, un aliento, un regaño, su amor y comprensión. No tengan duda que nunca los voy a decepcionar y que siempre voy a dar lo mejor de mí para que ustedes estén orgullosos, sé que este es uno de los muchos logros que tendremos juntos. Infinitas gracias, los amo.

A mi familia, gracias por estar en los momentos buenos y malos de la vida, por el apoyo que siempre han mostrado, por esas palabras de aliento y buenos consejos. Los quiero.

A mis amigos de la FES, CCH y Logia, sin ustedes este camino hubiera sido muy distinto, compartimos grandes momentos juntos y siempre estuvieron en este largo viaje, son la familia que uno escoge, me quedo con todos esos lindos recuerdos y con lo mejor de ustedes.

Al Dr. Ricardo, muchas gracias por el apoyo que me brindo, por la confianza y paciencia que tuvo conmigo, desde que lo conozco siempre me ha extendido la mano, le agradezco mucho, sabe que tiene un amigo.

A mi querida UNAM, gracias por existir, por ser mi segunda casa, por albergarme día a día y formarme como profesionista, siempre dejare en alto tu nombre, la mejor decisión que pude tomar es haber escogido el CCH Vallejo y FES Cuautitlán el principio y fin de esta etapa.

“Por mi raza hablará el espíritu”

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	4
1.1 Onda acústica	4
1.1.1 Definición	5
1.1.2 Parámetros de onda	5
1.2 Ultrasonido	6
1.2.1 Clasificación del ultrasonido	7
1.2.2 Ultrasonido de Baja intensidad	8
1.2.3 Ultrasonido de Alta intensidad	8
1.2.4 Efectos físicos del ultrasonido	8
1.2.5 Cavitación	9
1.2.6 Efectos químicos del ultrasonido	11
1.2.7 Generalidades de un sistema ultrasónico	11
1.2.8 Equipos Ultrasónicos	12
1.2.9 Baño ultrasónico	12
1.2.10 Sonda Ultrasónica	13
1.3 Conservación en los alimentos	14
1.4 Aplicación de Ultrasonido en los alimentos	15
1.4.1 Ultrasonido en actividad enzimática	17
1.5 Zanahoria	18
1.5.1 Composición y uso	19
1.5.2 Producción de zanahoria	20

1.6	Compuestos bioactivos	21
1.6.1	Carotenoides	22
1.6.2	Ácido ascórbico	24
1.6.3	Fenoles	25
1.7	Actividad enzimática	26
1.7.1	Pectinmetilesterasa (PME)	27
1.7.2	Polifenoloxidasas (PFO)	28
1.7.3	Peroxidasas (POD)	29
1.8	Nanotecnología	30
1.8.1	Aplicaciones en la ciencia de alimentos	30
1.8.2	Encapsulación de nutraceuticos	31
1.8.3	Nanocapsulas	34
1.9	Aceites esenciales	38
2	CAPITULO II. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	39
2.1	Objetivos	39
2.1.1	Objetivo general	39
2.1.2	Objetivos particulares	39
2.2	Materiales y métodos	40
2.2.1	Elaboración del jugo de zanahoria	40
2.2.2	Sonicación del jugo de zanahoria	40
2.2.3	Formación de las nanocapsulas	41
2.2.4	Dispersión dinámica de luz y movimiento electroforético	41
2.2.5	Potenciometría	42
2.2.6	Refractometría	42
2.2.7	Colorimetría	42

2.2.8	Turbidimetría	42
2.2.9	Ácido ascórbico	43
2.2.10	Carotenoides totales	43
2.2.11	Fenoles totales	44
2.2.12	Pectinmetilesterasa (PME)	44
2.2.13	Polifenoloxidasa (PPO)	45
2.2.14	Peroxidasa (POD)	45
2.3	Análisis Estadístico	46
3	CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS	47
3.1	Caracterización del sistema nanoestructurado	47
3.2	Carotenoides totales	48
3.3	Ácido Ascórbico	50
3.4	Turbidez	51
3.5	Color ( $\Delta E$ )	53
3.6	Polifenoloxidasa (PPO)	55
3.7	Peroxidasa (POD)	56
3.8	Pectinmetilesterasa (PME)	58
3.9	Fenoles totales	60
3.10	Sólidos Solubles y pH	62
	CONCLUSIONES	64
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Parámetros de onda.	6
Figura 2. Intervalos de frecuencia de sonido.	6
Figura 3. Mecanismo de acción de la cavitación.	9
Figura 4. Reacciones sonoquímicas.	11
Figura 5. Baño Ultrasónico.	13
Figura 6. Sonda Ultrasónica.	14
Figura 7. Variedad de zanahoria.	18
Figura 8. Producción de zanahoria en México.	21
Figura 9. Grupos de compuestos bioactivos.	22
Figura 10. Diferencias químicas de carotenoides.	23
Figura 11. Estructura química del ácido ascórbico.	24
Figura 12. Estructura química del ácido galico.	25
Figura 13. Estructura química del flavonoide.	26
Figura 14. Diagrama de cubo para la actividad de carotenoides totales.	49
Figura 15. Diagrama de Pareto para la actividad de ácido ascórbico.	50
Figura 16. Diagrama de efectos mínimos para la turbidez.	52
Figura 17. Diagrama de Pareto para el cambio de color total ( $\Delta E$ ).	54
Figura 18. Diagrama de Pareto para el efecto en polifenoloxidasas (PPO).	55
Figura 19. Diagrama de efectos mínimos para efecto en peroxidasa (POD).	57
Figura 20. Diagrama de interacción para efecto de pectinmetilesterasa (PME).	59
Figura 21. Diagrama de interacción para polifenoles totales.	61
Figura 22. Diagrama de efectos mínimos para sólidos solubles y diagrama de interacción para pH.	62

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tipo de ondas	4
Tabla 2. Clasificación del Ultrasonido	7
Tabla 3. Aplicaciones de ultrasonido en la industria alimentaria	16
Tabla 4. Composición química de la zanahoria	19
Tabla 5. Diseño de la aplicación de ultrasonido	40
Tabla 6. Características de las nanocápsulas de $\alpha$ -tocoferol	47

## RESUMEN

El empleo de métodos alternativos al tratamiento térmico para la conservación de alimentos, con el uso de las denominadas tecnologías emergentes, ha logrado mayor auge actualmente. Las tecnologías en los alimentos buscan satisfacer las necesidades del consumidor para obtener productos frescos, de alta calidad y de inocuidad adecuada.

El empleo de ultrasonido (US) en el procesamiento de Alimentos está basado en la ventaja que representa sobre los procesos tradicionales, al reducir tiempos de proceso y mejorar atributos de calidad.

En el presente trabajo se evaluó el efecto de la aplicación de ultrasonido en un jugo de zanahoria adicionado con nanocápsulas de aceite de limón. Las condiciones de operación aplicadas fueron control, se variaron a diferentes tiempos (1, 1.5 y 2 min) y potencia (30, 45 y 60 kW). Para determinar el efecto del tratamiento se midieron parámetros fisicoquímicos (pH y sólidos solubles) y físicos (color y turbidez), como mediadas de calidad del jugo, químicas (ácido ascórbico, carotenoides totales, y polifenoles totales) en pérdidas de compuestos bioactivos y actividad enzimática (PPO, POD y PME).

Los resultados obtenidos, se analizaron y compararon con una muestra control donde el tiempo de exposición y la potencia empleada tuvo un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) sobre los parámetros estudiados, donde los resultados fueron positivos ya que en el caso de parámetros de calidad no hubo un cambio significativo. En el caso de los parámetros sobre compuestos bioactivos hubo un efecto significativo donde se vieron beneficiados al aumentar su porcentaje de concentración, por otro lado, en el caso de la actividad enzimática también hubo un efecto significativo al disminuir su porcentaje de concentración sobre sus parámetros.

## INTRODUCCIÓN

Los alimentos que tienen propiedades de mejorar el estado de salud o prevenir enfermedades se les conoce como alimentos funcionales, en los cuales están presentes los compuestos bioactivos como la fibra dietética, vitamina C, carotenos, betalaínas, tocoferoles, ácidos grasos insaturados, esteroides, clorofilas, etc., que además de que pueden cumplir con un papel nutrimental pueden tener efectos benéficos en la salud, al presentar efectos antioxidantes, hipocolesterolémicos e hipoglucémicos (Kris-Etherton *et al.*, 2002).

La zanahoria es un alimento adecuado desde el punto de vista nutricional, ya que es una fuente importante de vitaminas y minerales. Su color naranja se debe a la presencia de carotenoides, entre los cuales se encuentra el  $\beta$ -caroteno, pigmento natural que el organismo transforma a vitamina A (Hernández, 2015). La zanahoria se procesa y comercializa en: crudo, sopas, ensaladas, polvo, deshidratada, aceites y jugos. Las vitaminas A, C y E forman parte de los nutrientes antioxidantes, por poseer la capacidad de proteger a las células del organismo contra la acción oxidante de los radicales libres (López, 2010).

Existen distintos métodos de conservación de alimentos que pretenden incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, aplicando técnicas innovadoras que logren inhibir alteraciones microbianas o enzimáticas que afectan la calidad del alimento. Para esto, muchos productos son tratados térmicamente, lo cual muchas veces modifica las características, tanto sensoriales (textura, sabor y color), como nutricionales (vitaminas) y reducen sustancias benéficas que conduce a la pérdida de algunos nutrientes importantes como ácido ascórbico y carotenoides del alimento (López *et al.*, 2012).

El empleo de procesos o métodos no térmicos como nuevas tecnologías a los métodos tradicionales para la conservación y calidad de los alimentos presentan un alto impacto en la industria alimentaria donde uno de ellos es el ultrasonido (Robles *et al.*, 2015).

El ultrasonido es una de las tecnologías emergentes con más investigación y desarrollo, utilizadas, principalmente para la disminución de la concentración de microorganismos y la

inhibición de la actividad enzimática, sin alterar las propiedades físicas, químicas y nutricionales de los alimentos (Delgado, 2015).

El ultrasonido ha atraído un interés considerable en ciencia y la tecnología de los alimentos, dado que este provee efectos en la conservación y en los procesos industriales. Puede ser aplicado como una de las tecnologías avanzadas para desarrollar procesos pausados pero definidos que involucran la calidad y seguridad de alimentos transformados y ofrece el potencial para mejorar los procesos existentes, así como para el desarrollo de opciones en el campo de la tecnología alimentaria (Porrás *et al.*, 2011).

Los sistemas nanoestructurados en alimentos ofrecen numerosos beneficios, incluyendo la fácil manipulación, mayor estabilidad y protección contra la oxidación del alimento (Neethirajan & Jayas, 2011).

# CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

## 1.1 Onda acústica

Los fenómenos ondulatorios se presentan en una gran cantidad de fenómenos naturales como los terremotos, las olas del mar, las ondas del sonido, la propagación de energía mediante calor o la misma luz. Todos comparten en esencia una característica, la periodicidad, es decir, un patrón que se repite una y otra vez que podemos medir en una propiedad física del sistema. Además de esto, tenemos que esta propiedad física se propaga, y con ello propaga energía, sin embargo, la materia del medio (en el caso de que use uno para transportarse) solamente oscila en su posición de equilibrio. A esta perturbación que se propaga es lo que se conoce como “onda” (French, 1971).

Las ondas se pueden clasificar de diferentes aspectos (Tabla 1):

**Tabla 1.** Tipo de ondas (French, 1971).

<b>Según la dirección de vibración de las partículas y de propagación de la onda.</b>	<b>Longitudinales:</b> Son aquellas en que las partículas vibran en la misma dirección en la que se propaga la onda.
	<b>Transversales:</b> Son aquellas en las que las partículas vibran perpendicularmente a la dirección en la que se propaga la onda.
<b>Según la dimensión de propagación de la onda.</b>	<b>Unidimensionales:</b> Las que se propagan en una sola dimensión.
	<b>Bidimensionales:</b> Las que se propagan en dos dimensiones.
	<b>Tridimensionales:</b> Las que se propagan en tres dimensiones.
<b>Según el medio que necesitan para propagarse.</b>	<b>Mecánicas:</b> Necesitan propagarse a través de la materia (sólido, líquido y gaseoso).
	<b>Electromagnéticas:</b> No necesitan medio para propagarse, se pueden propagar en el vacío.

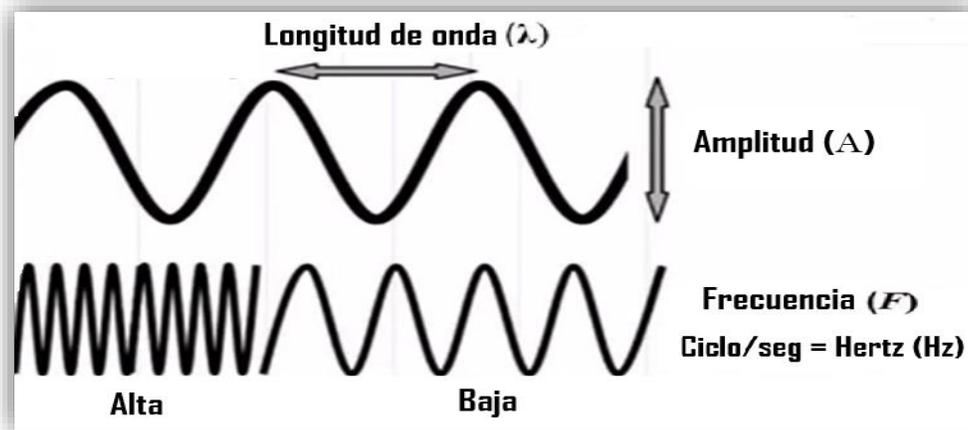
### 1.1.1 Definición

La onda acústica es una onda longitudinal y mecánica que se producen como consecuencia de una compresión del medio a lo largo de la dirección de propagación, por lo que debe existir un foco emisor que produzca las vibraciones y un medio material elástico que las propaga y sea de soporte de la perturbación.

Cuando una molécula es desplazada de su posición de equilibrio dentro de un material, esta ejerce una fuerza a las moléculas adyacentes y transmite este movimiento o energía a estas, antes de regresar a su posición estática. Las diferencias de presión generadas por la propagación del movimiento de las moléculas del medio producen en el oído humano una sensación descrita como sonido (Dedios *et al.*, 2005).

### 1.1.2 Parámetros de onda

Las ondas acústicas se definen por medio de distintos parámetros como la amplitud ( $A$ ), definida como el valor máximo que toma una magnitud oscilante en un semiperiodo; el coeficiente de atenuación ( $\alpha$ ), el cual da el valor de la disminución de la amplitud de la onda a medida que viaja a través del material, generando un esparcimiento que se da generalmente en materiales heterogéneos; la longitud de onda ( $\lambda$ ), que es la distancia de dos partículas, que estén en la misma fase; la frecuencia ( $f$ ), es entonces el número de ciclos que una molécula genera su desplazamiento durante un segundo, esto es medido en ciclos por segundo o Hertz. Una onda sónica típica, es una onda continua en las cuales las moléculas se están desplazando hacia adelante y hacia atrás, de una manera repetitiva. Cada repetición del desplazamiento de moléculas es entonces un ciclo (McClements, 1995).

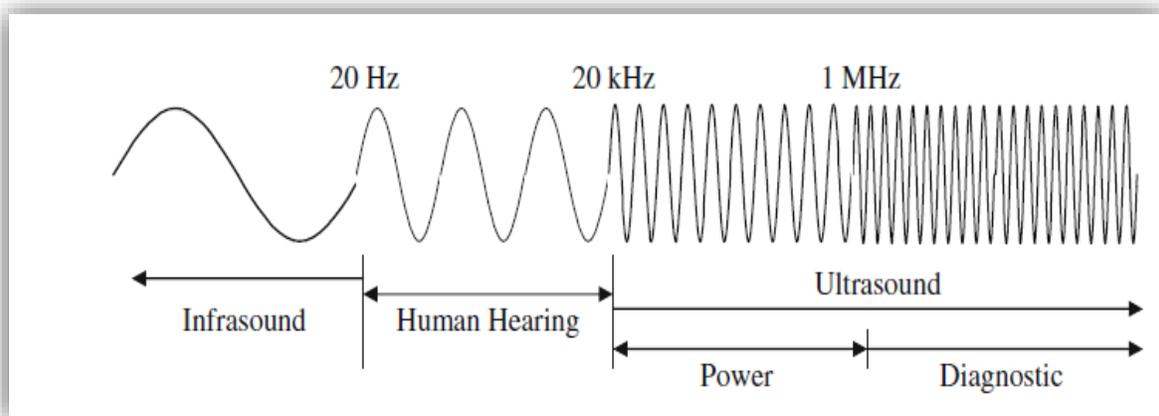


**Figura 1.** Parámetros de onda (French, 1971).

## 1.2 Ultrasonido

Cuando una cuerda de violín es vibrada por el arco, se genera una onda de presión que viaja al oído humano y se percibe como música. Todas las ondas acústicas son similares a esta; son simplemente ondas de presión longitudinales que pasan por un medio.

El tipo de onda de sonido está determinado por su frecuencia. El Infrasonido se refiere a ondas de sonido de frecuencia por debajo de las detectables por el oído humano. Esta es la zona utilizada por las ballenas y por los dispositivos de sonar submarinos (Barbosa-Cánovas, Feng & Weiss, 2011).



**Figura 2.** Intervalos de frecuencia de sonido (Gómez & López, 2009).

Ultrasonido es el nombre que reciben las ondas de sonido con frecuencias mayores a aquellas que pueden ser detectadas por el oído humano. El ultrasonido maneja ondas con frecuencias mayores a las de 20 MHz, las cuales al ser aplicadas pueden llegar hasta 5MHz en gases o hasta 500 MHz en líquidos y sólidos (Delgado, 2015).

### 1.2.1 Clasificación del ultrasonido

En toda la industria, las aplicaciones de ingeniería de ultrasonido se dividen en dos categorías distintas: baja intensidad (también llamada alta frecuencia o "no destructiva" ultrasonido) y de alta intensidad (también llamado ultrasonido de baja frecuencia o "potencia") (Tabla 2).

**Tabla 2.** Clasificación del Ultrasonido (Delgado, 2015).

Ultrasonido	
Alta Intensidad (18-100KHz)	Baja Intensidad (>100 KHz)
Procesamiento o estabilización de alimentos	Diagnóstico, control de calidad, fenómenos de relajación
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rompimiento celular</li> <li>• Cambios estructurales y fisicoquímicos</li> <li>• Homogenización de emulsiones.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecografías y aplicaciones terapéuticas</li> </ul>

La absorción de la energía acústica es especialmente importante en alimentos, debido al contenido de aire y a la bien lograda estructura de algunos productos que poseen. Las frecuencias altas son más fácilmente atenuadas que las bajas, de ahí que el Ultrasonido de alta intensidad (UAI) es aplicado a bajas frecuencias (18-100 kHz) para obtener "niveles de poder altos" mayor a 10 W/cm<sup>2</sup>, por lo que se le conoce como ultrasonido de poder. Por otro lado, el Ultrasonido de baja intensidad (UBI), utiliza frecuencias mayores (100 kHz a 1 MHz o superiores) para garantizar una adecuada resolución, pero a "niveles de poder bajos", típicamente menores a 1 W/cm<sup>2</sup> (Povey & Mason, 1998).

El poder representa la fuerza de un tratamiento o desde otra perspectiva, cuánto tratamiento experimenta un medio. En ultrasonido, el tratamiento se realiza pasando una onda ultrasónica a través del medio; por lo tanto, el poder del tratamiento está determinado por la potencia (o fuerza) de la onda ultrasónica. Los estudios demuestran que más potencia provoca mayores alteraciones en el material, al menos hasta cierto límite de potencia máxima dependiendo de las propiedades del medio (Joyce *et al.*, 2003).

### **1.2.2 Ultrasonido de Baja intensidad**

Se aplica ultrasonido de baja intensidad (no destructivo, de alta frecuencia) para la detección y caracterización de componentes de alimentos en la industria alimentaria. Es nombrado no destructivo porque este proceso envía ondas ultrasónicas a través de un medio sin causar ningún cambio físico, químico o eléctrico permanente en el medio, porque la potencia ultrasónica es demasiado baja para alterar el material (McClements, 1995).

### **1.2.3 Ultrasonido de Alta intensidad**

El ultrasonido de alta intensidad (baja frecuencia, alta potencia) se usa para destruir la estructura de las células o para mejorar o inhibir las actividades dentro de los alimentos, caracterizado por intensidades de alta potencia (Mason *et al.*, 1996). Estas intensas ondas acústicas pueden causar altas presiones dentro de los alimentos líquidos, produciendo corrientes de microburbujas que se mueven rápidamente y que provocan el colapso de las burbujas en los líquidos violentamente. Este tipo de actividades de burbujas en líquidos, respectivamente denominados cavitación inercial y no inercial, son mecanismos que afectan la propiedades físicas y químicas de los alimentos (Povey & Mason, 1998).

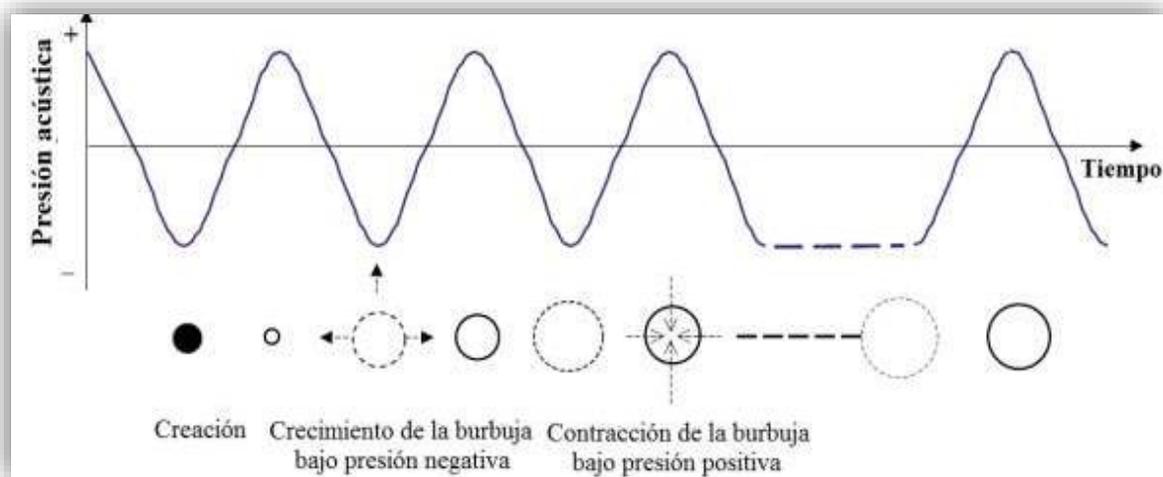
### **1.2.4 Efectos físicos del ultrasonido**

El ultrasonido simplemente representa una presión a medida que esta onda de presión pasa a través del medio, regiones de alta y baja se crean presiones. El tamaño de estas variaciones de presión, denominado amplitud generan cambios en la presión, que, si son lo suficientemente grandes, entonces el líquido puede literalmente ser "desgarrado" bajo la influencia del ultrasonido. Microburbujas de gas y forma de vapor, que alivia los esfuerzos de

tensión creados por la onda de presión donde la variación de presión acústica requerida para que esto ocurra es muy grande (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2011).

### 1.2.5 Cavitación

Cuando una onda acústica se propaga en medio líquido de forma longitudinal, se crean ciclos de compresión y expansión alternados. Cuando la presión negativa en el líquido, creada por el ciclo de expansión alternativo, es lo suficientemente menor para superar las fuerzas intermoleculares (fuerza de tensión), se forman pequeñas burbujas. Durante el subsecuente ciclo de expansión-compresión, las burbujas de gas se expanden y contraen simultáneamente. Esta formación y la evolución del tamaño de estas burbujas se conoce como cavitación. La fuerza de tensión en líquidos puros es muy alta y difícil de superar, sin embargo, la mayoría de los líquidos contienen burbujas de gas que pueden actuar como núcleos (Gómez & López, 2009).



**Figura 3.** Mecanismo de acción de la cavitación (Gómez & López, 2009).

Para ciertos tamaños de burbuja y presiones acústicas, la fase de expansión de la burbuja se extiende y es seguida por un colapso violento de nuevo a un tamaño de burbuja más pequeño a esto se conoce como "cavitación inercial". Este modo de oscilación de burbujas puede persistir durante muchos cientos de ciclos, en cuyo caso se conoce como "cavitación

transitoria estable o repetitiva". Alternativamente, si la amplitud acústica es mayor, las burbujas crecen y colapsan espectacularmente en muy pocos ciclos acústicos y la burbuja colapsada se desintegra en una masa de burbujas más pequeñas (Leighton, 1994). Estas burbujas hijas a menudo son pequeñas y se colapsan rápidamente para que ocurra la aniquilación completa de la burbuja original esto se conoce como "cavitación inestable o transitoria" (Yasui, 2002). También se pueden formar burbujas más grandes a través de la fusión de burbujas más pequeñas estas burbujas fusionadas pueden eventualmente ser de un tamaño en el que simplemente flotan lejos de la zona de sonicación a través de la influencia de la gravedad. Además, la burbuja oscilante generará fluctuaciones en velocidad y presión en el fluido circundante, esto se conoce como "Cavitación microstreaming" (Ashokkumar *et al.*, 2007).

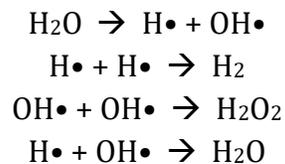
La cavitación es un evento cataclísmico: se pueden generar presiones extremadamente altas (70–100 MPa) que resultan en propagación hacia afuera ondas de choque. Esta propagación causa turbulencias severas dentro de lo inmediato alrededores (Laborde *et al.*, 1998). Estos dramáticos eventos "micro" pueden causar fácilmente que las cadenas de polímeros ruptura o las paredes celulares de plantas y animales a destruir (Price, 1990).

Los tratamientos ultrasónicos elevan la temperatura de la muestra, incluso si no hay calor externo aplicado además del ultrasonido. Cuando el transductor o la bocina envía ultrasonidos vibraciones en el medio, las oscilaciones de respuesta de las partículas del medio generan calentar con el tiempo. Las fuerzas de radiación acústica mueven los medios líquidos en ondas, generando calor a partir de este movimiento Se genera más calor cuando las ondas ultrasónicas encuentran burbujas en los líquidos; como las burbujas se ponen en esta actividad se convierte en calor mediante mecanismos de amortiguación térmica y viscosa. Además, cuando el ultrasonido de alta intensidad causa cavitación inercial en líquidos, se generan temperaturas muy altas (hasta 5,000 K) en áreas pequeñas (llamadas puntos calientes) en la muestra debido al colapso de las burbujas en el líquido (Povey & Mason, 1998).

### 1.2.6 Efectos químicos del ultrasonido

Los violentos eventos de colapso que ocurren durante la cavitación transitoria y repetitiva también pueden generar altas temperaturas, estos eventos violentos que ocurren simultáneamente pueden causar una serie de cambios químicos (Ashokkumar, 2007).

Los radicales primarios se forman como resultado directo de las altas temperaturas dentro de una burbuja que se derrumba. Si hay vapor de agua, se pueden generar radicales primarios H y OH y estos pueden recombinarse para formar productos moleculares como se muestra en reacciones:



**Figura 4.** Reacciones sonoquímicas (Gómez & López, 2009).

En estas aplicaciones, puede ser importante minimizar las reacciones sonoquímicas ya sea utilizando una frecuencia baja, donde la formación de radicales libres es muy baja (20 kHz), o mediante la adición de un eliminador de radicales libres como el ácido ascórbico (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2011).

### 1.2.7 Generalidades de un sistema ultrasónico

No importa en qué industria o aplicación participe, los mismos componentes básicos del sistema necesarios para generar y transmitir ondas ultrasónicas. El equipo ultrasónico consiste en el generador de energía eléctrica, transductores y emisor, que envía físicamente las ondas ultrasónicas en el medio (Povey & Mason, 1998).

El generador eléctrico es la fuente de energía para el sistema ultrasónico, que debe conducir el transductor generalmente, un generador eléctrico produce corriente eléctrica con una potencia nominal especificada. La mayoría de los generadores permiten la potencia se

establecerá solo indirectamente a través de los ajustes de voltaje (V) y corriente (I) (Povey y Mason, 1998).

Todos los sistemas ultrasónicos incluyen un transductor como elemento central, cuya función es para generar el ultrasonido real. El transductor convierte la energía eléctrica (o energía mecánica, en el caso de líquido) en energía sonora mediante vibración mecánicamente a frecuencias ultrasónicas. Hay tres tipos principales de transductores: impulsados por líquido, magnetostrictivo y piezoeléctrico (pzt). Los transductores de líquido dependen en energía puramente mecánica para producir ultrasonido, pero magnetostrictivo y los transductores piezoeléctricos convierten la energía eléctrica y magnética en mecánica, energía ultrasónica (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2011).

El propósito del emisor, también llamado reactor o celda ultrasónica por otros, es irradiar la onda ultrasónica desde el transductor al medio. Los emisores también pueden cumplir la función de amplificar las vibraciones ultrasónicas mientras irradian ellos. Las dos formas principales de emisores son baños y bocinas (es decir, sondas); cuernos a menudo requieren la fijación de una punta de bocina conocida como sonotrodo (Povey y Mason, 1998).

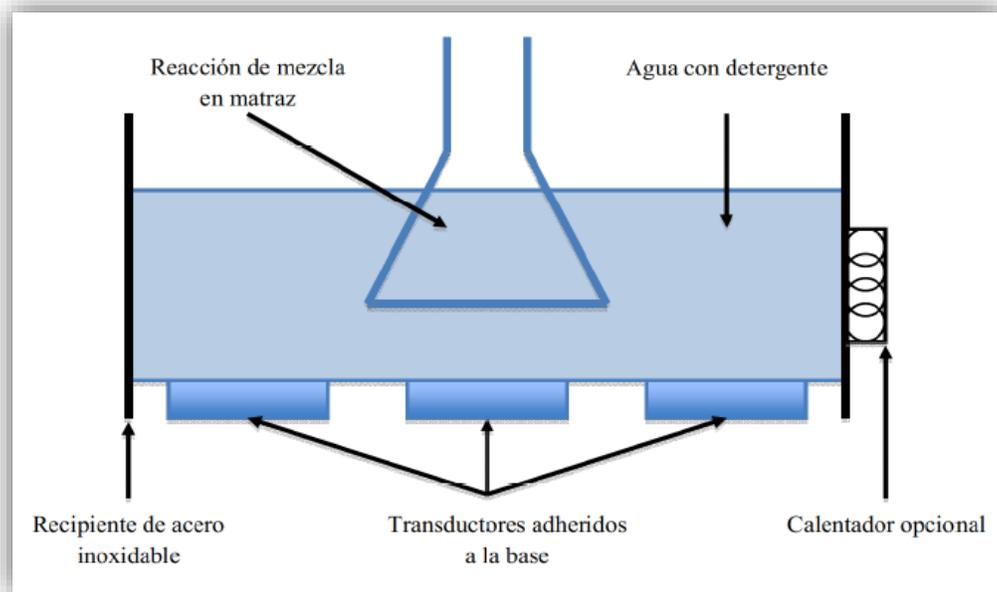
### **1.2.8 Equipos Ultrasónicos**

Los dos equipos más comunes a nivel laboratorio usados para tratar medios líquidos para desinfección, son el baño de limpieza de ultrasonido y las puntas ultrasónicas. El primer tipo de equipo es económico y comúnmente usado para la limpieza de recipientes que se introducen en el baño. Los sistemas más poderosos de ultrasonido son los que utilizan puntas sónicas, los cuales introducen la vibración directamente en la muestra. Ambos equipos fueron diseñados originalmente para aplicaciones específicas, de manera que los baños ultrasónicos eran utilizados para la limpieza de material de vidrio, introduciéndolo en el baño y las puntas sónicas para el rompimiento celular (Gómez & López, 2009).

### **1.2.9 Baño ultrasónico**

Se pueden calificar como equipos ultrasónicos simples y compactos; los transductores colocados en la base de un recipiente de acero inoxidable y con el sistema de generación y

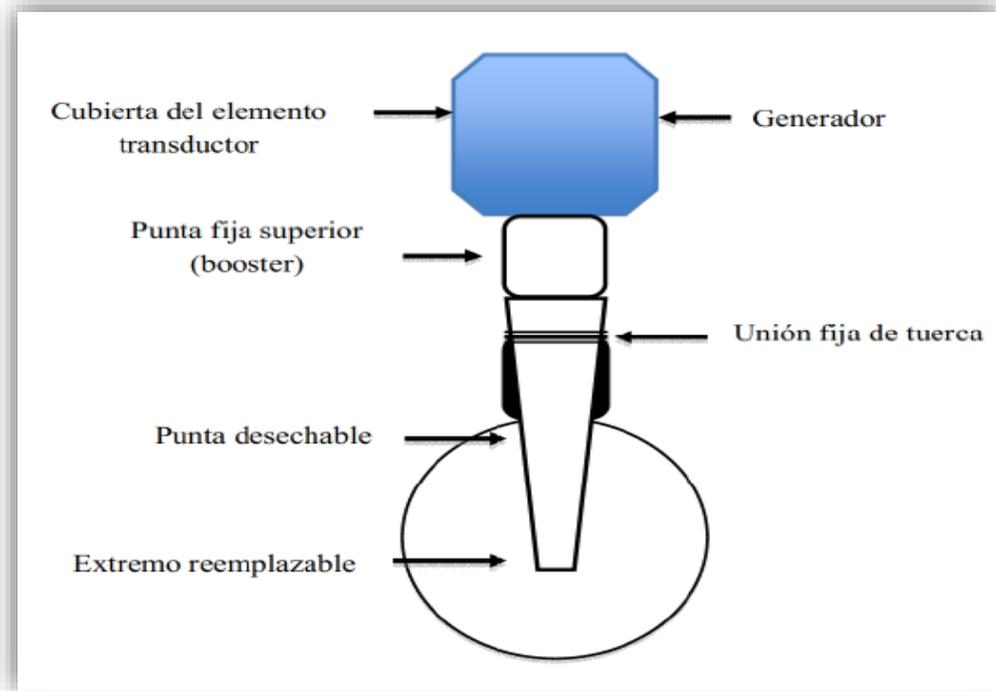
sus principales limitaciones como es la poca potencia que suministran al medio líquido donde dentro del baño se encuentra el recipiente que contiene el material a tratar. Su comparación con otros sistemas como la variación del campo acústico dentro del baño y su intensidad ultrasónica se atenúa (Barbosa-Cánovas *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Baño Ultrasónico (Gómez & López, 2009).

### 1.2.10 Sonda Ultrasónica

En este tipo de equipos, se utiliza una sonda metálica para aplicar al medio líquido la vibración generada en el transductor y la potencia aplicada dependerá de la amplitud de vibración en la punta de la sonda que se controlará variando la potencia eléctrica suministrada por el equipo generador/amplificador. Tanto el diseño como la forma de la sonda tienen mucha importancia. Las sondas cilíndricas se limitan a transmitir la energía acústica al medio por tratar. Sin embargo, si a lo largo de la sonda hay reducción del diámetro, entonces se produce una ganancia en la amplitud de vibración. Muchos sistemas se diseñan para operar con sondas intercambiables de diferentes diámetros de superficie emisora (Delgado, 2015).



**Figura 6.** Sonda Ultrasónica (Povey y Mason, 1998).

### 1.3 Conservación en los alimentos

El siglo XXI ha traído consigo importantes avances científicos y tecnológicos que han impactado profundamente a la sociedad actual. El efecto marcado de la globalización, los acelerados ritmos de trabajo, así como el acceso ilimitado y casi instantáneo a la información, ha provocado que los consumidores de alimentos se vuelvan mucho más exigentes en cuanto a las características de aceptabilidad de los productos que compran. Es así como hoy en día, la decisión de compra de un alimento procesado está basada más en la preservación de las características propias del material fresco que en una vida de anaquel extremadamente larga (Azuola & Vargas, 2007).

Por siglos, la aplicación de tratamientos térmicos ha sido la tecnología más comúnmente utilizada para la estabilización de alimentos debido a su alta capacidad de destrucción de microorganismos e inactivación de enzimas. Sin embargo, se sabe que el calor puede no

solamente perjudicar muchas de las propiedades organolépticas del alimento sino también, reducir los contenidos y/o la biodisponibilidad de algunos nutrientes (González, 2005).

Durante las últimas décadas se ha generado un creciente interés en la búsqueda y desarrollo de nuevas tecnologías capaces de reducir la intensidad de los tratamientos térmicos requeridos para la estabilización de sistemas alimentarios (López *et al.*, 2006). Esta búsqueda ha permitido que tratamientos físicos como el ultrasonido, entre muchos otros (pulsos eléctricos, irradiaciones, microondas, luz blanca), se conviertan en alternativas muy promisorias para el procesamiento de alimentos por cuanto permiten realizar operaciones de estabilización sin incrementar drásticamente la temperatura del sistema y por lo tanto preservan mucho mejor las características sensoriales del producto (González, 2005).

#### **1.4 Aplicación de Ultrasonido en los alimentos**

El ultrasonido es una de las tecnologías no invasivas, que con éxito encuentra uso en numerosos procesos en tecnología de alimentos. Representa una de las tecnologías que en muy poco tiempo se encontraron rápidamente evolución e implementación en la tecnología de alimentos, su estudio ha sido para propósitos como la inactivación microbiana y enzimática, debido por su capacidad para destruir paredes y membranas biológicas, se considera una tecnología promisoría tanto para la destrucción de microorganismos a temperaturas de procesamiento inferiores y que durante años ha sido objeto de también investigación en los procesos alimentarios en los que el ultrasonido encuentra su aplicación incluyen el secado, congelación, homogeneización, esterilización, extracción, blanqueo, cristalización, emulsificación, y filtración. Siendo un tratamiento específico estudiado en la industria alimentaria mencionado que las aplicaciones se construyen para ajustarse a los principios del ultrasonido y hoy en día con éxito aplicado incluso a nivel de mayor capacidad. Las implementaciones mencionadas prueban que el ultrasonido se implementa y comercializa con éxito en la industria alimentaria para los productos alimenticios como frutas y verduras (secas o en jugos), carne y productos lácteos (leche o queso,) entre otros (Delgado, 2015; Chemat, Zill-e-Huma & Khan, 2011).

**Tabla 3.** Aplicaciones de ultrasonido en la industria alimentaria (Gómez & López, 2009).

<b>Aplicación</b>	<b>Descripción</b>
Efectos antimicrobianos	Destrucción microbiana, limpieza de superficies
Transferencia de calor	Incremento de la velocidad de congelación, descongelación y cocido
Transferencia de masa	Incremento de la velocidad de transferencia de masa durante el secado (sólido, líquido y secado osmótico), curado, separación de membrana, desecación y filtración por membrana
Procesado de cárnicos	Tenderización de la carne
Emulsificación, encapsulación y homogenización	Homogenización y emulsificación
Fermentación y maduración	Incremento de la velocidad de fermentación y añejamiento (vino)
Cristalización	Control de la nucleación y crecimiento de cristales
Corte	Cortado de productos frescos y congelados, incluyendo alimentos compuestos o multicapa
Degaseo y despumante	Despumado de bebidas carbonatadas, cerveza u otros líquidos durante enlatado; despumado de fermentos microbiológicos; remoción de gases disueltos en líquidos
Rompimiento celular y extracción	Mejoramiento de la extracción de compuestos (enzimas, proteínas y aceites esenciales)
Actividad enzimática y desnaturalización de proteínas	Inactivación y mejoramiento de la actividad enzimática; desnaturalización de proteínas
Polimerización y despolimerización	Aplicación en polímeros alimenticios

### 1.4.1 Ultrasonido en actividad enzimática

Típicamente, las enzimas pueden ser fácilmente desnaturalizadas por ligeros cambios en las condiciones ambientales, que incluyen temperatura, presión, cizallamiento, pH y fuerza iónica. El ultrasonido puede causar la inactivación de muchas enzimas. La inactivación de enzimas por ultrasonido se atribuye principalmente a los efectos mecánicos y químicos de la cavitación. El colapso de las burbujas va acompañado de un aumento local extremo de la presión (1000 MPa) y temperatura (5000 K). Además, el ultrasonido hace que las burbujas cavitadas vibren, creando ondas de choque que causan un fuerte cizallamiento y microstreaming en el líquido adyacente, en estas condiciones extremas, la sonicación podría causar la ruptura de los enlaces de hidrógeno y las interacciones de Van der Waals en las cadenas de polipéptidos, que conducen a la modificación de la estructura secundaria y terciaria de la proteína. El aumento extremo en la presión y temperatura también conduce a la generación de la escisión de la molécula de agua homolítica, intermedios de alta energía como hidroxilo y radicales libres de hidrógeno. Los radicales libres formados pueden reaccionar con algunos residuos de aminoácidos que participan en estabilidad enzimática, unión al sustrato o en la función catalítica con el consiguiente cambio en la actividad biológica (Zhong et al., 2004).

En general, la inactivación de las enzimas monoméricas son formar agregados o para que la molécula enzimática se descomponga en fragmentos. Según la literatura, las enzimas poliméricas generalmente se fragmentan en formas monoméricas durante el proceso de ultrasonido. La inactivación de enzimas por exposición prolongada al ultrasonido a baja temperatura se ha informado que se debe a la división de polipéptidos de bajo peso molecular o aminoácidos individuales, o debido a los mecanismos oxidativos. La tensión de cizallamiento generada por ultrasonidos puede degradar polímeros de alta masa, las tensiones de cizallamiento también promueven enzimas y proteínas a la desnaturalización (Thakur y Nelson, 1997).

## 1.5 Zanahoria

La zanahoria es una hortaliza que pertenece a la familia de las plantas Apiáceas, su nombre científico es *Daucus carota L* que es la más importante y de mayor consumo de la familia, es una planta de clima frío, pero cultivada también en regiones tropicales y subtropicales, especialmente en grandes altitudes. Su cultivo data de tiempos antiguos, es una especie originaria del centro asiático, y de allí se extendió a Europa, la región del Mediterráneo (Arthey, 1992).

Existen 60 variedades de zanahorias, todas son de buena calidad, algunas son más preferidas que otras por su rendimiento y buen aspecto (pequeña, mediana, ancha o alargada) esto varía por las regiones donde se cosecha la zanahoria. Los tipos cultivados se dividen en dos grupos: zanahorias orientales (o asiáticas), con raíces de color principalmente púrpura y amarillo; y zanahorias occidentales, con raíces de color principalmente anaranjado (Zukauskas, 2016).



**Figura 7.** Variedad de zanahoria (Zukauskas, 2016).

### 1.5.1 Composición y uso

La zanahoria puede comerse cruda o cocida y posee múltiples beneficios. El agua es el componente más abundante, seguido de los carbohidratos (nutrientes que aportan energía). La zanahoria es una fuente importante de vitaminas y minerales (principalmente A, B y C), cabe señalar que esta hortaliza presenta un elevado contenido en carotenoides, en particular  $\beta$ -caroteno. Esta provitamina A, además de contribuir al típico color naranja, protege de problemas de la visión y mantiene en buen estado los tejidos del organismo, especialmente la piel y los bronquios (Tirilly y Bourgeois, 2002).

**Tabla 4.** Composición química de la zanahoria (Hernández, 2015).

<b>Valor nutricional en 100g</b>	
Valor energético (kcal)	40
Agua (g)	88.6
Carbohidratos (g)	10.1
Lípidos (g)	0.2
Proteína	0.9
Vitamina A ( $\mu$ g)	835
Vitamina B <sub>1</sub> (mg)	0.066
Vitamina B <sub>2</sub> (mg)	0.058
Vitamina B <sub>3</sub> (mg)	0.983
Vitamina B <sub>5</sub> (mg)	0.273
Vitamina B <sub>6</sub> (mg)	0.138
Vitamina C (mg)	5.0

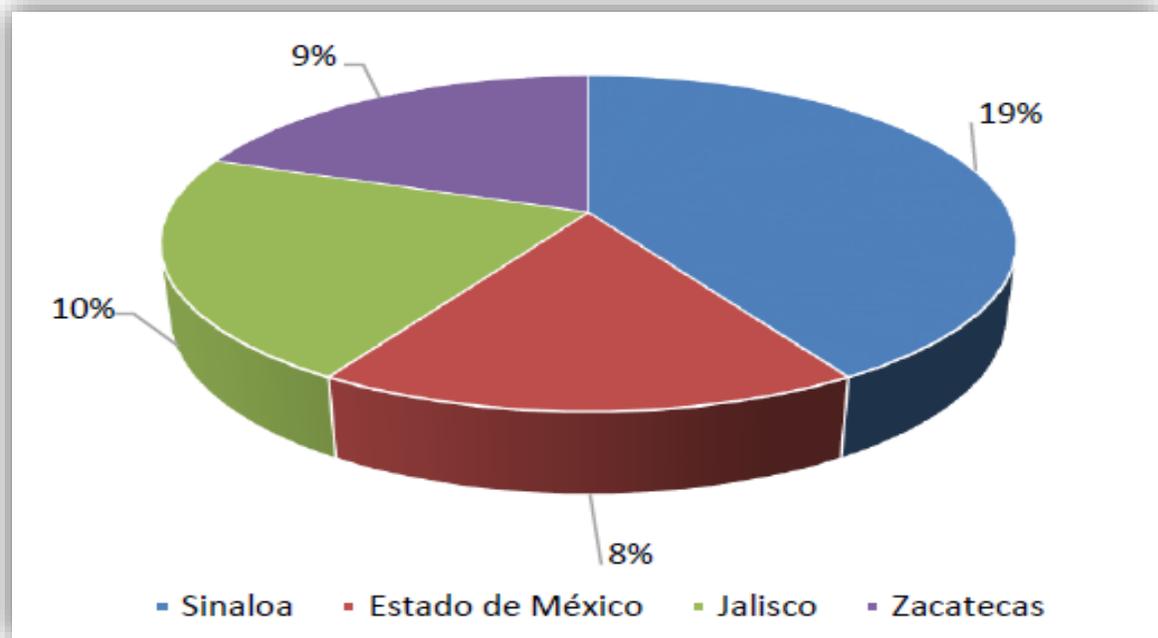
Su uso de la zanahoria puede ser procesada y comercializada

- Fruto fresco: se consume cruda entera o en rebanadas y sola o en ensaladas. Se cocina para consumir sola, en ensaladas, sopas, postres y purés. Se preparan en jugos caseros sola o mezclada.
- Fruto procesado: se puede deshidratar, congelar, hacer encurtidos, envasarla o enlatarla al natural o en salmuera. Deshidratada, hace parte de alimentos precocidos como las sopas instantáneas.
- Medicinal: del fruto se puede extraer vitamina A y carotenoides que actúan como provitamina A, antioxidantes y anticancerígenos, cicatrizante intestinal (FAO, 2011).

### **1.5.2 Producción de zanahoria**

Dentro de la producción mundial de hortalizas, la zanahoria ha tomado un importante auge, reflejando con ello el amplio gusto que tiene esta por los consumidores. Los principales países productores de zanahoria son: China, Estados Unidos, Rusia, Polonia y Japón, los cuales en conjunto producen un poco más del 50% del total mundial. China es el principal productor con un 24% del total mundial, siendo el incremento de su demanda interna el principal motor del alza en su producción. En Estados Unidos también se percibe un alza en la producción, que es el 10.6% del total mundial, presentando además la mayor eficiencia en esta. Rusia ocupa el tercer lugar como productor y al igual que en los países anteriores su producción presenta un crecimiento sobresaliente (FAO, 2011).

La zanahoria en México se produce todo el año, pero en los meses mayo, agosto septiembre y octubre se genera 46% de la producción nacional. Siete entidades federativas producen 67% de la producción nacional, entre las que destacan: Sinaloa con 19%, Jalisco 10%, Zacatecas 9% y Estado de México 8% como se muestra en la figura 7 (SAGARPA, 2015).



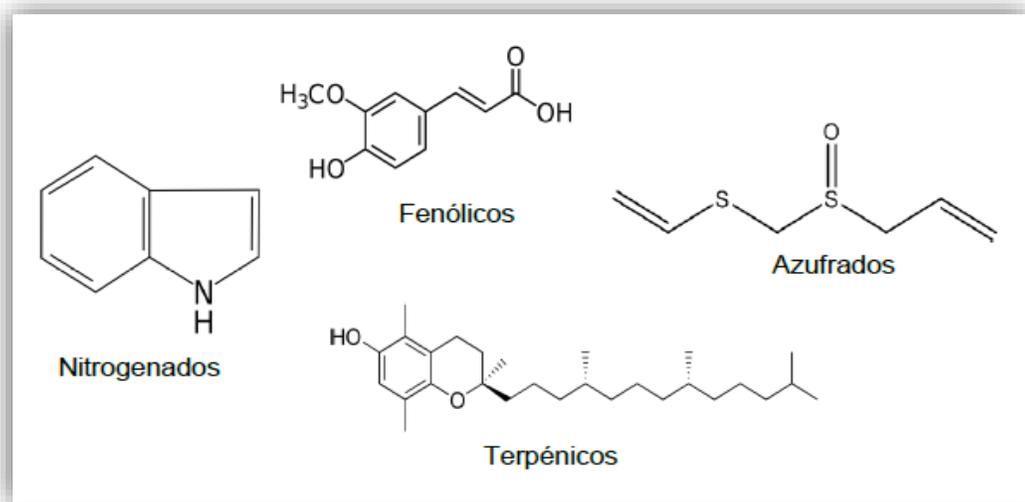
**Figura 8.** Producción de zanahoria en México (SAGARPA, 2015).

## 1.6 Compuestos bioactivos

Los alimentos de origen vegetal (frutas, hortalizas, cereales y alimentos derivados de ellos) son productos de gran interés, ya que, además de aportar macronutrientes y micronutrientes (hidratos de carbono, aminoácidos, minerales, ácidos orgánicos, vitaminas y fibra), contienen una serie de sustancias que, aunque no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no se consideran esenciales para la salud humana, pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad y ser indispensables a largo plazo para nuestra salud. Estas sustancias bioactivas o metabolitos secundarios de origen vegetal se denominan también fitoquímicos o fitonutrientes. Estos son importantes debido a propiedades, efectos biológicos y a sus atributos y se encuentran en una enorme variedad de alimentos que los contienen (Martínez-Navarrete, 2008).

En el reino vegetal, se pueden distinguir 4 grandes grupos de compuestos bioactivos, entre los que se incluyen sustancias de diversas familias químicas, como son las sustancias nitrogenadas, las azufradas, las terpénicas y, las más ampliamente estudiadas, las fenólicas.

Los compuestos nitrogenados suelen ser biológicamente muy activos, y pueden dar problemas de toxicidad aun en cantidades muy bajas. Las sustancias azufradas predominan en algunas verduras de la familia de la col, cebollas, ajos, etc. Sin embargo, los presentes en las frutas pertenecen en su mayoría a los últimos 2 grupos: sustancias terpénicas y fenólicas. Entre los terpenos se encuentran el d-limoneno, los carotenoides y los fitosteroles. Los carotenoides agrupan a compuestos como el alfacaroteno y betacaroteno, la luteína, el licopeno, la  $\beta$ -cryptoxantina y la zeaxantina (Muñoz, 2010).



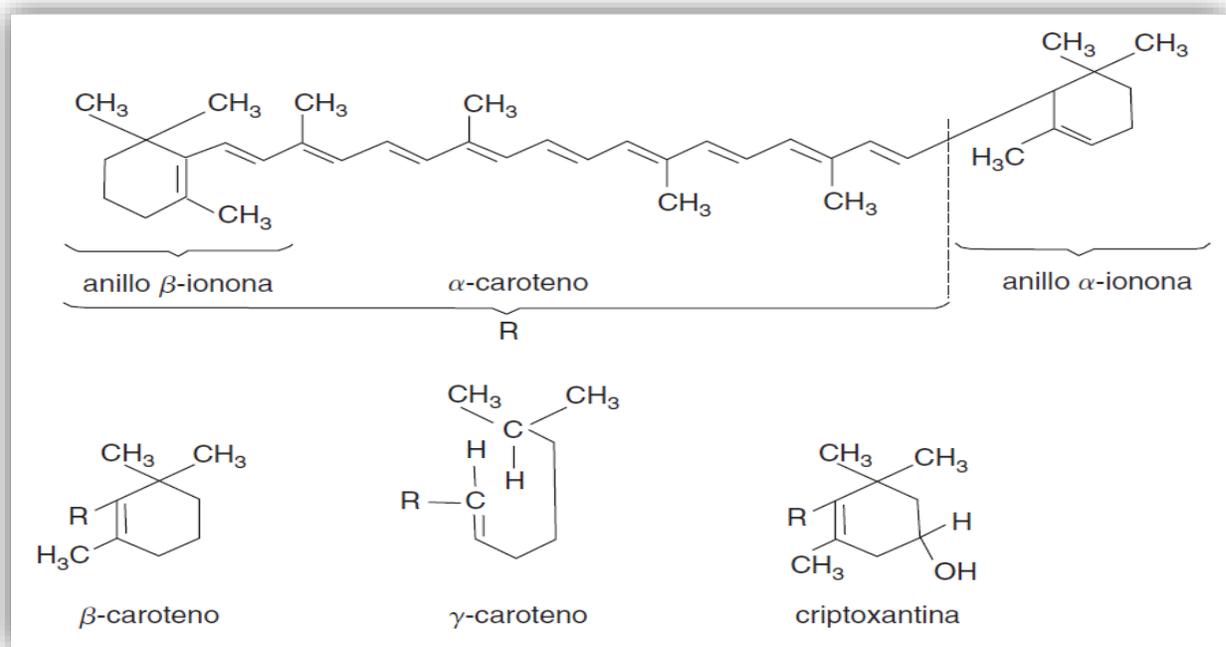
**Figura 9.** Grupos de compuestos bioactivos (Muñoz, 2010).

### 1.6.1 Carotenoides

Los carotenoides son un grupo numeroso de pigmentos muy difundidos en los reinos vegetal y animal, producen colores que van desde el amarillo hasta el rojo intenso. Dentro de los terpenos se clasifica a los carotenoides estos se encuentran situados en las membranas de los cloroplastos y cromoplastos. Los carotenoides se absorben a través de la dieta y que son importantes en los mamíferos, especialmente el betacaroteno que es precursor de la vitamina A (Bartley & Scolnik, 1995).

Todos los carotenoides pertenecen a la clase de los polienos, cadenas largas con dobles ligaduras conjugadas, cuya presencia explica el color intenso de los carotenoides ya que los

sistemas conjugados presentan una resonancia posicional, lo que produce una deslocalización electrónica y, por lo tanto, absorben energía que se traduce en emisiones energéticas de determinadas longitudes de onda, lo que da como resultado el color.



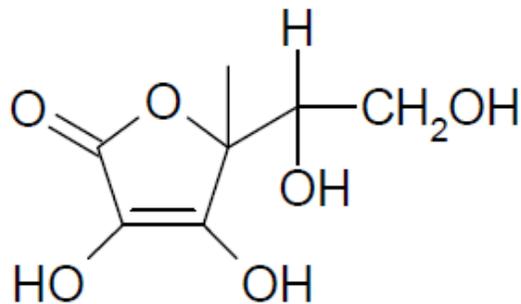
**Figura 10.** Diferencias químicas de carotenoides (Badui, 2006).

Químicamente, los carotenoides se dividen en dos grupos: los carotenos, que son hidrocarburos, y las xantofilas, sus derivados oxigenados. Los carotenos son muy solubles en éter de petróleo y poco en etanol; entre éstos destacan los a, b y g carotenos y el licopeno. Las xantofilas pueden presentarse como ácidos, aldehídos o alcoholes y son solubles en etanol, metanol y éter de petróleo; ejemplo de estos compuestos son la fucoxantina, la luteína y la violaxantina. En ambos casos, carotenos y xantofilas, la estructura consiste en ocho unidades de isopreno unidas de tal forma que el arreglo de isoprenoides es reversible desde el centro de la molécula. Dado que un isopreno es una estructura repetitiva, se produce un gran número de isómeros geométricos de configuraciones *cis* y *trans*. La gran mayoría de los carotenoides en la naturaleza son compuestos *trans* (Badui, 2006).

### 1.6.2 Ácido ascórbico

El ácido ascórbico, también conocido como vitamina C es un compuesto hidrosoluble que se puede encontrar en frutas y vegetales. Es un antioxidante y captador de radicales libres, esencial para mantener el buen funcionamiento del organismo (Lee & Kader, 2000).

La vitamina C es un derivado de los hidratos de carbono (su síntesis química parte de la D-glucosa), tiene una estructura de cetona cíclica que corresponde a la forma enólica de la 3-ceto-1-gulofuranolactona; contiene un enol entre los carbonos 2 y 3 que la hace un agente ácido y altamente reductor, por lo que se oxida muy fácilmente. Se encuentra principalmente en vegetales frescos, y los cereales, el consumo rutinario de frutas y verduras aporta la vitamina C requerida diariamente, ya que, al ser hidrosoluble, el hombre no la almacena. A diferencia de otras vitaminas, el humano no la sintetiza, mientras que algunos animales sí la producen, por lo que para ellos no es indispensable (Badui, 2006).



**Figura 11.** Estructura química del ácido ascórbico (Shyla & Nagendrappa, 2013).

Es una de las vitaminas más inestables y es muy sensible a diversas formas de degradación. El ácido ascórbico es sensible particularmente a las reacciones de oxidación atmosférica, pH, la luz, presencia de enzimas destruyéndose con gran facilidad durante el procesado de los alimentos en presencia de oxígeno y tratados térmicamente. El ácido ascórbico es fácilmente oxidable y su retención en jugos procesados se usa como índice de la efectividad del tratamiento térmico. Cuando se encuentra en soluciones acuosas o en alimentos se puede

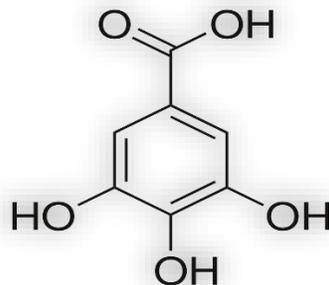
degradar fácilmente y su estabilidad está relacionada con las condiciones de almacenamiento (Shyla & Nagendrappa, 2013).

### 1.6.3 Fenoles

Los compuestos fenólicos son sustancias con uno o más anillos aromáticos y, al menos, un sustituyente hidroxilo. Son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal, se encuentran principalmente en las plantas, incluyendo frutas, verduras y cereales, así como bebidas derivadas. Estos compuestos además de ser esenciales para el crecimiento y la reproducción constituyen un amplio grupo de sustancias con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas (Nazk y Shahidi, 2004).

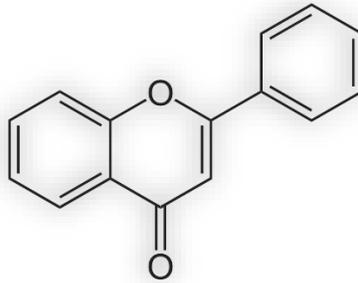
Los polifenoles se clasifican por las clases y subclases que existen, químicamente se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos, originando una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en plantas (Fennema, 2000).

De forma general los polifenoles se clasifican en dos grupos: los ácidos fenólicos (Benzoico y cinámicos) donde solo tienen un solo anillo, entre ellos se encuentran el ácido gálico, ácido parahidroxibenzoico, ácido protocatético, ácido vanílico, ácido sirínico, ácido ferrílico, ácido cumárico, ácido sinápico y caféico considerados como antioxidantes primarios, pues al contener hidrógenos fenólicos hacen que tengan carácter ácido, lo que los hace que sean aceptores de radicales libres (Posada *et al.*, 2003).



**Figura 12.** Estructura química del ácido gálico (Posada *et al.*, 2003).

Por otra parte, los flavonoides, nombre que deriva del latín “flavus”, cuyo significado es “amarillo”, que tienen dos anillos fenólicos unidos por un anillo heterocíclico, constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal, son compuestos de bajo peso entre ellos se encuentran los flavonoles, flavonas, flavanoles, flavanonas, isoflavonoides y antocianinas (Badui, 2006).



**Figura 13.** Estructura química del flavonoide (Badui, 2006).

### 1.7 Actividad enzimática

Una enzima es una proteína que actúa como catalizador biológico, llevando a cabo reacciones bioquímicas a muy altas velocidades, no se consume durante la reacción y en general presenta un elevado grado de especificidad. Todas las células, incluyendo microorganismos y organismos superiores, producen enzimas. Su acción está estrechamente ligada con las reacciones metabólicas, y la mayoría de las transformaciones químicas requeridas para mantener activas a las células tardarían mucho tiempo en efectuarse o simplemente no procederían si no estuvieran presentes las enzimas. Estas se clasifican y se diferencian por la reacción química que cataliza la enzima siendo seis grupos los cuales son: Oxidorreductasas, Transferasas, Hidrolasas, Liasas, Isomerasas y Ligasas. Su estudio en el campo de los alimentos es de primordial interés debido a que son responsables de algunos cambios químicos que sufren los alimentos, cambios que pueden resultar en beneficios (maduración de frutas) o perjuicios (oxidación de ácidos grasos y oscurecimiento enzimático) (Badui, 2006).

La actividad enzimática y la velocidad de las reacciones enzimáticas son dependientes de la temperatura. A medida que disminuye la temperatura, la velocidad de la reacción también lo hace, siendo nula únicamente cuando se alcanza el cero absoluto. Las bajas temperaturas reducen, pero nunca detienen la actividad enzimática, por consiguiente, un producto puede deteriorarse por vía enzimática incluso durante la congelación por largos periodos, ya que la actividad es sumamente lenta pero existente. Debido a la presencia de actividad enzimática aún a muy bajas temperaturas, es conveniente inactivar las enzimas antes de procesar y almacenar los alimentos congelados. Al inactivarse las enzimas se evitan los trastornos mencionados de origen enzimático incluyendo aquellos que afectan la textura y el color, aún en las etapas previas a la refrigeración o congelación (Barreiro y Sandoval, 2006).

Las enzimas son catalizadores proteicos y poseen la capacidad de inducir una reacción química determinada. Una unidad de actividad enzimática (U) se define como la cantidad de enzima que cataliza la conversión de 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato en un minuto. La actividad específica es el número de unidades de enzima por miligramo de proteína (U/mg proteína) o por mililitro de disolución (U/mL) (Wong *et al.*, 2003).

### **1.7.1 Pectinmetilesterasa (PME)**

La enzima pectinmetilesterasa (PME) puede ser identificada en muchas plantas y frutos como por ejemplo la manzana, plátano, cerezas, cítricos (lima, naranja y mandarina), sandía, mango, papaya, pera, zanahoria, coliflor, pepino, cebolla, papa y jitomate. La PME se puede encontrar en varios tejidos y están principalmente asociadas por interacciones iónicas con las proteínas de la pared celular (Wong *et al.*, 2003).

Se clasifica por hidrolizar los enlaces éster metílico, liberan metanol y producen pectinas de bajo metoxilo e incluso ácido poligalacturónico. La textura de las frutas y las verduras se debe a la presencia de pectinas que forman parte de la pared celular, por lo que la acción de las pectinasas altera las características de estos alimentos, cuya acción conjunta en la maduración provoca que las pectinas se degraden y el fruto adquiera una textura más adecuada para el consumidor; por otra parte, una excesiva actividad enzimática causa

ablandamiento notorio, pérdida de textura, propicia las condiciones para un ataque microbiano y aumenta la concentración de ácido galacturónico (Fennema, 2000).

Los jugos de tomate, naranja, limón, toronja, deben su viscosidad y turbiedad a las pectinas en suspensión que se liberan de sus tejidos en el proceso de extracción; la acción de las pectinasas causa la hidrólisis, la desesterificación y la desestabilización de los coloides, provocando su precipitación y la consecuente pérdida de sus características. El consumidor no acepta estos jugos sin su correspondiente turbiedad; por lo tanto, durante su manufactura es necesaria la inactivación enzimática con tratamientos térmicos a medida que éste disminuye se reduce la intensidad del calentamiento, aunque en general, para lograr esto basta un minuto a 80-90 °C. Además del pH, la concentración de sólidos (medida como grados Brix) también influye ya que los sólidos tienen un efecto protector sobre la enzima (Marshall *et al.*, 1985).

### **1.7.2 Polifenoloxidasas (PFO)**

La enzima polifenoloxidasa (PFO) que se encuentran en las plantas son las responsables de las reacciones de pardeamiento enzimático que ocurren durante el almacenamiento, manipulación y procesamiento de frutas y vegetales. Las polifenoloxidasas, también conocidas como tirosinasas, fenoloxidasas, monofenoloxidasas o cresolasas, la enzima cataliza la *O*-hidroxilación de monofenoles (fenoles en los cuales el anillo bencénico contiene un único sustituyente hidroxilo) para convertirlos en *O*-difenoles (fenoles con dos sustituyentes hidroxilo) posteriormente, catalizar la oxidación de los *O*-difenoles para formar *O*-quinonas. Las *o*-quinonas son muy reactivas y atacan a una gran variedad de componentes celulares, las cuales se polimerizan dando lugar a pigmentos que presentan color marrón, rojo o negro. Estas reacciones modifican las características organolépticas y nutricionales del alimento, depreciando su calidad (Gasull & Becerra, 2006).

El mecanismo de reacción de la PPO, se basa en la catálisis de dos etapas, oxidación de un monofenol a *o*-difenol y la subsiguiente oxidación de éste a *o*-quinona, actividad cresolasa y catecolasa respectivamente. Siguiendo un mecanismo ordenado, la enzima liga primero el oxígeno y después el monofenol. Se produce un cambio de valencia de los iones de cobre de

Cu<sup>+</sup> a Cu<sup>++</sup> formándose un complejo que tiene un enlace O-O bien polarizado donde se produce la hidroxilación a o-difenilo. La oxidación del o-difenol a o-quinona finaliza el ciclo (Cheftel, 1992).

En frutas y vegetales las magulladuras, el troceado y otros procedimientos mecánicos dañan sus paredes lo cual permite que el oxígeno penetre, dando como resultado el oscurecimiento o las reacciones de pardeamiento enzimático. Este fenómeno es un problema de primera magnitud en la industria agroalimentaria y se reconoce como una de las principales causas de pérdidas de calidad y valor comercial de las frutas y vegetales cosechados, almacenados y procesados ya que produce cambios importantes tanto en la apariencia como en las propiedades organolépticas, además suele ir asociado al desprendimiento de olores y efectos negativos sobre el valor nutricional (Carriel *et al.*, 2014).

### 1.7.3 Peroxidasas (POD)

La enzima peroxidasa (POD) es una enzima que se puede encontrar en vegetales y frutos, al inactivar esta enzima se puede aumentar la vida útil durante el almacenamiento en frío. También se encuentra presente en animales, plantas y microorganismos. En los vegetales, la POD está localizada en su forma soluble en el citoplasma de las células y de forma insoluble en la pared celular de la misma (Morales-Blancas *et al.*, 2002).

La peroxidasa (POD) es una enzima que pertenece al grupo de las oxidoreductasas. El término peroxidasa se refiere a una enzima que cataliza la oxido-reducción entre peróxido de hidrógeno y una gran variedad de donadores de hidrógeno como fenoles, amins aromáticas y otros. Estas enzimas utilizan varios peróxidos (R-O-OH) como aceptores de electrones para catalizar dicha reacción de oxidación (Fleischmann *et al.*, 2004).

Las POD pertenecen al grupo de enzimas denominadas oxidoreductasas, las cuales catalizan reacciones de óxido - reducción y utilizan el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como aceptor de electrones para catalizar diferentes reacciones oxidativas. Las POD en las plantas son una respuesta de defensa al estrés que éstas puedan sufrir. Estas enzimas reducen el peróxido de hidrógeno en presencia de un electrón donador, el cual puede ser un compuesto fenólico o un ascorbato que actúe

como donador de protones. Si el donador de protones es un compuesto fenólico se obtienen quinonas, que reaccionan para obtener polímeros pardos, si el donador de protones es ascorbato no se obtiene pardeamiento, por lo cual, dependiendo del donador de protones se obtiene o no coloración (Samaniego y col. 2014).

Estas enzimas también son responsables en ocasión de la degradación de vitaminas, como el ácido ascórbico. Para evitar estos efectos, se puede desactivar con calor a las enzimas endógenas, o también se puede eliminar el oxígeno presente del alimento. La revisión de los mecanismos de acción y propiedades de estas enzimas aportará elementos para poder evitar la pérdida de calidad del alimento (Badui, 2006).

## **1.8 Nanotecnología**

La nanotecnología se puede definir como la manipulación de la materia a escala nanométrica, lo cual resulta en el estudio y creación de nuevos materiales y/o productos que cubren ciertas necesidades de la industria alimentaria. Estos nanomateriales ofrecen diversas ventajas como el desarrollo de nuevos y mejorados materiales de envase, sensores que permiten conservar la calidad de los alimentos, así como la conservación de ingredientes y aditivos que sean capaces de ocultar sabores y aromas desagradables (Huang, 2012).

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).

### **1.8.1 Aplicaciones en la ciencia de alimentos**

Para una industria donde la competencia es intensa y la innovación es vital, la nanotecnología ha emergido como una ayuda potencial en la producción de alimentos de calidad mejorada

con propiedades funcionales, por lo que actualmente están en curso extensos proyectos de investigación y desarrollo con el objetivo final de obtener ventajas competitivas y participación en el mercado (Rai y col. 2015).

La nanotecnología alimentaria se encuentra aún en fase de ascenso debido a sus numerosas y diversas aplicaciones, entre las que se encuentran:

- Nanocompuestos: en el área de envasado de alimentos, donde se tienen nuevos tipos de materiales para envasar platos preparados con propiedades térmicas y biodegradables mejoradas.
- Nanosensores: que aseguran la calidad y seguridad alimentaria con el uso de biosensores, así como la detección y neutralización de microorganismos alterantes y patógenos, aditivos, fármacos, toxinas entre otros contaminantes.
- Nanopartículas y nanoesferas: que permiten una mejor encapsulación que la tradicional.

Formación de nanopartículas, nanoemulsiones y nanocápsulas que permiten mejorar el valor nutricional de los productos, así como su absorción en el cuerpo aumentando la biodisponibilidad y dispersión de nutrientes de interés (Zambrano-Zaragoza y col., 2011).

### **1.8.2 Encapsulación de nutraceuticos**

La encapsulación es un proceso utilizado para la preservación o protección de diferentes ingredientes comerciales, no solo alimenticios sino también farmacéuticos, químicos y cosméticos (Fuchs *et al.*, 2006). El término nutraceutico proviene de “nutrición” y “farmaceutico”. Se define la nutraceutica como un alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios medicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades. Se pueden encapsular moléculas no polares como lípidos, saborizantes, antimicrobianos, antioxidantes y vitaminas. Se han aplicado microemulsiones para la encapsulación de licopeno, luteína y ácidos grasos omega-3 y existe una patente para la

encapsulación de alfa-tocoferol con el fin de reducir la oxidación de los lípidos en el aceite de pescado (AROMICS, 2008).

Existe una gran variedad de técnicas, aunque algunos autores los clasifican de manera general en métodos físicos o mecánicos y químicos. En los métodos mecánicos se encuentran el secado por atomización, la liofilización, el secado en lecho fluidizado y la extrusión; mientras que en los métodos químicos aparecen la coacervación compleja, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, co-cristalización y atrapamiento en liposomas (Pedroza-Islas, 2002; Madene *et al.*, 2006).

La industria alimentaria aplica la encapsulación por varias razones: para estabilizar el agente activo, para controlar la liberación del material encapsulado (velocidad y forma de liberación) y para separar componentes reactivos o incompatibles. Las microcápsulas permiten proteger componentes alimenticios sensibles, asegurarlos contra la pérdida nutricional, utilizar ingredientes sensibles, incorporar un mecanismo inusual del tiempo de liberación dentro de la formulación, enmascarar o preservar sabores y aromas y transformar líquidos en ingredientes sólidos de fácil manejo (Dsieszak, 1988).

Los procesos de encapsulación se han desarrollado como respuesta a la viabilidad de aquellos componentes activos presentes en muchos alimentos funcionales. Esta técnica consiste en la protección de dichos materiales cubriéndolos con un agente acarreador o encapsulante (Madene *et al.*, 2006). La efectividad de los productos nutracéuticos o funcionales, la cual está relacionada con la prevención de enfermedades, depende del mantenimiento de la viabilidad de los ingredientes activos. La calidad de los encapsulados, es decir, su eficiencia en la protección y liberación controlada depende de diversos factores, entre ellos, las condiciones de operación durante la producción (temperatura, pH, presión y humedad) y el manejo de estas partículas, así como la composición y estructura de los materiales utilizados (Fuchs *et al.*, 2006).

Actualmente existe una amplia variedad de materiales encapsulantes y agentes activos. Se denominan agentes activos a aquellos compuestos e ingredientes que son protegidos

mediante la encapsulación, entre los que se encuentran los nutraceuticos. De acuerdo con Lakkis (2016) los componentes o agentes encapsulantes se clasifican en diversas categorías:

- ceras y lípidos
- proteínas
- carbohidratos
- polímeros de grado alimenticio

Los carbohidratos son utilizados ampliamente en la encapsulación mediante el secado por atomización como soportes encapsulantes. Son excelentes candidatos en aplicaciones de encapsulación debido a que poseen muchos atributos, tales como: presentar baja viscosidad a altas concentraciones, formar parte integral de muchos sistemas alimenticios, tener un bajo costo, estar disponibles en un amplio intervalo de tamaños, además de tener buena solubilidad (Charalampopoulos *et al.*, 2002).

Las maltodextrinas son un subgrupo importante de los carbohidratos, otros carbohidratos importantes son las gomas las cuales, generalmente, son insípidas, pero pueden llegar a tener un efecto en el sabor de los alimentos. Las proteínas tienen excelentes propiedades funcionales, tales como solubilidad, viscosidad y emulsificación. Tienen la propiedad de formar películas debido a sus diversos grupos químicos, sus propiedades anfóteras, su capacidad de asociación e interacción con diferentes tipos de sustancias (Madene *et al.*, 2006).

Un agente acarreador especial son las ciclodextrinas las cuales son los únicos materiales que protegen al componente activo con base en la selectividad molecular. Generalmente, una molécula de agente activo es incluida en una molécula de ciclodextrina, aunque para algunas moléculas con bajo peso molecular, más de una molécula del agente activo es adaptada a la cavidad de la ciclodextrina (Lakkis, 2016). Debido a la amplia gama de propiedades de los distintos agentes acarreadores en muchas ocasiones se ha utilizado una combinación de estos para obtener un efecto sinérgico. Shu *et al.*, (2006) utilizaron gnetina en combinación

con sacarosa para encapsular licopeno y encontraron que los resultados fueron adecuados para una relación 3/7 (gelatina/sacarosa).

Existe una gran variedad de materiales utilizados en la industria alimentaria para las diferentes técnicas de encapsulación. Sin embargo, también existe la necesidad de encontrar la mejor opción para lograr los resultados óptimos para cada caso en particular y con ello mantener las funciones del agente activo y además obtener un encapsulado con alta homogeneidad y por lo tanto de alta calidad. Los materiales frecuentemente utilizados para encapsular son carbohidratos, lípidos, proteínas y algunos polímeros de grado alimenticio. Así también unos de los ingredientes comúnmente encapsulados son vitaminas, enzimas, aceites, microorganismos y algunos coadyuvantes del proceso. Entre las técnicas para determinar dicha calidad se tiene como herramienta la microscopía, además de técnicas específicas de acuerdo a cada agente activo (Guevara Bretón & Jiménez Munguía, 2008).

### 1.8.3 Nanocápsulas

Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en los que el compuesto bioactivo está cubierto por una cavidad rodeada de una membrana polimérica de 20-100 nm de diámetro con un espacio vacío en el interior (Cheung, 2015; Rai y col. 2015). La encapsulación en nanopartículas puede ofrecer una solución potencial para incrementar la eficiencia y estabilidad del compuesto activo, al mismo tiempo es protegido de la degradación o interacción con agentes externos y ayuda a mejorar la solubilidad y penetración en los tejidos. Además, es posible controlar la ruptura de la nanocápsula para liberar el compuesto activo, por ejemplo, cambiando las condiciones externas como pH o temperatura (Rai y col. 2015).

Los métodos para la creación de nanocápsulas se pueden clasificar como *top-down* y *bottom-up*, aunque se pueden utilizar combinados. Los primeros utilizan energía mecánica para reducir gotas o partículas a tamaño nanométrico. La homogenización y la molienda húmeda son algunos ejemplos. Los procesos *bottom-up* se basan en fenómenos físicos como precipitación y separación de fases (Huang, 2012).

Las capas ultradelgadas y la gran área superficial favorecen la penetración de agentes conocidos por iniciar la degradación de nutrientes. Ya que muchos compuestos de interés nutricional son sensibles al oxígeno, la capa exterior debe tener excelentes propiedades de barrera frente al oxígeno. Ésta cubierta ultradelgada además debe proporcionar protección contra la entrada de componentes que catalizan la oxidación o degradación hidrolítica, especialmente si las nanocápsulas son utilizadas en medio acuoso (Huang, 2012).

### 1.8.3.1 Métodos de preparación de nanocápsulas

En general hay seis métodos clásicos para la formación de nanocápsulas: nanoprecipitación, emulsificación-difusión, doble emulsión, emulsión-coacervación, recubrimiento por polímero y capa por capa. También se han utilizado otros como emulsión-evaporación y metodologías para la preparación de liposomas de polímero (Mora-Huertas *et al.*, 2010) y se describen a continuación:

- Nanoprecipitación: el método de precipitación también se denomina desplazamiento del disolvente o deposición interfacial. De acuerdo con Fessi *et al.*, (1998), la síntesis de nanocápsulas necesita fases tanto de disolvente y no disolvente. La fase de disolvente o una mezcla de disolventes, de un polímero, la sustancia activa, el aceite y un tensoactivo lipofílico. Esta solución es invertida o inyectada en una solución acuosa que puede o no contener un estabilizante y se agita moderadamente, el disolvente se difunde inmediatamente en el agua permitiendo la agregación del polímero en forma de nanocápsulas.
- Emulsificación-difusión: permite la nanoencapsulación de sustancias activas tanto lipofílicas e hidrofílicas. Este método se puede considerar como una modificación del proceso de “salting-out”, pero sin el uso de sales, lo que evita los subsecuentes pasos de purificación, así como los problemas relacionados con la compatibilidad entre los “activos” y los electrolitos empelados. La originalidad el método de emulsificación-difusión, consiste en el uso de disolventes parcialmente miscibles en agua, generalmente

aceptados para uso farmacéutico y alimenticio. El procedimiento requiere de tres fases; orgánica, acuosa y dilución, empleando un disolvente parcialmente soluble en agua en el que se disuelve el agente activo generalmente oleoso y en la fase acuosa un surfactante. Específicamente la fase orgánica se hace primero y el aceite se disuelve en el disolvente orgánico, la fase acuosa contiene el emulsionante (Moinar-Chécot *et al.*, 2008).

De acuerdo con Quintanar Guerrero *et al.* (1998) la preparación de nanocápsulas por el método de emulsificación-difusión permite la nanoencapsulación de sustancias activas. El procedimiento experimental realizado para conseguir esto requiere de tres fases: orgánica, acuosa y dilución, es decir, el método consiste en dos fases empleando un disolvente parcialmente soluble en agua en el que se disuelve el agente activo generalmente oleoso y en la fase acuosa un surfactante. Específicamente la fase orgánica se hace primero y el aceite se disuelve en el componente orgánico (previamente saturado con agua) y la fase acuosa (previamente saturada con disolvente orgánico que contiene el estabilizante). El tamaño de las nanocápsulas preparadas por este método es de aproximadamente 150-200 nm (Quintanar-Guerrero *et al.*, 2005).

Cuando el objetivo es la nanoencapsulación de una sustancia activa lipofílica, la fase orgánica contiene el polímero, la sustancia activa, el aceite y un disolvente orgánico parcialmente miscible en agua que debe estar saturado. Este medio orgánico actúa como disolvente para los diferentes componentes de la fase orgánica. Si se requiere, la fase orgánica también puede incluir una sustancia activa disolvente o un aceite disolvente. La fase acuosa comprende la dispersión acuosa de un agente estabilizante que se prepara usando disolvente saturado con agua para asegurar el equilibrio termodinámico inicial de ambos líquidos mientras que la fase de dilución es normalmente agua (Pinto-Reis *et al.*, 2006; Mora-Huertas *et al.*, 2010).

Para la preparación de nanocápsulas utilizando este método, la fase orgánica se emulsiona con agitación vigorosa en la fase acuosa que contiene el estabilizador (Pinto-Reis *et al.*, 2006). La posterior adición de agua para el sistema que provoca la difusión del disolvente en la fase externa, resultando la formación de nanocápsulas. Esta puede ser eliminada por destilación o filtración de flujo transversal, en función del punto de ebullición del disolvente. Se ha

mostrado que el tamaño de nanocápsulas está relacionado con la velocidad de cizallamiento utilizada en el proceso de emulsificación, la composición química de la fase orgánica, la concentración de polímero, la relación de polímero-aceite, y el tamaño de la emulsión primaria (Mora-Huertas *et al.*, 2010).

Esta técnica presenta varias ventajas, tales como la eficacia de la encapsulación (generalmente mayores a 70%), sin necesidad de homogeneización, la reproducibilidad alta de lote a lote, facilidad de ampliación, la sencillas y la distribución de tamaño estrecha. Las desventajas son los altos volúmenes de agua a ser eliminados de la suspensión y la filtración de la sustancia activa soluble en agua en la fase externa acuosa saturada durante la emulsificación. Al igual que con algunas de las otras técnicas, este es eficiente en la encapsulación de ingredientes activos liófilos (Quintanar-Guerrero *et al.*, 1998).

- Doble emulsificación: es un sistema heterodispersión complejo llamado “emulsiones de emulsiones”, que se pueden clasificar en dos tipos principales, emulsión agua-aceite-agua y emulsiones aceite-agua-aceite (Garti, 1997; Grigoriev & Miller, 2009). El principio de la formación de la doble emulsión, específicamente del tipo agua-aceite-agua se asocia con los principios tanto de nanoprecipitación y emulsificación-difusión. En la emulsión primaria agua-aceite el aceite se cambia por una fase orgánica que contiene un disolvente que es total o parcialmente miscible en agua, el polímero y el tensoactivo forman una película. El agua contiene un agente estabilizante y se añade al sistema para obtener la emulsión orgánica, en este paso, el endurecimiento de las partículas se obtiene a través de la difusión del disolvente y la precipitación del polímero (Bilati *et al.*, 2005; Khoee & Yaghoobian, 2008).
- Emulsificación-coacervación: Esta técnica implica la emulsificación aceite-agua de una fase orgánica por una fase acuosa por agitación mecánica o ultrasonido y se lleva a cabo mediante el uso de cualquier electrolito, como lo describe a detalle Lertsutthiwong *et al.*, (2008).

- Recubrimiento por polímero: Esta técnica se logra mediante la adsorción del polímero sobre nanocápsulas preformadas sin recubrimiento cuando este último se incuba en dispersión del polímero bajo agitación y ciertas condiciones de tiempo (Calvo *et al.*, 1997).
- Capa por capa: Es un proceso desarrollado por Sukhorukov et al. (1998) para la precipitación de partículas coloidales que permite obtener partículas vesiculares, llamadas cápsulas de polielectrolitos en hipersaturadas concentraciones de polielectrolitos a granel.

### **1.9 Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son extractos de plantas volátiles, hidrófobos, típicamente fragantes, que también pueden denominarse aceites volátiles o aceites vegetales. Estos aceites generalmente se obtienen por destilación por arrastre de vapor y contienen una gama de hidrocarburos terpenos oxigenados y no oxigenados (Baser & Buchbauer, 2015). Los aceites esenciales pueden derivarse de cualquier parte de la planta, como el follaje, la corteza, la madera, la fruta, las semillas o los rizomas. Se ha estimado que actualmente se conocen aproximadamente 3000 aceites esenciales y que aproximadamente el 10% de estos son comercialmente importantes (Schmidt, 2015).

## **CAPITULO II. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL**

### **2.1 Objetivos**

#### **2.1.1 Objetivo general**

Evaluar la aplicación de ultrasonido en jugo de zanahoria adicionado con nanocápsulas de aceite de limón a través de la determinación de propiedades físicas, fisicoquímicas y enzimáticas para el establecimiento de las mejores condiciones de operación.

#### **2.1.2 Objetivos particulares**

##### ***2.1.2.1 Objetivo particular 1***

Analizar los parámetros fisicoquímicos (pH y sólidos solubles) en jugo de zanahoria mediante potenciometría y refractometría como parámetros de control posterior al tratamiento de ultrasonido.

##### ***2.1.2.2 Objetivo particular 2***

Analizar los parámetros físicos (color y turbidez) en jugo de zanahoria mediante colorimetría y turbidimetría para su asociación con los cambios en la actividad enzimática y compuestos bioactivos.

##### ***2.1.2.3 Objetivo particular 3***

Evaluar el contenido de ácido ascórbico, carotenoides totales y polifenoles totales en jugo de zanahoria mediante pruebas espectrofotométricas para su asociación con la pérdida de calidad posterior al tratamiento de ultrasonido.

##### ***2.1.2.4 Objetivo particular 4***

Evaluar la actividad de polifenoloxidasa, peroxidasa y pectinmetilesterasa en jugo de zanahoria mediante pruebas espectrofotométricas para el establecimiento de las condiciones que inhiban de manera efectiva la actividad enzimática.

## 2.2 Materiales y métodos

### 2.2.1 Elaboración del jugo de zanahoria

Se adquirirán 15 kg de zanahoria en la central de abastos de Cuautitlán, México. Las zanahorias fueron lavadas y desinfectadas con solución de plata coloidal. Posteriormente se sometieron a una molienda húmeda en un procesador de alimentos para así obtener jugo fresco. Una vez obtenida la muestra se procedió a adicionar polisacáridos estabilizantes (Polivinilpirrolidona (pvp) y mucílago de chía) y nanocápsulas de aceite de limón con una concentración de 200 mg/L.

### 2.2.2 Sonicación del jugo de zanahoria

Para la aplicación de ultrasonido al jugo de zanahoria se hizo por medio de un procesador ultrasónico (hieischer) variando el tiempo y potencia por medio de un diseño factorial completo mostrando las condiciones de procesamiento en la tabla 5.

**Tabla 5.** Diseño de la aplicación de ultrasonido

<b>Muestra</b>	<b>Potencia (kw)</b>	<b>Tiempo (min)</b>
<b>Control</b>	0	0
<b>1</b>	30	1
<b>2</b>	60	1
<b>3</b>	30	2
<b>4</b>	60	2
<b>5</b>	45	1.5

### 2.2.3 Formación de las nanocápsulas

Las nanocápsulas de aceite esencial de limón fueron preparadas por el método de emulsificación - difusión (Quintanar-Guerrero et al., 1998). Se saturaron manualmente acetato de etilo y agua en un embudo de separación y se dejó reposar hasta alcanzar el equilibrio termodinámico entre ambas fases. En la fase acuosa saturada con acetato de etilo se solubilizó el poloxamero 407 (PCL) y en la fase orgánica saturada con agua se disolvió el biopolímero PCL, se adiciono el aceite esencial de limón procediéndose a preparar los sistemas submicrónicos de acuerdo con las condiciones optimizadas por Zambrano-Zaragoza et al. (2011) en un ultra agitador (Ultra-Turrax T50, IKA®, Staufen, Alemania con un elemento dispersor S25N-25 G, IKA®). Finalmente, el exceso de disolvente fue eliminado mediante evaporación a 30 °C y vacío de 50 mm Hg (RV10, IKA® Labortechnik, Staufen, Alemania).

### 2.2.4 Dispersión dinámica de 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 ( $\zeta$ ) 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.

### 2.2.5 Potenciometría

Para determinar el valor de pH se utilizó un potenciómetro (HANNA HI 208) el cual se calibro con soluciones estándar de un pH de 4 y 7 antes de la determinación a las muestras. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### 2.2.6 Refractometría

En la determinación de sólidos solubles se utilizó un refractómetro (HANNA HI 96801) donde previamente fue calibrado con agua destilada para comprobar que marcara lectura de valor cero. Posteriormente se colocó las muestras para poder obtener lecturas en °Brix. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### 2.2.7 Colorimetría

Para la determinación de color se realizó utilizando un colorímetro (Minolta Spectrophotometer CM-5). Se registraron coordenadas de L\*, a\*, y b\* de la escala de Hunter Lab de acuerdo con lo que establece la CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) que fueron tomadas usando iluminante C y un observador estándar a 10° con ayuda de una celda de cuarzo para líquidos. Cada medición fue realizada por triplicado. La evaluación de color se estableció de acuerdo al cambio total de color mediante la siguiente expresión:

$$\Delta E \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2} \quad \text{Ec. (1)}$$

### 2.2.8 Turbidimetría

Se determinó la turbidez por medio de un turbidímetro (ECOSHEL, WGZ-200) previamente se calibro con agua destilada comprobando que marcara lectura de cero, después se tomó 1 mL de jugo de zanahoria y 99 mL de agua diluyendo y homogenizando la muestra, la solución

resultante se colocó en la botella de muestra introduciéndola dentro del turbidímetro para finalmente se tomara la lectura. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### 2.2.9 Ácido ascórbico

Para la determinación de ácido ascórbico se utilizó el método de Robinson Stock donde se incorporaron 20 mL de jugo de zanahoria en 20 mL de ácido metafosfórico (HPO<sub>3</sub>) al 2% y fueron centrifugados por 20 min a 62.8 s<sup>-1</sup>. 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). Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. La concentración fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{\text{mg de ácido ascórbico}}{100 \text{ mL de muestra}} = \frac{Ac \cdot B \cdot 100}{C \cdot 1000 \cdot m} \quad \text{Ec. (2)}$$

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

### 2.2.10 Carotenoides totales

La determinación de carotenoides totales se midió por espectrofotometría. Se tomó 1 mL de jugo de zanahoria y se añadieron junto con 12.5 mL de hexano, 6.25 mL de cetona y 6.25 mL de etanol. La mezcla se agitó durante 20 minutos tapada y posteriormente se añadieron 5 mL de agua destilada. La absorbancia del sobrenadante fue medida en un espectrofotómetro UV - Visible (Genesys 10s) a una longitud de onda de 446 nm. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### 2.2.11 Fenoles totales

Para determinar Fenoles totales se utilizó el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965) el cual estima los polifenoles totales en diferentes alimentos. Se tomaron 5 mL de muestra y fueron añadidos a 15 mL de etanol. La mezcla se centrifugó por 20 min a  $628.3 \text{ s}^{-1}$  y se dejó reposar por 2 horas en oscuridad. Posteriormente se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de extracto al que se le adicionaron 3 mL de agua destilada y 250  $\mu\text{L}$  de reactivo Folin. Después de 8 min se incorporaron 750  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Carbonato de Sodio) junto con 950  $\mu\text{L}$  de agua destilada. La solución se incubó por 30 min y finalmente se tomó la absorbancia a 765 nm en el espectrofotómetro UV - Visible (Genesys 10s). Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por mL de la muestra, obteniéndose a partir de una curva patrón de ácido gálico a concentraciones de 50, 100, 150, 250 y 500 mg/L bajo las condiciones antes descritas. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### 2.2.12 Pectinmetilesterasa (PME)

Para la extracción de la enzima (PME) se tomaron 10 mL de jugo y se homogenizaron con 20 mL de una disolución que contiene 0.2 mol de NaCl y 10 g/L de polivinilpirrolidona usando un Ultra-Turrax (Tube Drive IKA®, EE.UU.) por 3 minutos, la mezcla se agitó magnéticamente durante 10 minutos con un baño de hielo externo. El homogeneizado se centrifugó en una ultracentrífuga refrigerada (Hermle LaborTechnik GmbH Z323K, Alemania) a  $18\,000 \times g$  a  $4^\circ\text{C}$  durante 40 minutos y se filtró a través de papel Whatman de 1.2  $\mu\text{m}$ . La disolución obtenida consistió en el extracto enzimático crudo para la determinación de la actividad PME, el cual se ajustó a  $\text{pH} = 7.5$  con NaOH 2M y NaOH 0.2M. La actividad PME (EC 3.1.1.11) se determinó de acuerdo con la metodología propuesta por Hagerman y Austin (1986) basado en el cambio de color de un indicador de pH durante la reacción catalizada por la PME con algunas modificaciones. En una celda espectrofotométrica se le adicionó 1 mL de pectina cítrica (10 g/L) a  $60^\circ\text{C}$ , 200  $\mu\text{L}$  de azul de bromotimol (0.1 g/L), 200  $\mu\text{L}$  de NaCl (0.2 M) y 580  $\mu\text{L}$  de agua Mili-Q®. Cada solución fue ajustada a  $\text{pH} = 7.5$  con NaOH 2M y NaOH 0.2 M. La reacción se inició con la adición de 20  $\mu\text{L}$  del extracto enzimático a la mezcla, se agitó ligeramente y se midió el decremento de la absorbancia a 640 nm durante 5 minutos

utilizando un espectrofotómetro UV/Vis (Genesys 10s). La cantidad de  $\mu$ moles de ácido liberados por acción de la PME fueron obtenidos a partir de una curva patrón realizada con ácido galacturónico desde 0.1 a 0.8  $\mu$ moles de ácido. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **2.2.13 Polifenoloxidasasa (PPO)**

La extracción de la enzima (PPO (10 g) se homogenizó 10 mL de jugo en un Ultra- Turrax (Tube Drive IKA®, Wilmington, EE.UU.) con 20 mL de fosfato de sodio (0.2 mol pH 7.0), 10 mL/L Triton® X-100 y polivinilpirrolidona (50 g/L) durante 30 s a 4 °C. El homogeneizado se filtró para eliminar las partículas sólidas y se centrifugó a 837.75 s<sup>-1</sup> utilizando una ultracentrífuga (Hermle Z323K, Labortechnik GMBH, Wehingen, Alemania) durante 35 min a 4 °C. El sobrenadante consistió en el extracto enzimático en bruto para determinar la actividad PPO. La actividad PPO se obtuvo por el método propuesto por Zhou, Smith y Lee (1993) utilizando 2.8 mL de catecol (50 mmol de citrato-fosfato en solución reguladora a pH 5) al cual se le añadió 0.2 mL de extracto enzimático. Los cambios en la absorbancia a 420 nm durante 15 min se midieron en un espectrofotómetro UV/VIS (Genesys 10s, Thermo scientific, Waltham, Massachussets, EE.UU.) y en comparación con una muestra sin extracto enzimático. Las unidades de actividad PPO se definieron como un cambio de 0.001 Uabs/min. El ensayo se realizó por triplicado en tres extractos independientes.

### **2.2.14 Peroxidasa (POD)**

La actividad (POD) se determinó utilizando la metodología propuesta por Gonçalves y col. (2010) con algunas modificaciones. Brevemente, las muestras con y sin tratamiento (10 mL) se homogenizaron en un Ultra-Turrax (Tube Drive IKA®, EE.UU.) en 100 mL de solución de cloruro de sodio (1 mol) durante 2 minutos y el homogenizado se centrifugó en tubos de polipropileno a 16 155  $\times$ g utilizando una ultracentrífuga refrigerada (Hermle LaborTechnik GmbH Z323K, Alemania) a 4 °C. La suspensión se filtró usando una membrana de 1.2  $\mu$ m (Whatman). El filtrado se mezcló con guayacol y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> como sustratos. El aumento de la absorbancia a 470 nm se registró usando un espectrofotómetro UV/Vis (Genesys 10s). La definición utilizada para 1 unidad de actividad enzimática fue la cantidad de enzima que

produce un cambio en la absorbancia de 1 por cada minuto y por mL de muestra de extracto bajo las condiciones de ensayo. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### **2.3 Análisis Estadístico**

Se realizó un diseño factorial completo utilizando el software estadístico MINITAB® versión 19, donde todas las determinaciones fueron realizadas por triplicado y se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar diferencias significativas entre las variables ( $\alpha = 0.05$ ).

## CAPÍTULO III. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 3.1 Caracterización del sistema nanoestructurado

La Tabla 6, muestra que el tamaño de partícula y el índice de polidispersión de las nanocápsulas de aceite esencial de limón se asimila a lo reportado por Zambrano-Zaragoza *et al.*, (2011) para un sistema de talla submicrónica con el mismo centro activo. Las características de tamaño y polidispersión del método de preparación, la composición de la fase orgánica y por la velocidad de corte del proceso de emulsificación. Moinard-Chécot *et al.*, (2008) reporta que este método permite tamaños controlados de nanocápsulas de 100 – 500 nm, la distribución de los tamaños de partícula obtenidos en este sistema nos indica la homogeneidad del sistema.

**Tabla 6.** Características de las nanocápsulas de aceite esencial de limón.

TP (nm)	IPD (-)	$\zeta$ (mV)
<b>268± 12</b>	0.23 ± 0.03	<b>-37.94 ± 3.61</b>

El  $\zeta$  obtenido para las nanocápsulas de aceite esencial de limón 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  $\zeta$  nos permite realizar predicciones acerca de la estabilidad de almacenamiento de una dispersión coloidal.

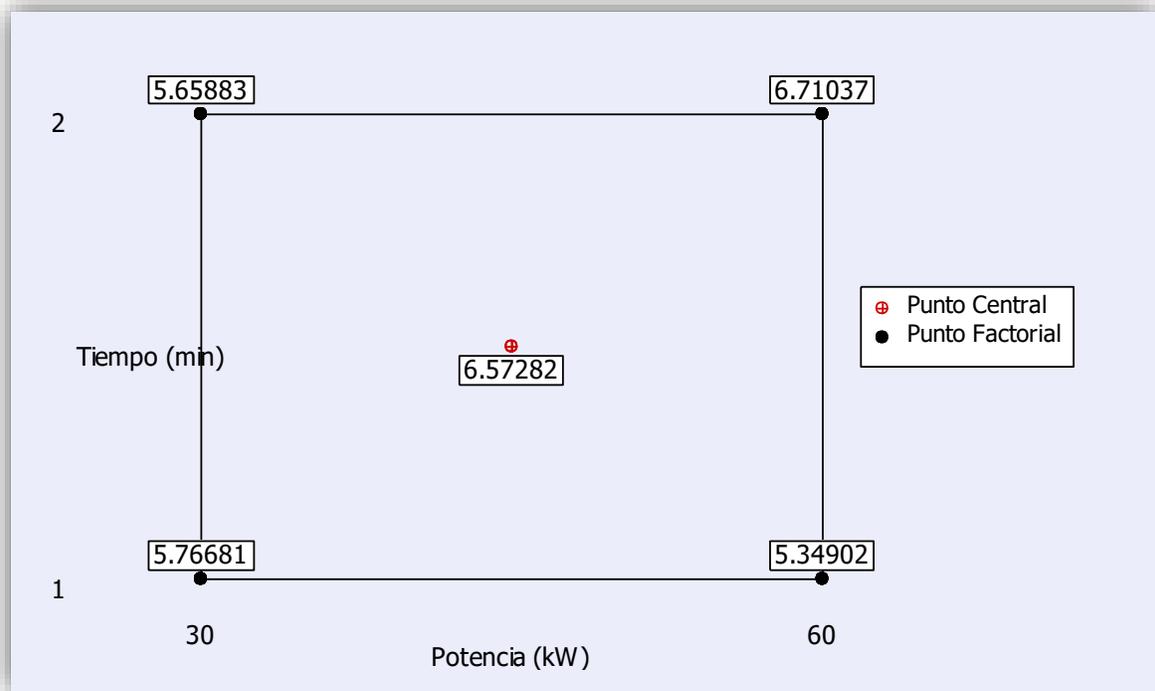
Estudios proponen que potenciales zeta de  $\pm 30$  mV a  $\pm 6$  mV como un intervalo óptimo, ya que estos valores netos son necesarios para la estabilización electrostática, por tanto, el sistema que se adicionara al jugo de zanahoria es estable y adecuado para aplicar la tecnología.

### 3.2 Carotenoides totales

Los carotenoides están presentes en cantidades considerables en los productos de jugo de zanahoria y se sabe que son la principal causa de su capacidad antioxidante y también contribuyen a sus propiedades sensoriales ya que los carotenoides puede aumentar el valor estético de los productos de jugo y hacerlo más atractivo para el consumo (Zou & Jiang, 2016).

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre el contenido total de carotenoides en el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 14, donde el resultado indicó que la variable que realizo un cambio significativamente fue la potencia de procesamiento, así como la interacción del tiempo y la potencia de procesamiento ( $p \leq 0.05$ ). Se presentó un aumento significativo a 60 kW de potencia con tiempo de 2 min con respecto a las muestras de control (de 6.43 a 6.89  $\mu\text{g}$  de E $\beta$ C/mL) aumentando la concentración de carotenoides en un 7%, por otro lado, se presentó una disminución significativa a 30 kW de potencia con tiempo de 1 min con respecto a las muestras de control (de 6.43 a 5.94  $\mu\text{g}$  de E $\beta$ C/mL) disminuyendo la concentración de carotenoides en un 8%. El tiempo en términos lineales no mostró cambios significativos en el proceso ( $p > 0.05$ ).

Estudios anteriores también han demostrado donde el ultrasonido contribuyo a cambios significativos ( $p > 0.05$ ) de carotenoides totales en jugos de manzana, zanahoria y fresa donde los mejores resultados se obtuvieron a bajo tiempo de procesamiento, pero a alta potencia (Zou & Jiang, 2016; Abid et al., 2014).



**Figura 14.** Diagrama de cubo para la actividad de carotenoides totales.

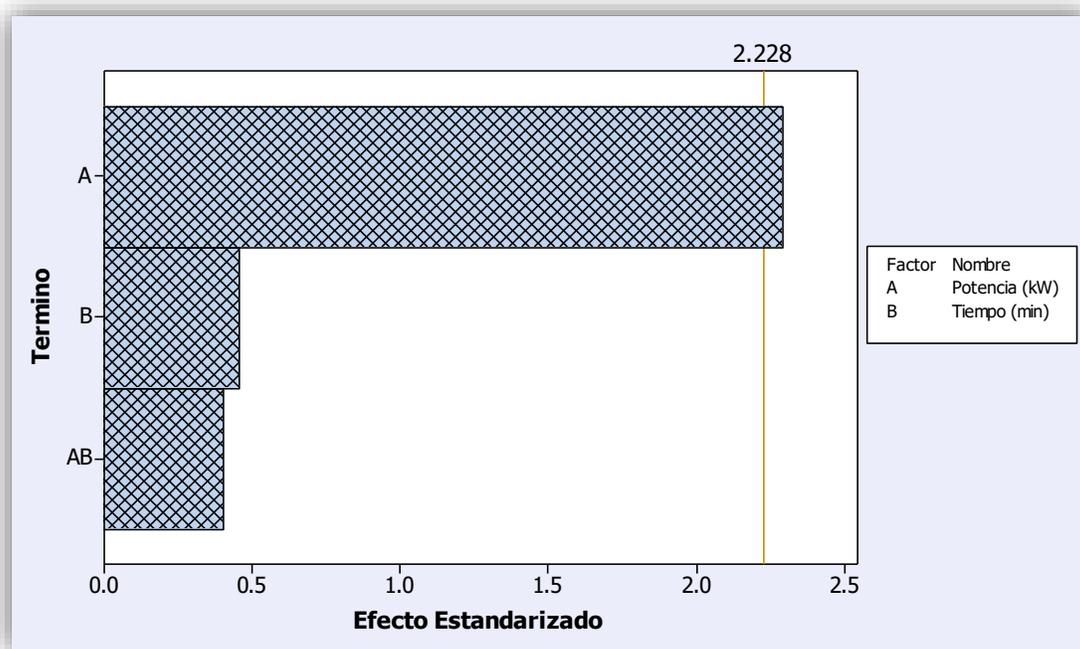
La aplicación del tratamiento con ultrasonido aumentó el contenido de carotenoides este efecto parece estar relacionado con un aumento en la capacidad de extracción de los componentes colorantes por el tratamiento sonicación en lugar de un aumento absoluto. La homogeneización y la cavitación producidas alteran las membranas celulares y el complejo proteína-carotenoide, haciendo que los carotenoides sean más accesibles para la extracción (Jabbar *et al.*, 2015). En consecuencia, la estabilidad o el aumento de la actividad antioxidante de los jugos puede atribuirse a la mejora de la retención o disponibilidad de estos compuestos con actividad antirradical. Por otro lado, también se ha informado cierta degradación debido a la formación de productos oxidativos durante el proceso de ultrasonido bajo determinadas condiciones (Rojas, Miano, & Augusto, 2017).

### 3.3 Ácido Ascórbico

Existen varias sustancias que presentan una actividad biológica de vitamina C, el ácido L-deshidroascórbico representa aproximadamente un 80% de la potencia vitamínica del ácido L-ascórbico.

Además de su función como nutriente esencial, se utiliza ampliamente como un aditivo alimentario debido a sus propiedades antioxidantes y reductoras. El ácido ascórbico inhibe eficazmente el pardeamiento enzimático al reducir los productos orto-quinona (Fennema *et al.*, 2010).

Al igual que con todas las vitaminas, el contenido de ácido ascórbico de los vegetales varía de manera considerable conforme a muchos factores relacionados con las prácticas agrícolas (genética, fertilizantes, insolación, riego, etcétera), con el manejo postcosecha y con la preparación en proceso para su consumo (Badui, 2006).



**Figura 15.** Diagrama de Pareto para la actividad de ácido ascórbico.

En la Figura 15 se muestra el efecto del tratamiento con ultrasonido sobre el contenido de ácido ascórbico en el jugo de zanahoria, donde el resultado determino que la variable que realizo un cambio significativo fue la potencia de procesamiento ( $p \leq 0.05$ ), obteniendo valores entre 66.07 y 73.09 mg/100 mL (en tratamientos con 60 kW a 1 minuto de tiempo) en contraste con 104.92 mg/100 mL de las muestras de control. En comparación se obtuvo una disminución significativa de ácido ascórbico contra las muestras de control, influyendo de manera negativa la potencia de procesamiento, disminuyendo la concentración de ácido ascórbico hasta en un 31%, donde la pérdida fue en todas las muestras tratadas con ultrasonido. El tiempo en términos lineales y la interacción del tiempo y la potencia no mostró cambios significativos en el proceso ( $p > 0.05$ ).

Zafra-rojas *et al.*, (2013) menciona en su trabajo realizado en un jugo de pera hubo condiciones donde se generó una disminución en el contenido de ácido ascórbico, refiere que la pérdida de ácido ascórbico durante el proceso de sonicación es causada por procesos oxidativos en entornos aeróbicos y anaeróbicos asociados con la producción y el uso de radicales hidroxilos. Rawson *et al.*, (2011) menciona que los factores que más influyen en la degradación del ácido ascórbico son tiempos prolongados de procesamiento y exposición del alimento a niveles elevados de energía.

Los resultados obtenidos en la aplicación de ultrasonido al jugo de zanahoria indican que se utilizaron potencias de procesamiento de muy altas ya que en todos los resultados hay una disminución en el contenido de ácido ascórbico en cada.

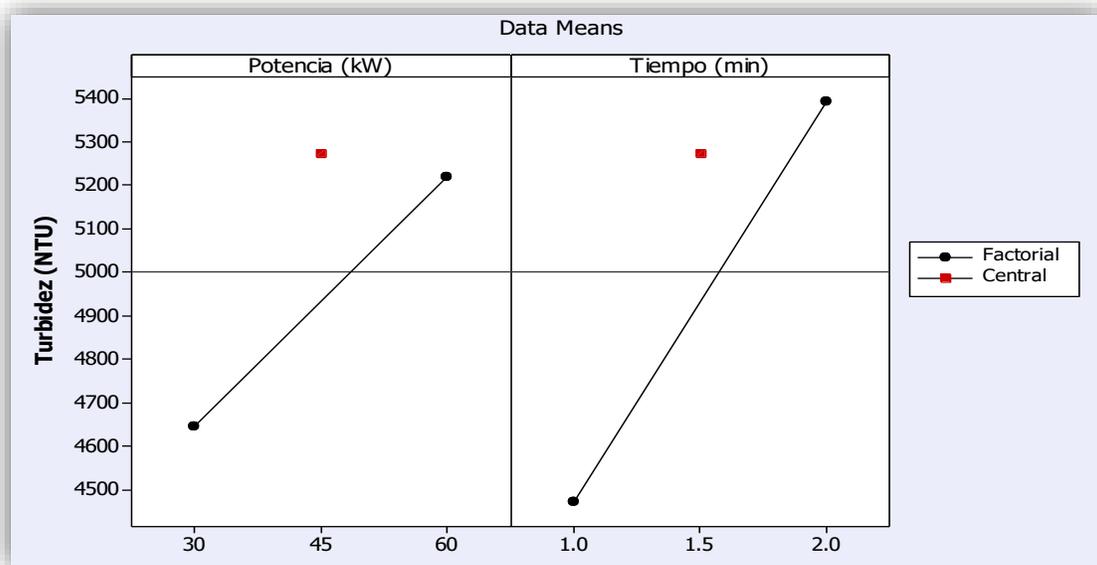
Teniendo en cuenta a lo mencionado por los anteriores autores en comparación con el trabajo realizado, la potencia que ellos emplean en el proceso de ultrasonido es muy baja, utilizan un máximo de 1500 W habiendo una gran diferencia significativa en el nivel de poder (30 kW – 60 kW) aplicado durante el procesamiento.

### **3.4 Turbidez**

La turbidez cuantifica el grado en que la luz viaja a través de una muestra que es dispersada por partículas en suspensión. La turbidez depende esencialmente de las entidades de tamaño

coloidal presente en la fase líquida y en la distribución de tamaño de partícula (Campoli et al., 2018).

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre la turbidez que presenta el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 16, donde el resultado del estudio indicó que las variables que realizaron un cambio significativamente, fueron la potencia y tiempo de procesamiento, así como la interacción del tiempo y la potencia de procesamiento ( $p \leq 0.05$ ), obteniendo valores que oscilaron entre 4300 y 5760 NTU en contraste con 3972.41 NTU de las muestras de control. Se presentó un aumento significativo en comparación de las muestras tratadas con ultrasonido a las de control, influyendo de manera positiva la potencia de procesamiento y tiempo de procesamiento, aumentando la turbidez hasta en un 45%, el aumento fue en todas las condiciones de potencia y tiempo realizadas.



**Figura 16.** Diagrama de efectos mínimos para la turbidez.

Campoli *et al.*, (2018) da a conocer un aumento de la turbidez de un jugo de guayaba sometido a ultrasonido con condiciones de potencia máxima de 1000 W, frecuencia de 20 kHz y donde se evitó la sedimentación de partículas y una mayor claridad.

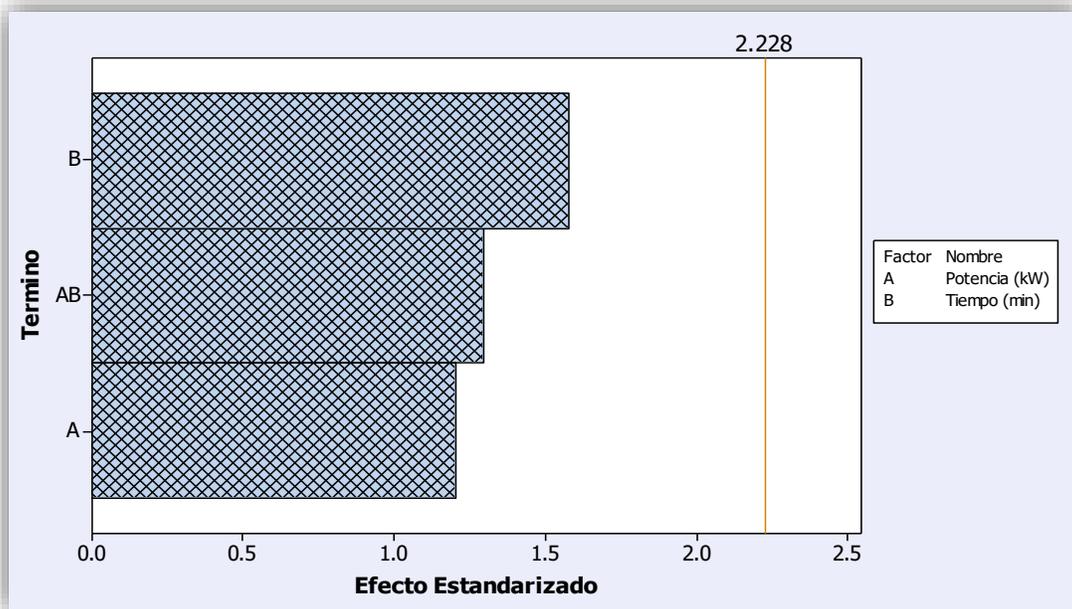
Esto tiene relación con los resultados ya que el tratamiento de ultrasonido modificó la turbidez del jugo de zanahoria esto puede ser debido a que la acción del ultrasonido reduce la actividad enzimática de ciertas enzimas causantes del deterioro de los alimentos y pérdida de turbidez a lo largo de su almacenamiento (Marshall *et al.*, 1985).

El efecto físico de la cavitación acústica genera ondas de choque y altas fuerzas de corte en cual se puede interrumpir las partículas suspendidas y disminuir el tamaño de las partículas efectuando la transmitancia y proporcionando una mejor uniformidad y estabilidad del jugo (Li *et al.*, 2019).

### **3.5 Color ( $\Delta E$ )**

El color es un indicador importante de la calidad del jugo de zanahoria y está relacionado con la presencia de carotenoides (Zhang *et al.*, 2019). El color amarillo anaranjado del jugo de zanahoria generalmente está influenciado por la existencia de pigmentos naturales como los carotenoides, y este atributo de calidad se ve afectado por la etapa de madurez de la fruta, los tratamientos de procesamiento, las condiciones de almacenamiento y las reacciones de oscurecimiento (Ordóñez-santos, Martínez-girón, & Arias-jaramillo, 2017).

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre cambio de color total ( $\Delta E$ ) en el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 17, donde el resultado del estudio indicó que las variables de potencia y tiempo de procesamiento no realizaron un cambio significativamente ( $p \leq 0.05$ ), obteniendo valores entre 3.47 a 5.87. No se presentó una disminución o aumento significativo a las muestras de control, donde no se influye de manera negativa o positiva, la potencia y tiempo en términos lineales y en interacción no mostró cambios significativos en el proceso ( $p > 0.05$ ).



**Figura 17.** Diagrama de Pareto para el cambio de color total ( $\Delta E$ ).

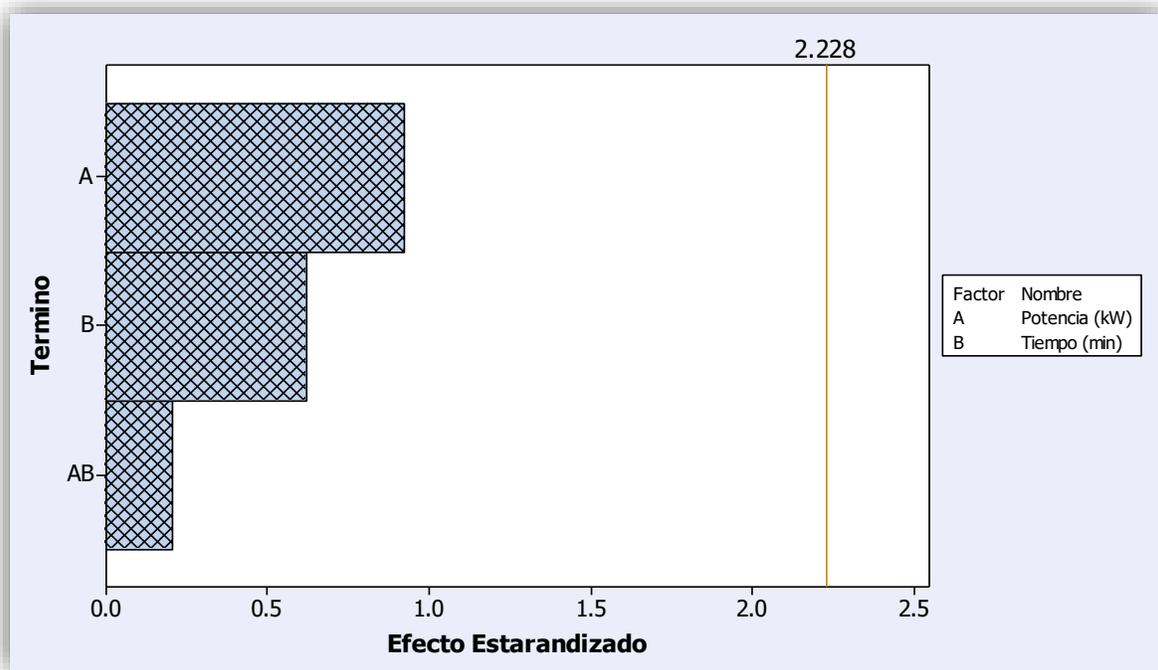
El efecto de ultrasonido mostró que no hubo cambios en el color total siendo que no genero un impacto en dicha propiedad, siendo similar el resultado en comparación en el trabajo realizado por Khandpur & Gogate, (2016) donde en un jugo de naranja procesado por ultrasonido poseía mayor frescura y atributos de calidad en términos de color que el jugo de naranja procesado térmicamente. Las muestras sometidas con ultrasonido mantuvieron su color original y la calidad del jugo en términos de color tuvo una vida útil significativa (de 4 semanas según los datos representados) mientras que el color de las muestras de control o el jugo procesado térmicamente se volvió más oscuro.

Es importante señalar aquí que la actividad enzimática es generalmente responsable del oscurecimiento de las frutas y verduras. La preservación de color puede explicarse sobre la base de una disminución en la actividad de las enzimas debido a los efectos de cavitación inducidos por las irradiaciones ultrasónicas. El efecto positivo del ultrasonido en la preservación de los productos procesados en comparación con los productos crudos puede atribuirse a la eliminación de oxígeno. Durante la cavitación, tiene lugar la desgasificación del fluido, se elimina el oxígeno de los medios evitando la oxidación (Khandpur & Gogate, 2015).

### 3.6 Polifenoloxidasas (PPO)

La polifenoloxidasas (PPO) es una enzima ampliamente distribuida en la naturaleza y juega un papel importante en la catalización de la hidroxilación de monofenoles para o-difenoles y deshidrogenación de o-difenoles a o-quinonas en presencia de oxígeno relacionados con cambios de deterioro, básicamente dan como resultado un pardeamiento; resultando en la pérdida de calidad de los jugos de frutas y vegetales (Zhang *et al.*, 2019).

Tradicionalmente, la inactivación de polifenoloxidasas (PPO) se logra mediante la aplicación de tratamientos térmicos, que, sin embargo, pueden causar la pérdida de la sensorial y nutricional de los productos para el consumidor. Siendo así que se ha ganado importancia para las tecnologías no térmicas.



**Figura 18.** Diagrama de Pareto para el efecto en polifenoloxidasas (PPO).

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre polifenoloxidasas (PPO) en el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 18, donde el resultado del estudio indicó que las variables de potencia y tiempo de procesamiento no realizaron un cambio significativo ( $p \leq 0.05$ ), el uso

de 60 kW a 1 minuto obtuvo valores entre de 89.75 (U/min mL) en contraste con  $96.7 \pm 2.65$  (U/min mL) de las muestras de control. No se presentó una disminución o aumento significativo a las muestras de control, donde no se influye de manera negativa o positiva, la potencia y tiempo en términos lineales así como su interacción no mostró cambios significativos en el proceso ( $p > 0.05$ ).

Los resultados obtenidos no fueron congruentes con algunos otros autores, es el caso de Cao, Cai, Wang, & Zheng, (2018) que realizó tratamientos de ultrasonido donde obtuvo una reducción significativa a la actividad de la polifenoloxidasa (PPO) en jugo de arándano. La actividad de PPO se redujo en un 53.23% y un 12.84% en 90 y 181 W/cm<sup>2</sup> durante 10 min. Con el incremento de la intensidad o tiempo del ultrasonido, la tasa de inactivación de PPO aumentó dramáticamente.

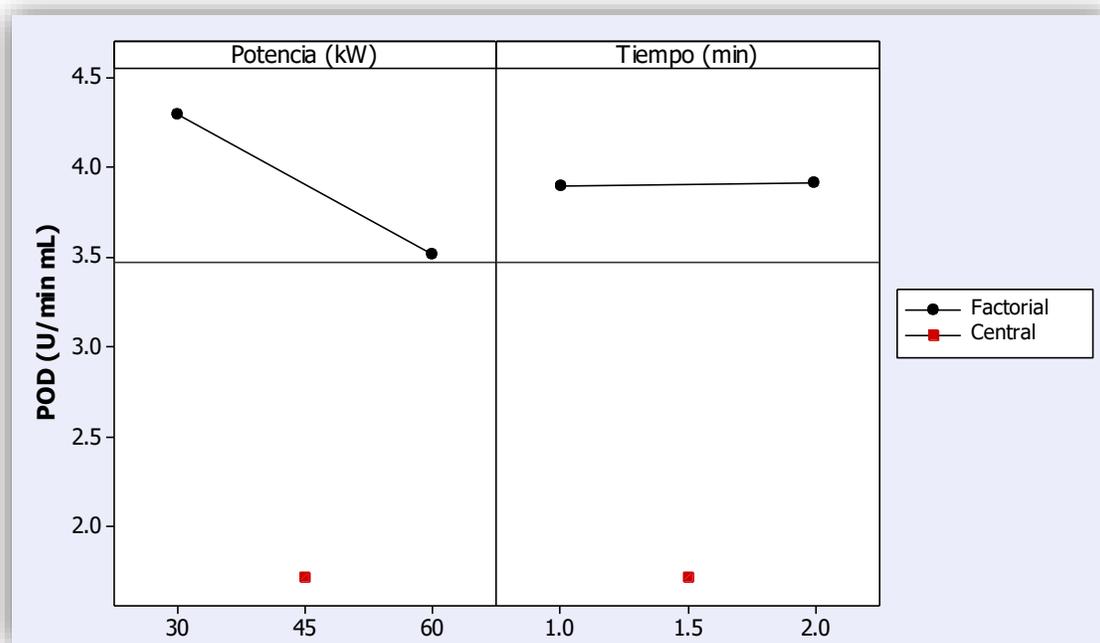
Por otro lado Bot *et al.*, (2018) observó en un estudio de jugo de manzana que una inactivación de dos pasos, consistió en una disminución lenta de la actividad de PPO en los primeros minutos de tratamiento, seguidos de una caída más brusca. Estos resultados indicarían que inicialmente la estructura de la enzima resistía las tensiones del tratamiento, mientras que el despliegue rápido de sus proteínas ocurriría en tiempos de tratamiento más altos. De esta forma se justificaría con los resultados obtenidos ya que en el presente trabajo no se manejan tiempos prolongados siendo que esto podría ser un factor para no haber tenido cambios significativos de PPO.

### **3.7 Peroxidasa (POD)**

La peroxidasa (POD) es una enzima que cataliza la oxidación de un amplio número de sustratos orgánicos e inorgánicos. Catalizan la oxidación de fenoles propios de las células a quinonas, las cuales son altamente reactivas con proteínas, ácidos nucleicos, flavonoides y otras quinonas; estas reacciones, además de generar colores pardos, reducen las propiedades sensoriales de textura, color y sabor, disminuyen la calidad nutricional del alimento y desembocan finalmente en la muerte del fruto (Baquero, 2005)

El oscurecimiento enzimático ocurre inmediatamente cuando la enzima y el sustrato se mezclan durante la destrucción de la estructura celular (Cao *et al.*, 2018).

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre el contenido peroxidasa (POD) en el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 19, donde el resultado del estudio indicó que la variable que realizó un cambio significativo fue debido a la potencia de procesamiento, así como por la interacción del tiempo y la potencia de procesamiento ( $p \leq 0.05$ ), obteniendo valores que oscilaron entre 4.82 a 1.85 (U/min mL) en contraste con  $8.97 \pm 1.12$  (U/min mL) de las muestras de control. Se presentó una disminución significativa a con respecto a las muestras de control, disminuyendo la concentración de contenido peroxidasa (POD) 36.32%. El tiempo en términos lineales no mostró cambios significativos en el proceso ( $p > 0.05$ ).



**Figura 19.** Diagrama de efectos mínimos para efecto en peroxidasa (POD).

Los resultados obtenidos se comparan con los realizados por Cao *et al.*, (2018) sobre la inactivación de peroxidasa, todas las condiciones redujeron significativamente la actividad de PPO tratando en un jugo de arándano. La actividad de PPO se redujo en un 53.23% y un 12.84% en 90 y 181 W/cm<sup>2</sup> durante 10 min sin enfriar, respectivamente. Con incremento

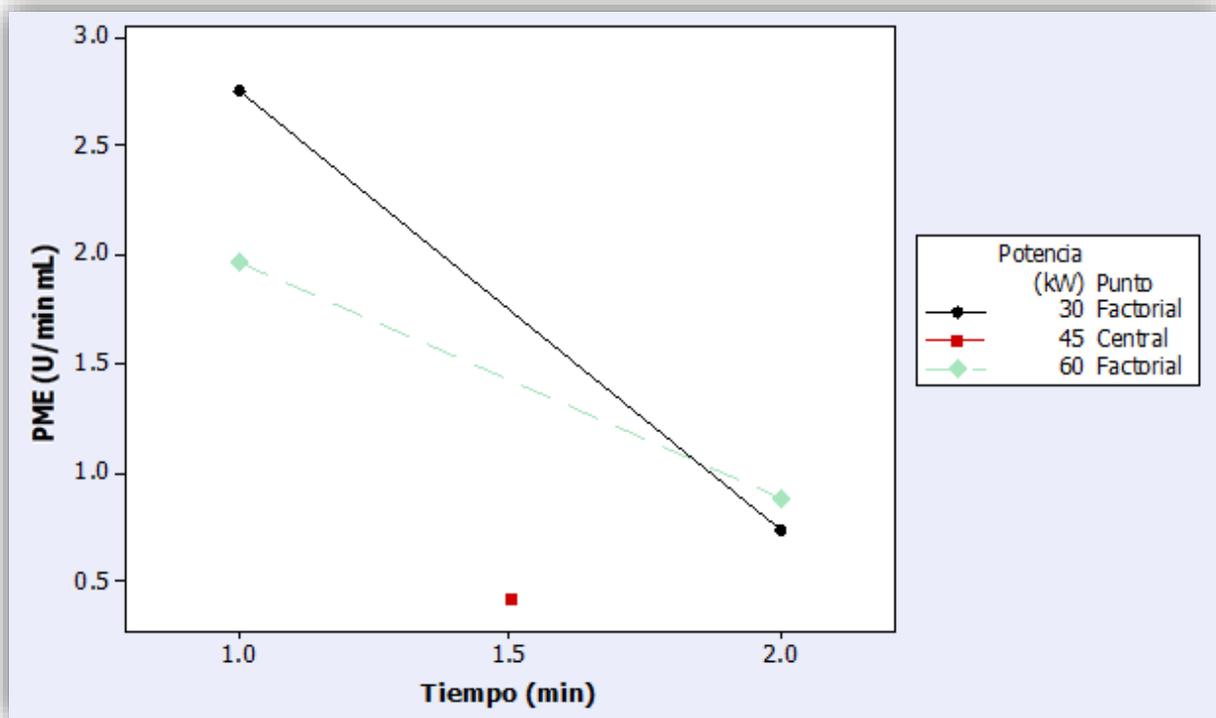
intensidad o tiempo del ultrasonido, la tasa de inactivación de PPO aumentó significativamente.

Esto se debe a que el principio básico involucrado en la inactivación enzimática es la despolimerización, efecto que, involucra dos posibles mecanismos: degradación del polímero debido al efecto de cavitación al fenómeno de inestabilidad que ocurre debido a la unión de radicales libres, al sustrato de la enzima resultando en inestabilidad y la pérdida de actividad enzimática (Dolas, Saravanan, & Kaur, 2019).

### **3.8 Pectinmetilesterasa (PME)**

La pectinmetilesterasa (PME) es sintetizada por plantas particularmente vegetales y cítricos, hongos y bacterias. La pectina es un componente principal de la pared celular de las plantas, durante la maduración normal de los frutos, las pectinas son degradadas lo cual contribuye a cambios de textura como el ablandamiento y la liberación del jugo. Esta enzima se puede encontrar en varios tejidos y están principalmente asociadas por interacciones iónicas con las proteínas de la pared celular (Swamy, Muthukumarappan, & Asokapandian, 2018)

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre la actividad de la pectinmetilesterasa (PME) que presenta el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 20, donde el resultado del estudio indicó que las variables que realizaron un cambio significativo, fueron la potencia y tiempo de procesamiento, así como por la interacción del tiempo y la potencia de procesamiento ( $p \leq 0.05$ ), obteniendo valores que oscilaron entre 0.80 y 2.85 (U/min mL) en contraste con  $4.59 \pm 1.46$  (U/min mL) de las muestras de control. Se presentó una disminución significativa en comparación a las muestras de control, influyendo de manera positiva la potencia de procesamiento y tiempo de procesamiento disminuyendo la actividad de la enzima hasta en un 80 % en las condiciones donde se presentó menor actividad, la disminución fue en todas las condiciones de potencia y tiempo realizadas.



**Figura 20.** Diagrama de interacción para efecto de pectinmetilesterasa (PME).

La disminución de la actividad de pectinmetilesterasa (PME) se comparó con el trabajo realizado por Dolas et al., (2019) donde se investigó el efecto de la aplicación de ultrasonido para la pectinmetilesterasa en un jugo de naranja el cual empleó una frecuencia de 24 kHz con temperatura ambiente donde se observaron inactivación del 91% y 62%. La diferencia en el resultado puede deberse a los diferentes tipos de ultrasonidos, frecuencia y uso del control de temperatura durante el tratamiento. El control de temperatura y frecuencia más alto empleado habría contribuido a la mayor tasa de cavitación resultando en una mayor inactivación de la enzima.

Los efectos químicos que produce el ultrasonido sobre el jugo como los radicales libres formados debido a la sonólisis del agua ataca sitios específicos como los enlaces disulfuro que desestabiliza la conformación de la enzima y puede oxidar los residuos de aminoácidos como triptófano, tirosina, histidina y cisteína que son responsables para la actividad catalítica y la estabilidad de varias enzimas. La cavitación provoca cambios de temperatura, presión y

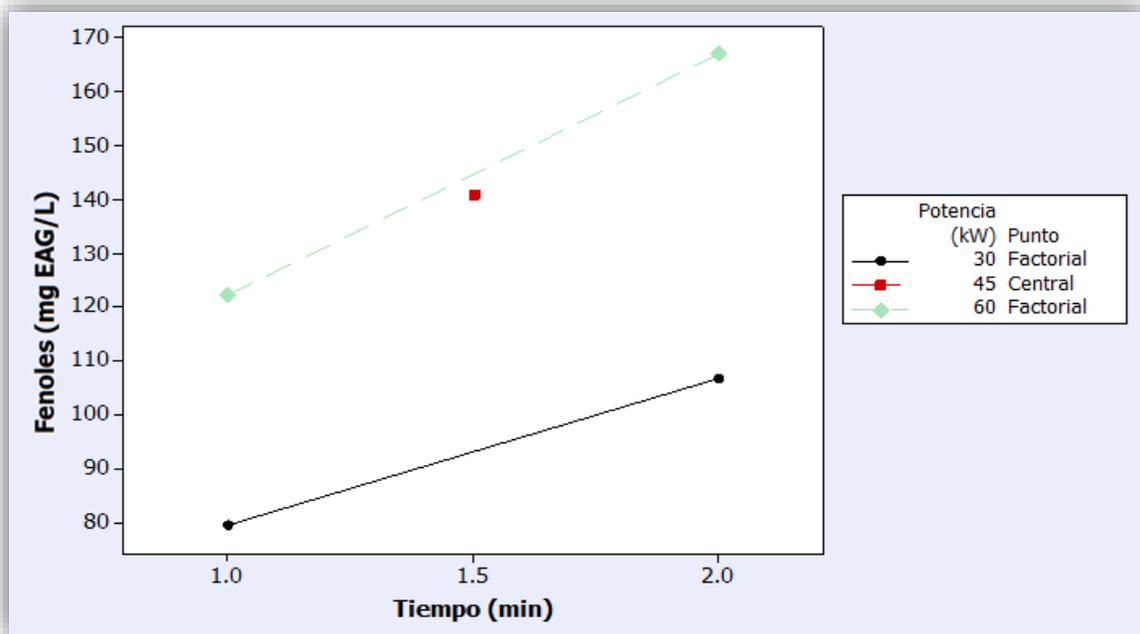
aumenta el esfuerzo cortante en el entorno enzimático que resulta en la descomposición del hidrógeno y unión de Van der Waals que da como resultado la pérdida de actividad enzimática (Dolas *et al.*, 2019)

Por lo anterior, la actividad de la PME se considera un parámetro importante en la calidad de muchos jugos incluyendo el de zanahoria. Si se reduce la actividad de la PME se limita la degradación de las sustancias pépticas, por lo tanto, las pérdidas ponderadas en la viscosidad y la estabilidad física y coloidal pueden ser disminuidas.

### **3.9 Fenoles totales**

Además de la vitamina C, las frutas y verduras también son ricas en compuestos fenólicos que son muy beneficiosos para la salud humana debido a su potencial antioxidante, ya que eliminan los radicales libres (Muhammad, Zeng, Han, & Sun, 2013). Los compuestos fenólicos se degradan, oxidan o polimerizan rápidamente durante el procesamiento y almacenamiento. Por lo tanto, el contenido fenólico total es un indicador importante de la calidad del jugo de fruta (Swamy *et al.*, 2018).

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre los fenoles totales que presenta el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 21, donde el resultado del estudio indicó que las variables que realizaron un cambio significativo fueron la potencia y tiempo de procesamiento, así como por la interacción del tiempo y la potencia de procesamiento ( $p \leq 0.05$ ), obteniendo valores que oscilaron entre 79.52 y 166.82 mg EAG/L en contraste con  $63.78 \pm 3.81$  mg EAG/L de las muestras de control. Se presentó un aumento significativo en comparación a las muestras de control, influyendo de manera positiva la potencia de procesamiento y tiempo de procesamiento aumentando los polifenoles hasta en un 165%, el aumento fue en todas las condiciones de potencia y tiempo realizadas.



**Figura 21.** Diagrama de interacción para polifenoles totales.

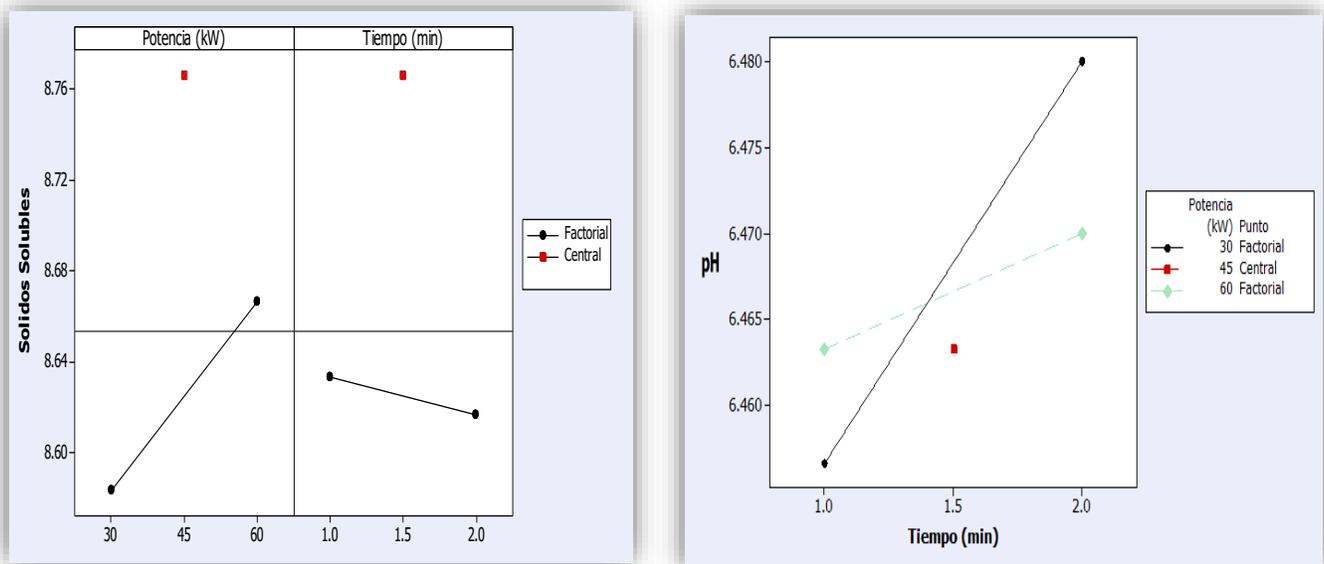
De acuerdo con los resultados obtenidos por Ordóñez-santos *et al.*, (2017) se observó que hubo un aumento significativo en los fenoles totales en un jugo de grosella sometido a ultrasonido en comparación con el control y el calor térmico. El aumento en el contenido fenólico total en las muestras fue del 14.60%, respectivamente en comparación con el control.

Por otro lado Zafra-rojas *et al.*, (2013) menciona que obtuvo un incremento en los compuestos fenólicos al ser sometidos a ultrasonido en un jugo de pera, esto lo justifica debido a que los compuestos fenólicos están presentes en la vacuola en forma soluble o unidos a la pared celular de pectina, celulosa, hemicelulosa y lignina. Es posible que el uso de ultrasonido de potencia mejore la interrupción de las paredes celulares biológicas y facilite la liberación de sus contenidos a través del colapso cavitacional en el entorno de partículas coloidales lo que es beneficioso para liberar más compuestos fenólicos en el jugo. También el procesamiento de ultrasonido de alta intensidad podría producir grupos hidroxilo adicionales que pueden conectarse al anillo aromático para producir más compuestos fenólicos.

### 3.10 Sólidos Solubles y pH

El concepto de pH (potencial hidrógeno) deriva de la necesidad de cuantificar la acidez y la alcalinidad. La acidez es una propiedad que se detectó por el sabor agrio de las sustancias naturales, mientras que la alcalinidad se apreció por la sensación jabonosa de algunas sustancias al tacto. Por otro lado, los sólidos solubles son todos los sólidos disueltos en un medio acuoso, éstos incluyen sales entre otros, aunque en su mayoría son azúcares las cuales se miden en grados Brix (Lee & Kader, 2000).

El efecto del tratamiento con ultrasonido sobre los sólidos solubles y pH en el jugo de zanahoria se muestra en la Figura 22, donde como resultado del estudio indicó que las variables de potencia y tiempo de procesamiento no realizaron un cambio significativo ( $p \leq 0.05$ ), obteniendo valores de grados Brix entre 8.57 a 8.77 en contraste con 8.5 de las muestras de control. Se presentó un aumento mínimamente insignificante del 1 al 2 % a las muestras de control, por otro lado, se obtuvieron valores de pH entre 6.46 a 6.48 en contraste con 6.54 de las muestras de control, donde hubo una disminución mínimamente del 1 al 1.5 % a las muestras de control, no influye de manera negativa o positiva la potencia y tiempo en términos lineales y en interacción no mostró cambios significativos en el proceso ( $p > 0.05$ ).



**Figura 22.** Diagrama de efectos mínimos para sólidos solubles y diagrama de interacción para pH.

De acuerdo con Abid *et al.*, (2013) los resultados con respecto al efecto del ultrasonido en un jugo de manzana sobre el pH y grados Brix no se observó que hubo cambios significativos ( $p>0.05$ ) que de igual forma Ordóñez-santos *et al.*, (2017) informa que no se observaron cambios significativos en las propiedades fisicoquímicas en los tratamientos realizados en un jugo de grosella estos resultados pueden estar asociados con la intensidad ultrasónica así como los tiempos de exposición aplicados al jugo, el nivel de energía aplicado a las muestras no modificó las estructuras moleculares de alto peso molecular asociadas con estas propiedades fisicoquímicas.

## CONCLUSIONES

Se determinó que la aplicación de procesamiento ultrasónico en jugo de zanahoria no modificó el pH y sólidos solubles, lo cual es conveniente en el procesamiento de alimentos, además de que son indicio de que otros componentes de importancia biológica como el ácido ascórbico se mantuvo en proporciones adecuadas.

El análisis del cambio total de color y turbidez en el jugo de zanahoria se asociaron con los cambios en la actividad enzimática y concentración de compuestos bioactivos, resaltando que no tuvieron un cambio significativo en las respuestas mencionadas.

El contenido de ácido ascórbico, carotenoides y polifenoles totales en jugo de zanahoria se vio favorecido por el tratamiento con ultrasonido, esto debido la naturaleza del tratamiento, la ruptura de enlaces que hacen más reactiva una sustancia y que no se empleó temperatura en el procesamiento, lo cual se asoció a un incremento de la calidad de las muestras posterior al tratamiento con ultrasonido.

La evaluación de la actividad de polifenoloxidasas, peroxidasa y pectinmetilesterasa en jugo de zanahoria reveló que la variable que más afecta a la actividad enzimática fue la potencia empleada en el tratamiento, aunado a esto, se infiere que la adición de nanocápsulas que contenían el aceite esencial de limón, ayudo a el control de la actividad enzimática, posterior al tratamiento ultrasónico.

Se recomienda la evaluación de la capacidad antioxidante de las muestras para su asociación con la concentración de componentes activos, además de realizar ensayos de inactivación microbiana para el seguimiento de la inocuidad de los tratamientos realizados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Muhammad, M., Hu, B., Lei, S., ... Zeng, X. (2013). Ultrasonics Sonochemistry Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 20(5), 1182–1187. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.02.010>
- Ashokkumar, M., Lee, J., Kentish, S., and Grieser, F. (2007). Bubbles in an acoustic field: An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(4), 470–475.
- Arthey, D. (1992). *Procesado de hortaliza*. España: Acribia.
- Azuola, R. Y., Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistidas por Ultrasonido. *Tecnología en marcha*. 20 (4), 31-32.
- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M.M., Wu, T., Lei, S., Khan, M.A., Zeng, X., (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 984e990. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.12.003>.
- Baquero, E. (2005). *Catalasa , peroxidasa y polifenoloxidasas en pitaya amarilla ( Acanthocereus pitajaya ) : maduración y senescencia Catalase , Peroxidase and Polyphenoloxidase from Pitaya Amarilla ( Acanthocereus pitajaya ) Fruits : Ripening and Senescence*. 10(2). Badui, D. S. (2006). *Química de los alimentos*. México, Pearson Educación.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Feng, H., & Weiss, J. (2011). *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*. Nueva York: Springer.
- Barreiro, J., Sandoval, A. (2006). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*. Venezuela: Editorial Equinoccio.

- Bartley, G. E., & Scolnik, P. A. (1995). Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health. *The Plant Cell*, 7(7), 1027.
- Bot, F., Calligaris, S., Cortella, G., Plazzotta, S., Nocera, F., & Anese, M. (2018). Study on high pressure homogenization and high power ultrasound effectiveness in inhibiting polyphenoloxidase activity in apple juice. *Journal of Food Engineering*, 221, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.10.009>
- Carriel, J. M., Obrebska, A. A., Bru-martínez, R., & Patiño, M. C. (2014). Distribución, localización e inhibidores del polifenoloxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. *Ciencia y Tecnología (Quevedo)*, 7(1), 23–31.
- Cheftel, J. C., Cheftel, H. (1992). Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos. Acribia, Zaragoza.
- Campoli, S. S., Rojas, M. L., Eduardo, J., Gomes, P., Canniatti-brazaca, S. G., Esteves, P., & Augusto, D. (2018). Ultrasound processing of guava juice : Effect on structure , physical properties and lycopene in vitro accessibility. *Food Chemistry*, 268(April), 594–601. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.127>
- Chemat, F., Zill-e-Huma., & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18(4), 813–835. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.018>
- Cao, X., Cai, C., Wang, Y., & Zheng, X. (2018). The inactivation kinetics of polyphenol oxidase and peroxidase in bayberry juice during thermal and ultrasound treatments. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45(September 2017), 169–178.
- Dedios, J. Y., Morales, D. R., Pérez, M. P., Santos, D. E., & Vera, N. C. (2005). El ultrasonido y su aplicación. *Industrial Data*. 8(1), 25-28.
- Delgado, J. O. (2012). Aplicación del Ultrasonido en la Industria de los Alimentos. *Publicaciones e Investigación*, 6, 141-152.
- Dos Santos, P.P., Paese, K., Staniscuaski, S., Raffin, A., Jablonski, A., Hickmann, S., & Olivera, A.

- (2016). Stability study of lycopene-loaded lipid-core nanocapsules under temperature and photosensitization. *LWT- Food Science and Technology*. 190-195.
- Demir, H. (2019). *Effect of batch and continuous thermosonication on the microbial and physicochemical quality of pumpkin juice*. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03976-3>
- Dolas, R., Saravanan, C., & Kaur, B. P. (2019). Ultrasonics - Sonochemistry Emergence and era of ultrasonic ' s in fruit juice preservation : A review. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 58(January), 104609. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.026>
- FAO (2011). Productos frescos de verduras, fichas técnicas. Consultado el 15 de noviembre de 2019. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/a-au174s.pdf>.
- Fennema, O. R. (2000). *Química de los alimentos*. Acribia.
- Fleischmann, A., Darsow, M., Degtyarenko, K., Fleischmann, W., Boyce, S., Axelsen, K. B., & Apweiler, R. (2004). IntEnz, the integrated relational enzyme database. *Nucleic acids research*, 32(suppl\_1), D434-D437.
- French, A. P. (1971). *Vibration and Waves. M.I.T. Introductory physics series*. Nueva York: W. W. Norton & Company, Inc.
- Gómez, D. J., López, M. A. (2009). Aplicaciones del ultrasonido en el tratamiento de alimentos. *Temas Selectos de Ingenieria de Alimentos*. 59-73.
- González, G. 2005. Aplicación de Ultrasonidos para la estabilización de sistemas alimentarios. *Congreso de Desarrollo Agroindustrial Instituto Universitario de la Paz*. 1-5.
- Gasull, E., & Becerra, D. (2006). Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera (cv. Packam' s Triumph) y Manzana (cv. Red Delicious). *Información tecnológica*, 17(6), 69-74.
- Hernández, R., Blanco, D. (2015). Evaluación de polvos de zanahoria obtenidos por deshidratación por aire forzado a diferentes temperaturas. *IDESIA*. 33 (4): 75-80.

- Heymen, B., Depypere, F., Dellaere, C., & Dewettinck, K. (2010). Effects of non-starch hydrocolloids on the physicochemical properties and stability of a commercial béchamel sauce. *Journal of Food Engineering*, 115-120.
- Huang, Q. (Ed.). (2012). *Nanotechnology in the food, beverage and nutraceutical industries*. Elsevier.
- Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Hashim, M. M., Lei, S., Wu, T., & Zeng, X. (2015). *Exploring the potential of thermosonication in carrot juice processing*. 52(November), 7002–7013. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1847-7>
- Joyce, E., Phull, S. S., Lorimer, J. P., & Mason, T. J. (2003). The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured Bacillus species. *Ultrasonics Sonochemistry*. 10, 315–318.
- Kris-Etherton, P., Hecker, K.D., Bonanome, A., Coval, S.M. (2002). Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine*, 113(9), 71-88.
- Khandpur, P., & Gogate, P. R. (2015). *Ultrasonics Sonochemistry Understanding the effect of novel approaches based on ultrasound on sensory profile of orange juice*. 27, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.05.001>
- Khandpur, P., & Gogate, P. R. (2016). Ultrasonics Sonochemistry Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juices. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 29, 337–353. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.10.008>
- Laborde, J. L., Bouyer, C., Caltagirone, J. P., and Gerard, A. (1998). Acoustic bubble cavitation at low frequencies. *Ultrasonics*, 36(1–5), 589–594.
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest biology and technology*, 20(3), 207-220.
- Leighton, T. G. (1994). *The acoustic bubble*. San Diego, CA, Academic.

- 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, A. S., Palou, E., & López, A. (2012). Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2), 79.
- López, O. (2010). Industrialización de zanahoria. *TecnoAgro*. (52):1-3.
- López, A., Figueroa, J., Mendoza, A., Martínez, H., Ramírez, B., Morales, E., Garcia, I. 2006. The Ultrasound Technique for Predicting Wheat Quality on Single Kernels. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 29, 163-169.
- Li, J., Cheng, H., Liao, X., Liu, D., Xiang, Q., & Wang, J. (2019). LWT - Food Science and Technology Inactivation of *Bacillus subtilis* and quality assurance in Chinese bayberry ( *Myrica rubra* ) juice with ultrasound and mild heat. *LWT - Food Science and Technology*, 108(February), 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.061>
- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. y Desobry, S. (2006). Encapsulación de sabores y liberación controlada: una revisión. *Revista internacional de ciencia y tecnología de los alimentos*, 41 (1), 1-21.
- McClements, D.J. (1995). Advances in the application of ultrasonund in food análisis and processing. *Trends in food Science and Technology*. 6(9):293-299.
- Marshall, M.R., Marcy, J.E. y Braddock, R.J. 1985. Effect of total solids level on heat inactivation of pectinesterase in orange juice. *J. Food Sci.* 50:220.
- Martínez-Navarrete, N., Vidal, M. D. M. C., & Lahuerta, J. J. M. (2008). Los compuestos bioactivos de las frutas y sus efectos en la salud. *Actividad dietética*. 12(2), 64-68.
- Muhammad, R., Zeng, X., Han, Z., & Sun, D. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141(3), 3201–3206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.008>

- Morales-Blancas, E. F., Chandia, V. E., & Cisneros-Zevallos, L. (2002). Thermal inactivation kinetics of peroxidase and lipoxygenase from broccoli, green asparagus and carrots. *Journal of Food Science*, 67(1), 146-154.
- Muñoz, Q. S., Olza, J., & Gómez L. C. (2010). Compuestos bioactivos de los alimentos de origen vegetal. In *Tratado de nutrición: Composición Y Calidad Nutritiva De Los Alimentos* (p. 399).
- Nazk, M., y Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal. Chromatography. A*, 1054, 95-111.
- Neethirajan, S., & Jayas, D.S. (2011). Nanotechnology for the food and bioprocessing industries. *Food and bioprocess technology*, 4(1), 39-47.
- Ordóñez-santos, L. E., Martínez-girón, J., & Arias-jaramillo, M. E. (2017). *Effect of ultrasound treatment on visual color , vitamin C , total phenols , and carotenoids content in Cape gooseberry juice*. 233, 96–100. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.114>
- Povey, M., & Mason, T. (1998). *Ultrasound in food processing*. London, Blackie Academic and Professional.
- 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 (*Magifera indica* L.) variedad común. *Asociación colombiana de ciencia y tecnología de alimentos*, 20(23), 53-78.
- Posada, J. M., Pineda, S. V. y Agudelo, O. G. (2003). Los antioxidantes y su relación con las enfermedades crónicas. Recuperado el 23 de Diciembre de 2019 de: [http://chocolatecorona.com.co/docs/libro\\_antioxid.ntes.pdf](http://chocolatecorona.com.co/docs/libro_antioxid.ntes.pdf)
- Price, G. J. (1990). The use of ultrasound for the controlled degradation of polymer solutions. *Advances in Sonochemistry*, 1, 231–287.

- Qian, C., Andrew, E., Xiao, H., & Julian, D. (2011). Physical and chemical stability of B-carotene-enriched nanoemulsions: influence of pH, ionic strength, temperature, and emulsifier type. *Food chemistry*, 1221-1229.
- Rawson, A., Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P. J., & O'Donnell, C. (2011). Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International*, 44(5), 1168-1173.
- Rojas, M. L., Miano, A. C., & Augusto, P. E. D. (2017). Ultrasound Processing of Fruit and Vegetable Juices. In *Epigenetic Biomarkers and Diagnostics*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804581-7.00007-5>
- Robles, L. E., & Ochoa, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 13(2), 109-122.
- Rodríguez, M. C., Falcón, M. G., Reyes, M. L., & Gándara, J. S. (2001). Bebidas enriquecidas con vitaminas antioxidantes: aspectos legales y estudio de su etiquetado nutricional. *CYTA-Journal of Food*, 3(3), 173-179.
- Swamy, G. J., Muthukumarappan, K., & Asokapandian, S. (2018). Chapter 23. Ultrasound for Fruit Juice Preservation. In *Fruit Juices*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00023-0>
- Samaniego, E., Ibarz, A., Ruales, J. (2014). Efecto de irradiación ultravioleta en la actividad enzimática de la polifenoloxidas y peroxidasa y las propiedades fisicoquímicas del jugo de dos variedades de naranjilla (*Solanumquitoense*Lam). *Revista EPN*, 33(2).
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2015). Márgenes de comercialización zanahoria. Gob.mx. Consultado el 10 de noviembre de 2019. Recuperado de: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/71250/MargenesComer\\_Zanahoria\\_Marzo2015](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/71250/MargenesComer_Zanahoria_Marzo2015).

- Smirnoff, N., & Wheeler, G. L. (2000). Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 35(4), 291-314.
- Shyla, B., & Nagendrappa, G. (2013). Redox spectrophotometric method involving electrolytically generated manganese (III) sulphate with diphenylamine for the determination of ascorbic acid present in the samples of various fruits, commercial juices and sprouted food grains. *Food chemistry*, 138(2), 2036-2042.
- Thakur, B. R., and Nelson, P. E. (1997). Inactivation of lipoxygenase in whole soy flour suspension by ultrasonic cavitation. *Nahrung-Food*, 41, 299–301.
- Weigel, F., Weiss, J., Andrew, E., & Julian, D. (2017). Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: influence of emulsifiers and antioxidants on physical and chemical stability. *Food chemistry*, 295-403.
- Wong, D. W., Voragen, A. G., & Whitaker, J. R. (2003). *Handbook of food enzymology*. Marcel Dekker.
- Yasui, K. (2002). Influence of ultrasonic frequency on multibubble sonoluminescence. *Journal of the Acoustic Society of America*, 112(4), 1405-1413.
- Zhong, M. T., Ming, X. W., Su, P. W., & Ju, Q. K. (2004). Effects of ultrasound and additives on the function and structure of trypsin. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11, 399–404.
- Zukauskas, R. (2016). Carrot. *Salem Press Encyclopedia of Science*, 2.
- Zafra-rojas, Q. Y., Cruz-cansino, N., Ramírez-moreno, E., Delgado-olivares, L., Sánchez, J. V., & Alanís-garcía, E. (2013). Ultrasonics Sonochemistry Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear ( *Opuntia ficus-indica* ) juice. *Ultrasonics - Sonochemistry*, 20(5), 1283–1288. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.01.021>
- Zhang, W., Yu, Y., Xie, F., Gu, X., Wu, J., & Wang, Z. (2019). LWT - Food Science and Technology High pressure homogenization versus ultrasound treatment of tomato juice : Effects on stability and in vitro bioaccessibility of carotenoids. *LWT - Food Science and Technology*, 116(800), 108597. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108597>

Zou, Y., & Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology*, 36(1), 111–115.  
<https://doi.org/10.1590/1678-457X.0061>