



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

**EFFECTO DEL TRATAMIENTO POR
IRRADIACIÓN UV-C Y/O ULTRASONIDO
SOBRE LOS FENÓLES Y ACTIVIDAD
ENZIMÁTICA DE JUGO DE PIÑA.**

TESIS

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

**PRESENTA:
JUAN ENRIQUE HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ**

**ASESORES:
DR. RICARDO MOISÉS GONZÁLEZ REZA
DRA. MARÍA DE LA LUZ ZAMBRANO ZARAGOZA**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México



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**

UNAM
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
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 tratamiento por irradiación UV-C y/o ultrasonido sobre los fenoles y actividad enzimática de jugo de piña.

Que presenta el pasante: **Juan Enrique Hernández Rodríguez**
Con número de cuenta: **414062182** 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 26 de octubre de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Tais Nopal Guerrero	
VOCAL	I.A. Miriam Alvarez Velasco	
SECRETARIO	Dr. Ricardo Moisés González Reza	
1er. SUPLENTE	M. en C. Julieta González Sánchez	
2do. SUPLENTE	Dra. María Olivia Noguez Córdova	

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

MCVB/cga*



AGRADECIMIENTOS



A mis padres **Maura y Enrique**, los cuales, mediante su apoyo, ejemplo, esfuerzo, sacrificio y amor. Me siguen proporcionando las herramientas más esenciales para poder disfrutar esta vida, las cuales son, valores, responsabilidad y educación. Sepan que son y siempre serán la luz en cualquier oscuridad, la esperanza en los malos momentos y mi coraje para poder superar cualquier miedo. Los amo y saben que con ustedes estaría una y mil vidas más.

A mi familia por su grata compañía y apoyo brindado durante esta etapa de mi vida, pero, sobre todo, el ejemplo de las magníficas cualidades que tienen cada uno de ustedes y ocupan para salir adelante en el día a día.

Para esas dos personas **Daniel Ceballos y Uriel García**, que fueron un rol muy importante en esa etapa de mi vida, las cuales, son poco comunes y extraordinarios, y con gusto les llamare siempre amigos. **Daniel**; agradezco tu compañía, apoyo y todos los momentos que pasamos durante esta hermosa experiencia llamada UNAM. **Uriel**; agradezco tu compañía, apoyo y los excelentes consejos que siempre me brindaste. “Nunca crezcan, hermanos de la Generación 38-IA”.

A mis ascensores, se dice que la enseñanza más que impartir un conocimiento, es inspirar el cambio y ustedes **Dr. Ricardo Moisés González Reza y Dra. María De La Luz Zambrano Zaragoza**, logran esa inspiración en los alumnos, gracias por brindarme su apoyo y valioso conocimiento, durante el desarrollo del presente trabajo de investigación. **Dr. Ricardo**; usted es de esas personas que nunca se va del alma por dejar huella en nuestras vidas, agradezco infinitamente el apoyo y

paciencia que le brinda a los alumnos de nuestra amada carrera Ingeniería en Alimentos.

A mis sinodales **M. en C. Tais Nopal Guerrero, I.A. Miriam Álvarez Velasco, M. en C. Julieta González Sánchez y Dra. María Olivia Noguez Córdova**, por el tiempo dedicado, conocimiento transmitido y valiosas aportaciones realizadas durante el curso de la carrera y la revisión de este trabajo de investigación.

A grandes seres y colegas, incluso algunos de Carrera, como lo son, **Vianey Ortiz, Fidel Trejo, Joaquín Sánchez, Alejandra Bobadilla, Carmen Martínez, Jaqueline Copado, Ángel García, Rodrigo Ronzón, Diana Suarez, Estela Estrella, David Serret y Jesús Martínez** que se han cruzado en mi camino durante, la etapa de curso de esta hermosa carrera e inicios de mi vida laboral en la industria de los alimentos, los cuales, me han brindado un gran apoyo con sus grandes enseñanzas, consejos, conocimientos, excelente compañía y sobre todo con el ejemplo. Lo cual, contribuyo bastante a mi desarrollo académico y está contribuyendo a mi desarrollo laboral y social.

Y Finalmente a mi amada **Universidad Nacional Autónoma de México**, quien me brindo los principios y los fundamentos de mi desarrollo académico que sirven como base para mi desarrollo laboral y social, y me permito ampliar mi panorama de vida; de igual manera, gracias a ella obtuve grandes amistades, conocí grandes académicos que causan gran admiración y excelentes compañeros. Y me hará recordar siempre que *en nosotros reside el anhelo de alcanzar la verdad y el saber.*

“Por mi Raza hablara el espíritu”.

El presente proyecto fue financiado por:

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”.

El proyecto PAPIIT IN222520, “Manufactura, evaluación, caracterización y uso de sistemas nanoestructurados en el incremento de vida útil de alimentos”.

El proyecto de Catedra CI2233 de la FESC: “Extracción, caracterización y manufactura de sistemas nanoestructurados naturales como coadyuvantes en el proceso con tecnologías emergentes para la conservación de alimentos”

Juan Enrique Hernández Rodríguez, agradece el apoyo técnico para la realización de pruebas de espectrofotometría a la Dra. María de los Ángeles Cornejo Villegas.

Lugar de realización de la tesis:

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

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	v
INTRODUCCIÓN	vi
CAPITULO MARCO TEÓRICO	1
1.1 Piña	1
1.1.1 Variedades	1
1.1.2 Producción de Piña en México	3
1.1.3 Composición y Propiedades	6
1.1.4 Jugo de Piña	7
1.2 Actividad Enzimática	8
1.2.1 Definición	9
1.2.2 Pectinmetilesterasas (PME)	9
1.2.3 Peroxidasa (POD)	11
1.2.4 Polifenoloxidasa (PPO)	11
1.2.5 Métodos de inhibición	12
1.3 Conservación de alimentos	13
1.3.1 Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos	13
1.4 Alimentos Funcionales	17
1.4.1 Aplicación de nanoestructuras en alimentos funcionales	18
1.4.2 <i>Eysenhardtia Polystachya</i>	18
CAPITULO 2 – METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL	21
2.1 Objetivos	21
2.1.1 Objetivo General	21
2.1.2 Objetivos Particulares	21
2.3 Materiales y Métodos	22
2.3.1 Materiales	22
2.3.2 Materia Prima	22
2.3.3 Extracción de los flavonoides de EP	22
2.3.4 Preparación de las nanoesferas	23
2.3.5 Dispersión dinámica de la luz y movimiento electroforético	23

2.5 Procesamiento para la pasteurización del jugo de Piña	24
2.7 Pasteurización en frío por luz UV-C	26
2.8 Pasteurización en frío por ultrasonido	26
2.9 Tratamientos combinados (UV-C y Ultrasonido)	26
2.10 Análisis de las muestras en almacenamiento refrigerado	27
2.10.1 Colorimetría	27
2.10.2 Turbidez	28
2.10.3 Fenoles Totales	28
2.10.4 Flavonoides	29
2.10.5 Polifenoloxidasa (PPO)	29
2.10.6 Peroxidasa (POD)	30
2.10.7 Pectinmetilesterasa (PME)	30
2.11 Análisis estadístico	31
CAPITULO 3 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
3.1 Colorimetría	32
3.1.2 Cromaticidad	33
3.2 Turbidez	35
3.3 Fenoles Totales.	36
3.4 Flavonoides.	38
3.5 PPO	39
3.6 POD	41
3.7 PME	42
CAPITULO 4 – CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES.	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido nutrimental de la piña MD2 (SAGARPA, 2017).	6
Tabla 2. Ventaja y desventajas de la Luz UV empleada en la conservación de alimentos (Domínguez et al., 2017).	16
Tabla 3. Ensayos utilizados durante la fase experimental de este proyecto.	27
Tabla 4. Nomenclatura de los tratamientos utilizados en la fase experimental.	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Piña variedad Cayenne (SAGARPA, 2017).	2
Figura 2. Piña variedad Queen (SAGARPA, 2017).	2
Figura 3. Piña variedad Spanish (SAGARPA, 2017).	3
Figura 4. Piña variedad Cayenne Lisa (SAGARPA, 2017).	4
Figura 5. Piña variedad MD2 (SAGARPA, 2017).	5
Figura 6. Estructura de la PME en cítricos (Di Matteo, 2005).	10
Figura 7. Mecanismo de acción de la PME (Di Matteo, 2005).	10
Figura 8. Mecanismo de la PPO (Fennema, 2000).	12
Figura 9. Planta Eysenhardtia Polystachya (SEMARNAT, 2015).	19
Figura 10. Estructura flavonoides (Williams et al., 2004).	20
Figura 11. Espectro electromagnético (Villaroel et al., 2015).	16
Figura 12. Diagrama de proceso del jugo de piña clarificado procesado con luz UV-C y/o ultrasonido.	25
Figura 13. Cambios de color de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	32
Figura 14. Cambios de cromaticidad de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	34
Figura 15. Cambios de turbidez de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	35

Figura 16. Cambios de contenido de fenoles totales de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	37
Figura 17. Cambios de contenido de flavonoides de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	38
Figura 18. Actividad residual relativa PPO en la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	40
Figura 19. Actividad residual relativa POD en la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	41
Figura 20. Actividad residual relativa PME en la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.	43

RESUMEN

En la actualidad existe una tendencia mundial por la investigación y el desarrollo de técnicas de conservación y mejora de alimentos que permitan obtener productos de alta calidad nutricional y lo más similares a los alimentos frescos, deben estar preferentemente libres, de agentes químicos conservadores.

Con base en lo anterior, en la presente investigación se sintetizaron nanoestructuras conjugadas con un extracto de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* (EP), el cual, es rico en flavonoides, con el fin de ser utilizados en la elaboración de una bebida de piña, sometida a tratamientos de UV y Ultrasonido almacenado a 4 °C, para retrasar la actividad enzimática y los efectos microbianos que afectan al mismo.

Para poder determinar la efectividad de los diferentes tratamientos aplicados en la bebida de jugo de piña y el efecto anti enzimático del extracto de *Eysenhardtia polystachya* (EP), se determinaron pruebas químicas como fenoles totales y flavonoides, además de la actividad enzimática mediante PPO, PMO y PME.

Los tratamientos empleados en combinación con el extracto adicionado a la bebida funcional retrasaron la actividad enzimática a diferencia de tratamiento control. El tratamiento con mayor efectividad debido a la disminución de la actividad residual es el adicionado con extracto de *Eysenhardtia Polystachya* (EP) sometido a UV y Ultrasonido, reflejándose en los cambios obtenido en turbidez, color y tiempo de duración de las muestras durante el almacenamiento refrigerado.

INTRODUCCIÓN

La piña es un fruto tropical con alto valor en el mercado internacional y con potencial desarrollo en la fabricación de productos agroindustriales, debido, a que es una fuente importante de vitaminas C, B1, B6, Ácido fólico, minerales, fibra y contiene propiedades diuréticas y depurativas (SAGARPA, 2017). En la actualidad la comercialización y consumo de diversos frutos, como la piña y sus derivados, ha ido en aumento debido a las tendencias de alimentación sana de las personas, y sus derivados más importantes a nivel mundial son la piña fresca, la piña enlatada en sus diferentes presentaciones y el jugo de piña (Cerrato, 2013). El jugo de piña es una de las bebidas más consumidas en todo el mundo debido a sus propiedades físicas, nutricionales y sensoriales, pero presenta un gran problema, los cambios en sus propiedades fisicoquímicas y sensoriales con respecto al tiempo. En general todos los alimentos son perecederos y necesitan ciertas condiciones de conservación y manipulación mediante tratamientos aplicados (Domínguez & Parzanese, 2011).

Los cambios de color en alimentos pueden estar asociados a diversas reacciones, como la destrucción de pigmentos o las reacciones de oscurecimiento enzimático (Pinchao, Osorio, & Mejía, 2014). Con el avance de la tecnología de los alimentos han surgido tratamientos que estabilizan productos, ya que estos tratamientos, tienen la capacidad de destruir microorganismos e inactivar enzimas, provocando un mínimo daño a las sustancias de interés en el producto (Domínguez & Parzanese, 2009). Entre los agentes causales del deterioro en los jugos vegetales se encuentran las enzimas peroxidasa (POD) y polifenoloxidasa (PPO) (Inés Latorre, Lucia Pantoja, Fernando Mejía-España, Osorio, & Mauricio Hurtado, 2013). Actualmente, la investigación en la industria alimentaria se dirige a reemplazar las técnicas de preservación de alimentos tradicionales, por nuevas técnicas que se adapten al tipo de alimentos demandados en estos tiempos por el consumidor: ya que se busca que sean de alta calidad, nutritivos, naturales, seguros, pero, poco procesados, sin aditivos sintéticos, libres de conservantes, de gran vida útil, económicos y fáciles de preparar (Morata, 2004). Dentro de las nuevas técnicas denominadas tecnologías

emergentes han surgido el uso de irradiación UV y Ultrasonido. Estas técnicas son ambientalmente amigables, económicamente aceptables y fáciles de aplicar, tomando en cuenta debidas precauciones (López- Díaz, Palou, & López-Malo, 2012). La principal aplicación de la irradiación UV en la industria alimenticia, se enfoca en su poder germicida. En jugos de frutas, la irradiación UV se aplica, con la ventaja de conservar los contenidos de vitaminas A, B, C y E, a diferencia de, cuando se aplica un tratamiento térmico (Samaniego, Ibarz, & Ruales, 2014). El ultrasonido ha sido empleado en diferentes investigaciones de la industria alimentaria y existe un gran interés debido a las ventajas que presenta, tales como, reducción de los tiempos y temperaturas de procesos, comportamiento contra microorganismos patógenos, hongos y levaduras, fácil adaptación en líneas de producción, reducción de los fenómenos de transferencia de calor, modificación de la estructuras y texturas en alimentos y disminución o aceleración de la actividad enzimática(Campo, Gelves, 2018).

Al mismo tiempo, se ha incrementado el interés en la aplicación de nanoestructuras en la industria alimentaria, sobre todo por sus propiedades, como vectores de administración de nutrientes y nutracéuticos (Almengor, 2009). La protección de compuestos bioactivos como vitaminas, antioxidantes, proteínas y lípidos se ha logrado mediante el uso de diferentes técnicas de nanoencapsulación (González-Reza, 2015). Es importante la evaluación de las posibles interacciones entre diferentes tecnologías emergentes en productos innovadores como lo son las bebidas y jugos funcionales.

CAPITULO 1 – MARCO TEÓRICO

1.1 Piña

La planta es una hierba perenne que genera flores, las cuales, al combinarse forman la piña. A pesar de que el cultivo comercial de la piña se realiza con gran eficiencia en los países de climas tropicales y subtropicales, se puede sembrar todo el año, siempre y cuando se cuente con un sistema de riego, ya que el clima afecta su productividad y calidad. La piña es un fruto tropical con alto valor en el mercado nacional e internacional y con gran potencial en la fabricación de productos agroindustriales. En la industria de los alimentos se elaboran jugos, concentrados, jaleas y preparaciones enlatadas. (SAGARPA, 2017).

1.1.1 Variedades

La piña pertenece a la familia bromeliácea, es una planta monocotiledónea, herbácea, perenne y se clasifica en cinco grupos de acuerdo con sus características botánicas: Cayenne, Queen, Spanish, Pernambuco y Perolera, los cuales, están compuestas de 46 géneros y 2000 especies aproximadamente (Cerrato, 2013). Los grupos más empleados a nivel mundial en la industria en alimentos son Cayenne, Queen y Spanish (Py et al., 1984).

► Grupo Cayenne.

Hojas de color verde oscuro con manchas pardo-rojizas, anchas y moderadamente largas. El fruto es cilíndrico con bayas planas y su color es naranja rojizo al llegar a la madurez, la pulpa o carne cuyo tono varía de amarillo pálido amarillo dorado, tiene un contenido alto en azúcar y el peso promedio del fruto es aproximadamente de 2 kg, posee normalmente una corona (Py et al., 1984).



Figura 1. Piña variedad Cayenne (SAGARPA, 2017).

► Grupo Queen.

Se caracteriza por un desarrollo vegetativo inferior a la Cayenne; tiene las hojas cortas y fuertemente espinosas de color verde en el interior y extremidades rojizas. En la madurez del fruto es dorado y la pulpa es más coloreada que la de la Cayenne, con menos contenido en extracto seco y acidez, pero más firme y con aroma más pronunciado (Py et al., 1984).



Figura 2. Piña variedad Queen (SAGARPA, 2017).

► Grupo Spanish.

Se caracteriza por ser completamente espinosa, tiene hojas largas y estrechas. El fruto tiene forma de manzana, pose vallas planas, aunque menos numerosas que el grupo Cayenne. La pulpa, es de color amarillo pálido y muy fibrosas, lo que ocasiona una mayor merma en la fabricación de productos alimenticios en comparación a los otros grupos (Py et al., 1984).



Figura 3. Piña variedad Spanish (SAGARPA, 2017).

1.1.2 Producción de Piña en México

En México las variedades más empleadas son:

► Cayenne Lisa.

Sus hojas tienen pocas espinas, por lo que, se facilita el manejo del cultivo; el fruto es cilíndrico con vallas planas y la pulpa es de color pálido amarillo dorado con un contenido promedio de 13 por ciento de sólidos solubles y 0.6 de ácido cítrico, lo cual, le confiere un sabor característico propio para su consumo principalmente empleado en refrescos y conservas.



Figura 4. Piña variedad Cayenne Lisa (SAGARPA, 2017).

► Piña MD2.

También llamada amarilla o dorada es un cultivo producto del cruce de dos híbridos (PRI581184 X PRI59443) y se conoce que uno de sus progenitores proviene de Cayenne Lisa. Son plantas de rápido crecimiento y de ciclo de producción más corto, además los rendimientos de producción y de tamaño de la fruta son mayores, es una fruta muy dulce y jugosa, que por su contenido de sólidos solubles aroma y color ha sido la preferida y se ha mantenido como el número uno en los mercados mundiales en la última década. (Rodríguez et al., 2016).

A finales de los años 90 y durante los primeros de la presente década, la mayor parte de la producción se canalizó al mercado fresco nacional (70 %), agroindustria procesadora (25 %) y sólo un poco (5 %) al exigente mercado fresco internacional. Las exportaciones se dirigieron hacia EUA como principal y prácticamente único destino viable, casi todas a granel, sin mayor valor agregado y sólo frutos de la variedad Cayenne Lisa, la cual, dejaba de ser solicitada cada vez más por los mercados internacionales en fresco (Duhalt, 2001) como resultado de la aparición en el mercado internacional de una mejor opción varietal (MD2).



Figura 5. Piña variedad MD2 (SAGARPA, 2017).

Fue entre 2002 y 2006, cuando las distintas organizaciones de productores, empresas e instituciones federales, estatales y municipales realizaron reuniones, movimientos, gestiones y acciones encaminadas a lograr una estructura organizativa única o central que permitiese a corto, mediano y largo plazo, dar un cambio sustantivo a la débil y expuesta cadena productiva piña y la hiciera una actividad más segura, competitiva y rentable (Uriza et al., 2018).

Estas acciones, además de las del tipo organizativo y comercial, implicaron significativos cambios tecnológicos, incluida la reconversión varietal a MD2 y la transferencia de las nuevas tecnologías a los productores y técnicos responsables de las plantaciones especializadas en fruta de exportación, para su aplicación masiva. Actualmente, México ocupa entre el séptimo y el décimo lugar a escala mundial en producción de piña, con alrededor de 20 mil hectáreas sembradas por año, correspondientes a un millón de toneladas de fruta cosechada, y un rendimiento promedio de entre 45 y 55 t/ha. Los productos más consumidos y exportados principalmente a EUA y Centroamérica en México es la piña en almíbar, refrescos de piña y el jugo de piña (Uriza et al., 2018).

1.1.3 Composición y Propiedades

La piña contiene principalmente agua, hidratos de carbono, azúcares, vitaminas y carotenos. Contiene bajas cantidades de proteína, grasa, cenizas y fibra. En la Tabla 1, se muestra el contenido nutrimental de la piña.

Después de la cosecha, los azúcares permanecen constantes, la acidez y el contenido de carotenos se incrementan moderadamente, la concentración de esteroides y el color aumentan considerablemente. El contenido de azúcares totales se puede alterar por la temperatura, la intensidad de la luz durante el crecimiento del fruto, así como también por la estación, el clima, el grado de madurez en la cosecha y las sustancias empleadas para su crecimiento como hormonas, pesticidas y de esto depende principalmente el sabor (Macrae, Robinson & Sadler, 1993). Se enlistaron 54 compuestos volátiles presentes en la piña, incluyendo 33 esteroides, 4 lactonas, 5 alcoholes y 9 compuestos carbonilos (Woodroof, 1986).

Tabla 1. Contenido nutrimental de la piña MD2 (SAGARPA, 2017).

Contenido	Cantidad	Unidades
Contenido Energético	218	kJ
Agua	86	g
Proteína	0.5	g
Lípidos	0.2	g
Carbohidratos	13.5	g
Fibra	0.5	g
Cenizas	0.3	g
Minerales		
Calcio	18	mg
Hierro	0.3	mg
Magnesio	12	mg
Fosforo	12	mg
Potasio	98	mg
Sodio	1	mg
Vitaminas		
Ácido Ascórbico	21	mg
Tiamina	0.09	mg
Riboflavina	0.04	mg
Niacina	0.24	mg
Vitamina A	5.3	UI

1.1.4 Jugo de Piña

Se entiende por jugo de frutas sin fermentar, pero fermentable, una bebida que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas o frutas que se han mantenido en buen estado por procedimientos adecuados (CODEX STAND 247-2005). En un jugo de fruta el componente que más abunda es el agua (disolvente) que representa aproximadamente 90% del producto. Los solutos de este se pueden dividir en tres grupos según su importancia relativa. El primero grupo constituye lo esencial del acto seco del jugo y participan en el equilibrio de su sabor (Romain y Thomas, 2010):

- Los azúcares solubles: glucosa, fructosa y sacarosa, de las cuales, varía su proporción según la fruta.
- Ácidos orgánicos.

En el segundo grupo se pueden agrupar, los compuestos que tienen una gran importancia tecnológica:

- Pectinas: son macromoléculas de origen exclusivamente vegetal y naturaleza glucídica. Durante la maceración durante la maceración se incorporan al jugo en cantidades variables según el estado de madurez de la fruta y son de vital importancia en la estabilidad coloidal y la clarificación del jugo.
- Compuestos nitrogenados, los cuales, intervienen en las reacciones de oscurecimiento no enzimático en respuesta a los tratamientos térmicos y ciertas enzimas que pueden tener efecto sobre la elaboración del producto y su calidad organoléptica.
- Compuestos fenólicos, los cuales, son sustratos del oscurecimiento enzimático y también están relacionados con el amargor y astringencia de los jugos.

Y por último el tercer grupo, son los compuestos que participan en la calidad aromática y nutricional de los jugos, los cuales, son compuestos volátiles y vitaminas. (Romain y Thomas, 2010).

Los jugos tienen un efecto asociado con la pérdida de calidad, como puede ser la modificación de textura, reducción de viscosidad, pérdida de color y poca retención de sabor. Estos problemas se han atribuido principalmente a la actividad enzimática (Maca et al., 2013).

1.2 Actividad Enzimática

Las enzimas aumentan la velocidad de reacción para alcanzar el equilibrio (catalizadores biológicos) y son moléculas de gran interés, que determinan la base de las transformaciones químicas, que también intervienen en la transformación de una forma de energía a otra. Su poder catalítico y su especificidad son las características más sobresalientes de las enzimas. En un centro específico de la enzima se lleva a cabo la catálisis, este centro también es llamado centro activo, ya que casi todas las enzimas son proteínas. Las proteínas son una clase de macromoléculas, muy eficientes en catalizar una gran diversidad de reacciones químicas, debido a su capacidad para unirse específicamente a un gran número de moléculas (Berg et al., 2009).

Todas las células, incluyendo microorganismos y organismos superiores producen enzimas, estas, están estrechamente ligada con las reacciones metabólicas y la mayoría de las transformaciones químicas, las cuales, no podrían efectuarse o simplemente no procederían, si no estuvieran presentes las enzimas (Quirasco & Lopez-Munguia, 2006).

A pesar de que el consumo de jugos y néctares de frutas se ha incrementado en el mundo debido a las recomendaciones para una mejor nutrición y una alimentación mucho más saludable (Rojas et al., 2012), tienen muchos cambios indeseables como

color, viscosidad y sabor, los cuales, son ocasionados por enzimas presentes en los jugos como Peroxidasa (POD), Pectinmetilesterasa (PME) y Polifenoloxidasa (PPO).

1.2.1 Definición

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 μmol 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).

La actividad catalítica de muchas enzimas depende de pequeñas moléculas llamadas cofactores, aunque su papel concreto varía con el cofactor y la enzima. Generalmente estos cofactores son capaces de llevar a cabo reacciones químicas que no pueden realizarse por el conjunto de los veinte aminoácidos diferentes, existentes en las enzimas. Así una enzima sin su cofactor se denomina apoenzima, la enzima completa activa catalíticamente, se llama holoenzima (Berg et al., 2008).

1.2.2 Pectinmetilesterasa (PME)

La enzima pectinmetilesterasa (PME), se encuentran en gran variedad de plantas las cuales, presentan una gran actividad de la enzima. Estas pueden ser identificadas en muchas plantas y frutos, como, por ejemplo: la manzana, plátano, cerezas, cítricos (lima, naranja y mandarina), piña, mango, papaya, pera, zanahoria, coliflor, pepino, cebolla, papa y jitomate (Wong et al., 2003). La PME se puede encontrar en varios tejidos y están principalmente asociadas por interacciones iónicas con las proteínas de la pared celular. En la Figura 6, se puede observar la estructura de la PME en cítricos.

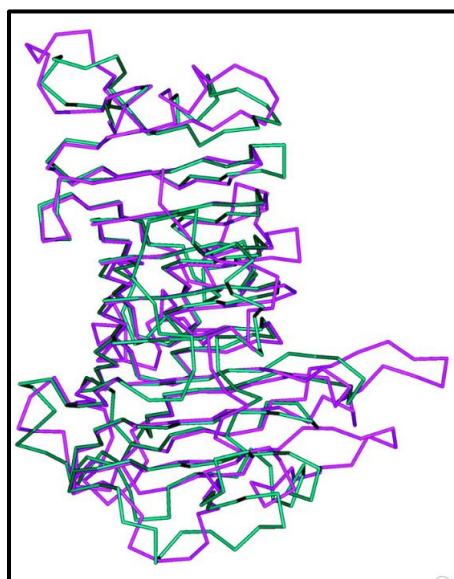


Figura 6. Estructura de la PME en cítricos (Di Matteo, 2005).

1.2.2.1 El mecanismo de acción de la PME

Cataliza la hidrólisis de grupos metilo de los monómeros de ácido galacturónico provocando la liberación de metanol, pectinas de bajo metoxilo y ácidos pacticos por unión a moléculas de calcio (Menéndez-Aguirre, 2006). La reacción tiene lugar por el ataque nucleofílico de la enzima sobre el enlace éster, dando lugar al acil-enzima y a la liberación de metanol como se muestra en la Figura 7.

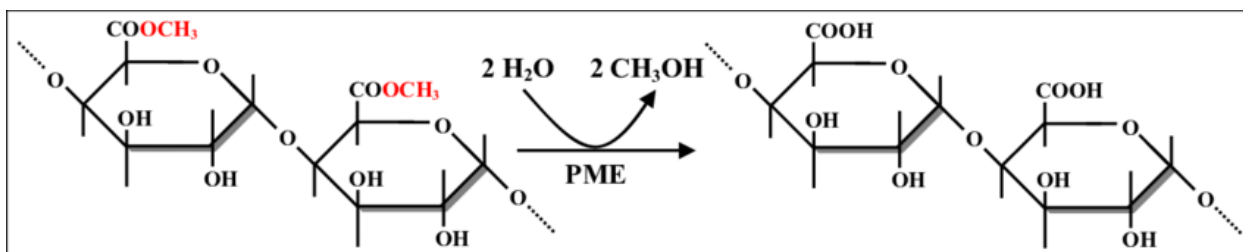


Figura 7. Mecanismo de acción de la PME (Di Matteo, 2005).

Posteriormente, la hidrólisis del intermediario libera el enzima y la pectina con un grupo carboxílico libre (Wong, 1995). La estructura del centro activo de la PME no es bien conocida, sin embargo, se cree que contiene un resto de tirosina y otro de histidina (Versteeg, 1979).

1.2.3 Peroxidasa (POD)

La 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 la forma insoluble en la pared celular de la misma (Morales-Blancas et al., 2002).

1.2.4 Polifenoloxidasas (PPO)

La Polifenoloxidasas (PPO por sus siglas en inglés) es una metaloenzima que actúa durante el procesamiento y la senescencia de las frutas y vegetales canalizando 2 tipos de reacciones que usan oxígeno molecular como agente oxidante. Este fenómeno causa deterioro en las características organolépticas de los productos, disminuye su valor proteico y afecta las propiedades benéficas asociadas a los compuestos fenólicos, causando grandes pérdidas económicas en la industria de frutas y vegetales. (Bravo et al., 2011).

1.2.4.1 El mecanismo de acción de la PPO

La orto-hidroxilación de monofenoles para producir orto-difenoles y la posterior oxidación de orto-difenoles a orto-quinonas. Estas especies producidas son altamente reactivas e inestables y pueden reaccionar con grupos amino y tiol de aminoácidos libres y proteínas mediante mecanismos no enzimáticos, o reaccionar covalentemente con otros compuestos fenólicos para formar diferentes pigmentos,

ocasionando así el efecto conocido como pardeamiento enzimático como se muestra en Figura 8:

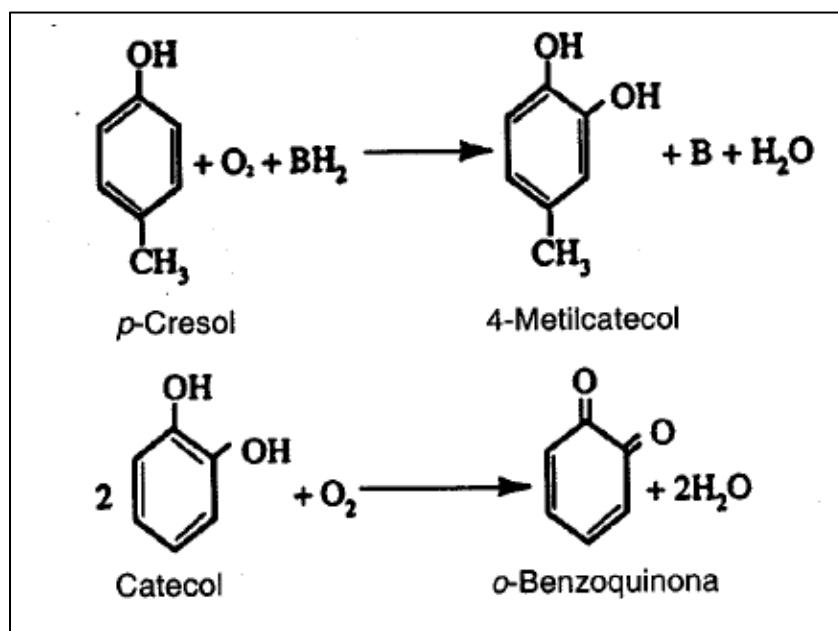


Figura 8. Mecanismo de la PPO (Fennema, 2000).

La *o*-benzoquinona es inestable y sufre una oxidación por O_2 no catalizada enzimáticamente, y una polimerización para dar melaninas. Estas son responsables de la coloración marrón no deseable en frutos, legumbres y derivados de los mismos, o colores marrones y negros deseables del café, té, pasas y ciruelas. La *o*-benzoquinona reacciona con el grupo ϵ -amino de los restos de lisina de las proteínas, lo que lleva a una insolubilización de estas y a una pérdida del valor nutritivo, las reacciones de pardeamiento también provocan cambios de la textura y el sabor (Fennema, 2000).

1.2.5 Métodos de inhibición

Investigaciones realizadas en frutas han establecido que un proceso muy efectivo para la inhibición de la actividad enzimática (PME y POD) es la pasteurización (Polydera et al., 2004). Este es un procedimiento relativamente suave, que

contribuye con el aumento de la vida útil del alimento sobre el que se aplica, siempre que se mantenga posteriormente refrigerado o se complemente con otros métodos de conservación (Lewis & Heppell, 2000). La cinética de inactivación o inhibición de las enzimas puede ser determinada usando ya sea procedimientos en estado estacionario o en estado no estacionario. El procedimiento en estado estacionario sigue siendo un enfoque sencillo para el estudio y para la cinética de inactivación térmica o por presión (Withaker, 2003). Debido a que las enzimas que causan pérdida de calidad en los alimentos, uno de los métodos de solución para este problema, es emplear tecnologías emergentes aplicadas en la conservación de alimentos, como lo son la Luz UV, el Ultrasonido, extractos inhibidores o retardadores de enzimas.

1.3 Conservación de alimentos

Los distintos métodos de conservación de alimentos pretenden incrementar la vida útil de los productos durante su almacenamiento, aplicando técnicas que logren inhibir alteraciones microbianas, pero manteniendo su calidad. Para esto, muchos productos son tratados térmicamente, lo cual, muchas veces modifica las características, tanto sensoriales (textura, sabor y color), como nutricionales (pérdidas de vitaminas, principalmente) del alimento. Debido a estos efectos adversos de los tratamientos a altas temperaturas, se encuentran en desarrollo, procesos no térmicos de conservación, también denominados tecnologías emergentes. Son poco agresivos y tienen la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos, manteniendo la calidad nutrimental y sensorial, para cumplir así con las demandas actuales del mercado (Lopez-Diaz et al., 2012).

1.3.1 Tecnologías emergentes en la conservación de alimentos

Actualmente la investigación en industria alimentaria se dirige a reemplazar las técnicas de preservación de alimentos tradicionales (tratamientos térmicos intensos, salado, acidificación, desecación y conservación química) por nuevas técnicas que se adapten mejor al tipo de alimentos demandados ahora por el consumidor: de alta

calidad, nutritivos, naturales, seguros, pero poco procesados, libres de conservadores o con conservadores naturales, de gran vida útil y fáciles de preparar. Además, y cada vez más, el consumidor percibe los alimentos frescos como más saludables que los procesados térmicamente (Ahvenainen, 1996).

Debido a los efectos adversos de los tratamientos a altas temperaturas para el tratamiento de alimentos, se encuentran en desarrollo procesos no térmicos de conservación, también denominados tecnologías emergentes (Domínguez y Parzanese, 2011). Éstas son poco agresivas y tienen la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos, garantizando la inocuidad. Los métodos no térmicos de conservación de alimentos se han desarrollado para eliminar (o por lo menos minimizar) la degradación de la calidad de los alimentos que resultan del procesado térmico; y están bajo una intensa investigación para evaluar su potencial como procesos alternativos o complementarios a los métodos tradicionales de conservación de alimentos (Pelayo, 2009). Actualmente se están estudiando métodos físicos para la conservación de alimentos, como la aplicación de altas presiones hidrostáticas, pulsos eléctricos, pulsos magnéticos, ultrasonido e irradiación con radiación ultravioleta de onda corta (UVC) (Barbosa-Cánovas et al., 1998; López-Malo y Palou, 2004; Herrero y Romero, 2006).

1.3.1.1 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; Rai et al., 2015; Cheung, 2015). La nanotecnología alimentaria se encuentra aún en fase de ascenso debido a sus numerosas y diversas aplicaciones, pues se busca principalmente encontrar la 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 et al., 2011).

Se define a las nanopartículas como partículas sólidas coloidales que pueden incluir nanocápsulas o nanoesferas. Las nanoesferas son sistemas matriciales esféricos, que tienen el agente activo disperso en una matriz polimérica de manera homogénea, cuentan con una estructura en donde el ingrediente activo puede estar encapsulado dentro de la partícula o puede estar adherido a la superficie de la esfera, a diferencia de las nanocápsulas, las cuales consisten en un sistema coloidal nanométrico en el que el ingrediente activo, se limita únicamente a una cavidad que consiste en un núcleo líquido rodeado por un revestimiento o una membrana (Mora-Huertas et al., 2010). Su preparación puede ser mediante métodos de polimerización (Fattal et al., 2002).

Las nanocápsulas pueden emplearse en alimentos funcionales, el usar la nanotecnología para reducir el tamaño de las partículas ayuda a mejorar las propiedades de los compuestos activos y prolongar el tiempo de resistencia en el tracto gastrointestinal, lo cual, se debe al tamaño de partícula, pues el compuesto activo presenta mayor superficie de contacto por unidad de masa, asegurando mayor efectividad biológica (Sozer., 2009).

1.3.1.2 Luz UV-C

La radiación ultravioleta (UV), producida por el sol, es un agente esterilizador natural. Está ubicada en una región de energía del espectro electromagnético que se encuentra situada entre la luz visible y los rayos X, con una longitud de onda entre 10 y 400 nm. Se puede subdividir en: UV de vacío (10-200 nm), UV de onda corta UVC (200-280 nm), UV de onda media UVB (280-315 nm) y UV de onda larga UVA (315-400 nm) (González, 2001; Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004). La máxima eficiencia para la desinfección se sitúa en el intervalo de la UV,

específicamente en 254 nm. En la Figura 11, se muestra la región ultravioleta en el espectro electromagnético.

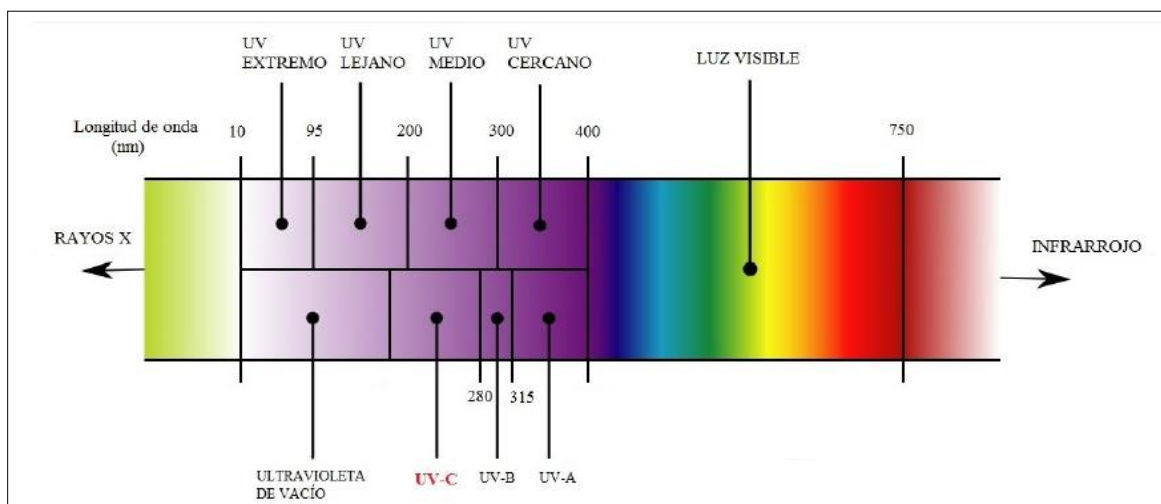


Figura 9. Espectro electromagnético (Villaroel et al., 2015).

En la Tabla 2, se muestran las ventajas y desventajas de esta tecnología emergente aplicada a los alimentos.

Tabla 2. Ventaja y desventajas de la Luz UV empleada en la conservación de alimentos (Domínguez et al., 2017).

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> → No produce alteraciones organolépticas en la mayor parte de los alimentos. → Método físico en el cual la energía luminosa es el medio germicida, sin generar productos secundario indeseables. → Sin residuos químicos ni radiación. → Efectivo en la desinfección de diversas superficies. → Eficaz para la inactivación de muchos microorganismos. → Fácil Aplicación → Bajo costo y mantenimiento. 	<ul style="list-style-type: none"> → Poca penetración en materiales sólidos y en líquidos no transparentes. → La unidad o equipo pierde efectividad entre más alejado este el producto a tratar. → Foto reactivación o activación en oscuro de microorganismos dañinos.

1.3.1.3 Ultrasonido (US)

El ultrasonido (US) también se utiliza generalmente para prolongar la vida útil de alimentos líquidos, tales como jugos de frutas. El efecto conservador del ultrasonido está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido. El US mejora la calidad de los productos emulsionados como: la homogeneización de la leche, jugos, rendimiento del queso, vida útil, propiedades texturales, el sabor, y una mayor aceptación de los consumidores.

Sin embargo, el US en el proceso de emulsificación que también pueden alterar principalmente las fases lipídicas, si es que tiene el producto, por un aumento de la temperatura causado por el fenómeno de cavitación. La oxidación en las fases es uno de los defectos más importantes que se produce y que favorece el desarrollo del mal olor, color inusual y compuestos nocivos. Para evitar estos fenómenos de oxidación, se suele añadir antioxidante, como aceites esenciales; aceites vegetales como de naranja presentan características, como antioxidantes, antimicrobianos, aromatizantes y disminuyen la oxidación del aceite comestible durante el tiempo de almacenamiento. El ultrasonido se ha utilizado para reducir la carga microbiana en varios tipos de alimentos, debido a la alteración de la membrana celular de los microorganismos. El uso de ultrasonido para el rompimiento de células es un método estandarizado, cuya eficiencia es del 95%. El efecto bactericida del ultrasonido se atribuye, generalmente, a la cavitación intracelular.

1.4 Alimentos Funcionales

Varios términos se han utilizado indistintamente para clasificar a los alimentos, para la prevención de enfermedades o como promotores de la salud. El término Designer Foods, acuñado en 1989, se utiliza para describir alimentos que naturalmente contienen o están enriquecidos con componentes químicos no nutritivos y biológicamente activos de plantas que son eficaces para reducir el riesgo de cáncer.

Por otra parte, el concepto de Alimentos Funcionales se introdujo por primera vez en Japón a mediados de la década de 1980 para los alimentos que contenían ingredientes con funciones para la salud. FOSHU (Food for Specified Health Use, por sus siglas en inglés) es definido por el ministerio de salud, trabajo y bienestar de Japón como "alimentos que se espera que tengan ciertos beneficios para la salud y que hayan sido autorizados para llevar una etiqueta, afirmando que una persona que los usa, para un uso específico de salud, puede esperar obtener dicho efecto a la salud, a través de su consumo" (Bigliardi et al., 2013).

1.4.1 Aplicación de nanoestructuras en alimentos funcionales

Los sistemas nano portadores han sido popularmente desarrollados en todo el mundo para el suministro eficaz de nutraceuticos. Debido a su tamaño extremadamente pequeño, los nano portadores han mostrado muchas ventajas, tales como mejora de la solubilidad acuosa, aumento del tiempo de residencia en regiones del tracto gastrointestinal (GI), mejor estabilidad fisicoquímica en el tracto GI, aumento de la permeación intestinal, liberación controlada en el tracto GI, administración intracelular y administración transcelular (Oehlke et al., 2014).

1.4.2 *Eysenhardtia Polystachya*

Eysenhardtia Polystachya (EP) es un árbol distribuido en México y es conocido localmente como "Palo dulce" (madera dulce) o "Palo azul" (madera azul). El arbusto o árbol de 2 hasta 8 metros de altura tiene hojas divididas con apariencia plumosa. Sus flores son blancas, olorosas, agrupadas en racimos verticales. Los frutos son unas vainas café pálido, lisas y un poco punteadas. La madera de color café rojizo y puesta en agua desprende una sustancia que tiñe de color amarillo azulado, como se muestra en la Figura 9. En México, se encuentra en forma silvestre desde Coahuila, Colima, Michoacán, Estado de México, Hidalgo, Puebla, hasta Guerrero y Chiapas. Habita en climas cálido, semicálido, semiseco y templado, es ampliamente distribuida en ambas vertientes y en la parte central del país entre los 100 hasta los 2300 msnm (SEMARNAT, 2015).

Entre los componentes que se han encontrado en los extractos de *E. Polystachya* son auronas, flavonoides, isoflavonoides y matlalina. Se sabe que todos los flavonoides contienen un esqueleto de 15 carbonos, su estructura central es una 2-fenilbenzopiranona, en la que el puente de tres carbonos entre los grupos fenilo es comúnmente ciclizado con oxígeno.



Figura 10. Planta *Eysenhardtia Polystachya* (SEMARNAT, 2015).

1.4.2.1 Propiedades de los flavonoides

Los flavonoides derivados de plantas son un gran grupo de origen natural entre los que se destacan las fenilcromonas que principalmente se encuentran en frutas, verduras, té y vinos. Se ha demostrado una amplia gama de actividades biológicas, incluyendo antialérgico, antiinflamatorio, antimutagénica, antiproliferativa, antitrombótico, antimicrobiano y los efectos hepatoprotectores (Bors and Saran, 1987; Chang and Kinghorn, 2001; Middleton and Kandaswami, 1994; Robak and Gryglewski, 1988; Wall, 1992). Recientemente, existe un enorme aumento en el número de estudios sobre los flavonoides como potencial antioxidante y agentes antibacterianos (Rauha et al., 2000; Süzgeç-Selçuk, S. and Birteksöz; Yi et al., 2008).

En la Figura 10, se muestra la molécula de los flavonoides.

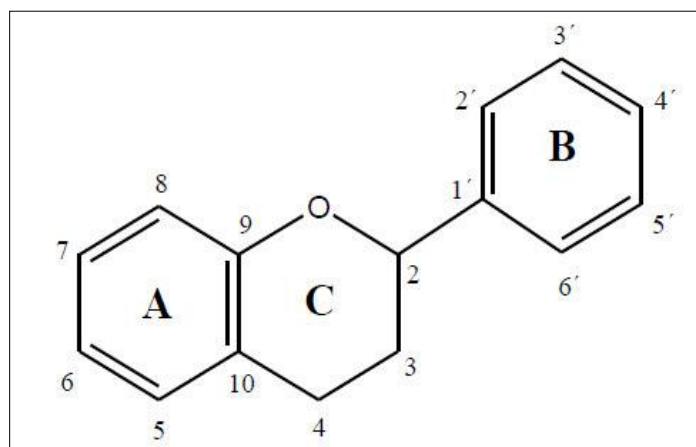


Figura 11. Estructura base de flavonoides (Williams et al., 2004).

Como antioxidantes, los flavonoides han sido reportados como eliminadores de una amplia gama de especies reactivas al oxígeno, así como inhibidores de la peroxidación lipídica (Williams et al., 2004). Las especies reactivas al oxígeno se utilizan para atacar los tejidos e inducen daño oxidativo (Ross and Kasum, 2002) de varias biomoléculas incluyendo proteínas, lípidos, lipoproteínas y ADN, que iniciará en secuencia de activación, varias enfermedades humanas crónicas, tales como enfermedades cardiovasculares, reumatismo, diabetes mellitus y cáncer (Pong, 2003). Los flavonoides tienen la capacidad para contrarrestar los efectos dañinos de los radicales libres en los tejidos y, por lo tanto, se utilizan para proteger contra daños oxidativos (Bandyopadhyay et al., 2007).

CAPITULO 2 – METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN EXPERIMENTAL

2.1 Objetivos

2.1.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la incorporación de nanopartículas de *Eysenhardtia Polystachya* en combinación con tratamiento UV-C y/o ultrasonido sobre la conservación de jugo de piña clarificado determinando los cambios en polifenoles totales y actividad enzimática durante su almacenamiento en refrigeración.

2.1.2 Objetivos Particulares

1. Analizar los cambios en los parámetros de perfil de color y turbidez en jugo de piña adicionado con nanopartículas de *Eysenhardtia Polystachya* pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido para su asociación con la estabilidad física y actividad enzimática durante su almacenamiento a 4 °C.
2. Determinar el contenido de polifenoles totales y flavonoides en jugo de piña adicionado con nanopartículas de *Eysenhardtia Polystachya* pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido mediante pruebas espectrofotométricas asociándolo con su deterioro y pérdida de calidad.
3. Analizar la actividad enzimática de la pectinmetilesterasa, polifenoloxidasas y peroxidasa mediante pruebas espectrofotométricas en jugo de piña adicionado con nanopartículas de *Eysenhardtia Polystachya* pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido como parámetro indicativo de calidad.

2.3 Materiales y Métodos

2.3.1 Materiales

Quitosán ($P_M=50000-190\ 000$ Da, $\mu=20-300$ cP en solución de $\text{CH}_3\text{-COOH}$ (1%) a $25\ ^\circ\text{C}$), Pectinasa de *Aspergillus aculeatus* en solución acuosa (≥ 3800 unidades/mL), Etanol, Reactivo Folin, Na_2CO_3 , Cloruro de Sodio (1 N), Guayacol, H_2O_2 , NaCl, Polivinilpirrolidona, Pectina Cítrica (10 g/L) a $60\ ^\circ\text{C}$, Azul de Bromotimol (0.1 g/L), Fosfato de Sodio (0.2 mol pH 7.0), 10 mL/L Tritón® X-100, Catecol (50 mmol de citrato-fosfato en solución reguladora a pH 5). El agua fue calidad Milli-Q®. Todos los demás reactivos fueron de grado analítico.

2.3.2 Materia Prima

Las piñas Cayenne Lisa Var. MD2 se adquirieron en el mercado Municipal de Cuautitlán, México y se almacenaron a $10\ ^\circ\text{C}$ previo a su utilización. La fruta fue seleccionada cuidadosamente de acuerdo con su tamaño, firmeza y la uniformidad de color. Las muestras de *E. Polystachya* se adquirieron en el mercado municipal de Cuautitlán México.

2.3.3 Extracción de los flavonoides de *E. Polystachya*

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

2.3.4 Preparación de las nanoesferas

Las nanoestructuras con quitosán se prepararon por gelación iónica de acuerdo con la metodología propuesta por González-Reza, (2017). Brevemente, 50 mL de una dispersión de quitosán (3 g/L) en solución de ácido acético glacial al 1 % y Tween® 80 (10 g/L) se preparó por agitación magnética a 52.36 s^{-1} durante 24 horas. Una vez que la mezcla estuvo completamente homogénea se agregó por goteo (1 mL/min) una solución de tripolifosfato (20 mL) a 3 g/L por agitación magnética a 73.3 s^{-1} a 25 °C. Una vez mezclados los componentes se aplicó Ultrasonificación durante 3 minutos mediante un procesador ultrasónico (Hielscher UP200Ht, Alemania) a una frecuencia de 50 W para posteriormente ajustar el pH de la mezcla a un valor de 5. La dispersión se centrifugó a 785.4 s^{-1} en una ultracentrífuga (Hermle LaborTechnik GmbH Z323K, Alemania) durante 30 minutos a 4 °C para recuperar las nanoestructuras obtenidas para después ser resuspendidas en agua destilada. Posteriormente se funcionalizaron las nanoestructuras con el extracto rico en flavonoides (500 mg/L) con asistencia de ultrasonido (3 min) a una frecuencia de 50 W. Finalmente la mezcla se agito durante 24 horas a 104.72 s^{-1} con un agitador magnético a 25 °C. La suspensión obtenida se tomó como el sistema nanoestructurado final para su aplicación directa a los jugos de piña.

2.3.5 Dispersión dinámica de la luz y movimiento electroforético

El tamaño de partícula (TP) y el índice de poli dispersión (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, Piñón-Segundo, & Zambrano-Zaragoza, 2018). Las dispersiones se diluyeron con agua Milli-Q® para obtener los histogramas de frecuencias de volumen. La potencial zeta (ζ) se determinó para la evaluación de la estabilidad coloidal de las nanopartículas utilizando un Z-sizer Nano ZS90 (Malvern Ltd., Enigma Business Park, Grovewood Road, UK) una vez diluidas con agua Milli-Q® (González-Reza, Quintanar-Guerrero, Flores-Minutti, Gutiérrez-Cortez, &

Zambrano-Zaragoza, 2015). El valor del potencial zeta fue normalizado con dispersión patrón de poliestireno ($\zeta = -55$ mV). Las mediciones se realizaron a 25 °C por triplicado.

2.5 Procesamiento para la pasteurización del jugo de Piña

Para la obtención de jugo de piña se utilizó piña de la variedad MD2 y el procesamiento de esta se muestra en la Figura 12. Inicialmente, a las piñas se les retiró la cascara y corona, posteriormente se cortaron en torsos pequeños y con ayuda de un extractor se obtuvo el jugo. Una vez obtenido el jugo, este se despectinizó con el fin de obtener un jugo clarificado, para lo cual a la muestra se le adicionaron 2 μ L de la enzima pectinasa obtenida de *Aspergillus aculeatus* por cada litro de muestra. La muestra estuvo en movimiento en intervalos de 30 minutos (agitación/descanso) en un agitador de velocidad variable (Eurostar Power Control Visc, IKA® Wilmington, EE.UU.) a 600 rpm con un tiempo total de despectinización de 4 h. Una vez terminada la despectinización se realizó una filtración a través de una maya número 200. Al jugo de piña despectinizado obtenido, se le adicionaron las nanoesferas de quitosán-extracto de *E. polystachya* en una concentración de 500 mg/L.

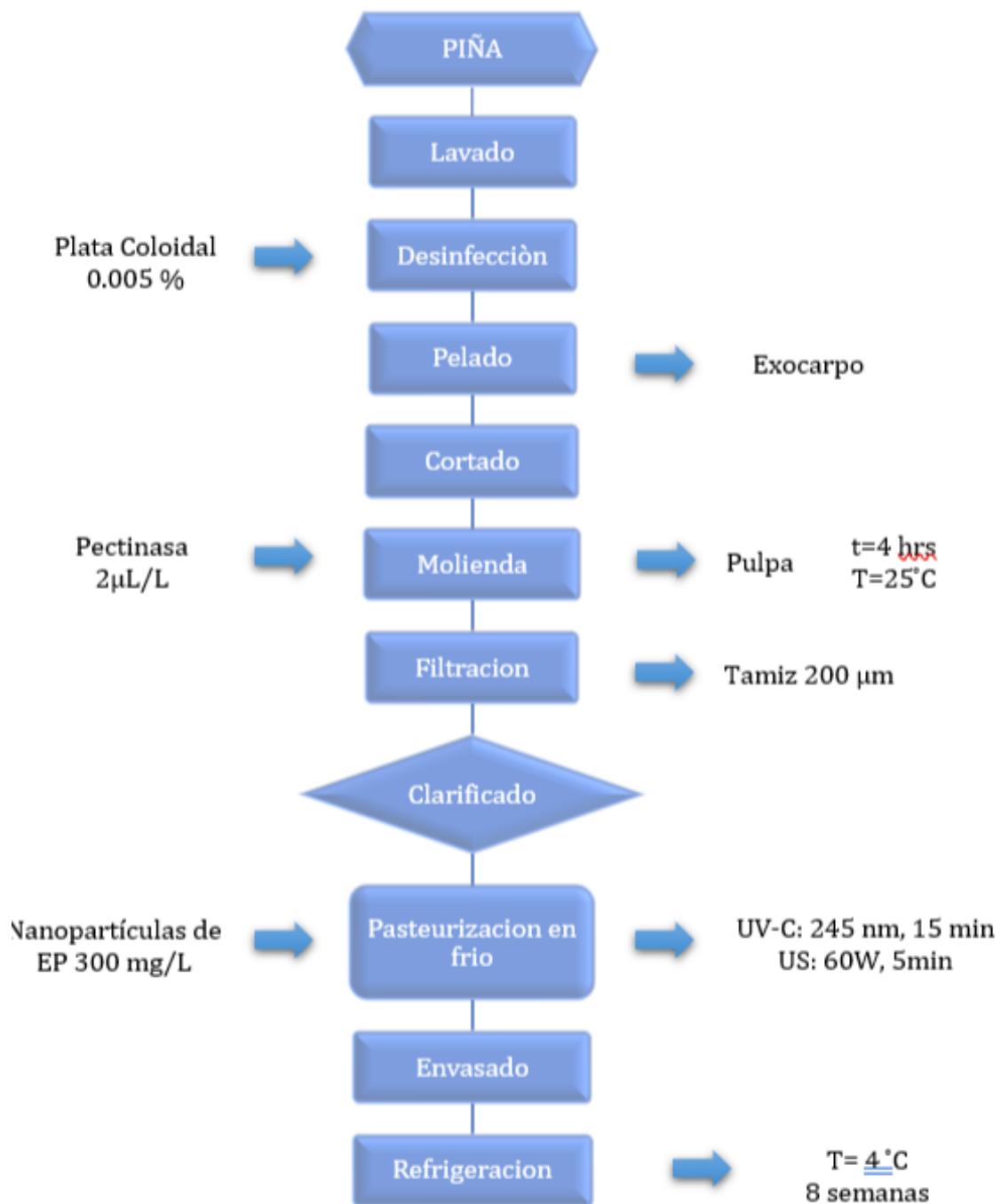


Figura 12. Diagrama de proceso del jugo de piña clarificado procesado con luz UV-C y/o ultrasonido.

2.7 Pasteurización en frío por luz UV-C

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

2.8 Pasteurización en frío por ultrasonido

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

2.9 Tratamientos combinados (UV-C y Ultrasonido)

En este tratamiento se siguió el procedimiento de los métodos anteriores (2.7 y 2.8), primero se aplicaron las nanopartículas, después se circuló por el reactor de luz UV-C y por último fue sometido a ultrasonido, utilizando las mismas condiciones en los tratamientos anteriores. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

2.10 Análisis de las muestras en almacenamiento refrigerado

Las muestras fueron envasadas en frascos de 125 mL de poliestireno de alta densidad con sello hermético, los cuales previamente fueron lavados y desinfectados, no dejando espacio libre de cabeza para evitar la presencia de oxígeno. Las muestras se almacenaron en refrigeración a 4 °C durante 8 semanas. La Tabla 3, muestra los ensayos realizados durante el monitoreo de los jugos.

Tabla 3. Ensayos utilizados durante la fase experimental de este proyecto.

Factores de variación	Niveles de variación	Factores dependientes	Factor de respuesta
Nanopartículas <i>Eysenhardtia</i> <i>Polystachya</i>	Con y Sin	Absorbancia (PPO, POD y PME)	Actividad Enzimática
Tratamiento UV-C	Con y Sin	Color Turbidez	Parámetros de Calidad
Tratamiento Ultrasonido	Con y Sin	Absorbancia (Polifenoles Totales y Flavonoides)	Contenido de compuestos bioactivos

2.10.1 Colorimetría

La determinación de color se realizó utilizando un colorímetro (Minolta Spectrophotometer CM-5, Japón). Se registraron las 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 a 25 °C. La evaluación de color se estableció de acuerdo con el cambio total de color mediante la siguiente expresión:

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

$$\text{Croma} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{Ec. (2)}$$

2.10.2 Turbidez

La turbidez del jugo de Piña MD2 fue medida con el turbidímetro digital (ECOSHEL WGZ – 200, USA), el cual hace pasar un rayo de luz a través de la muestra midiendo la luz reflejada por las partículas en un ángulo de 90° con respecto al rayo incidente. El equipo fue calibrado con agua destilada: después se tomó 1 mL de Jugo de Piña MD2 previamente homogenizado al que se le añadieron 99 mL de agua destilada, la solución resultante se introdujo a la botella de la muestra y finalmente se tomó la lectura. Cada prueba se realizó por triplicado a 25 °C y las lecturas se obtuvieron en Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU).

2.10.3 Fenoles Totales

El método colorimétrico de Folin-Ciocalteu estima los polifenoles totales en diferentes alimentos (Singleton and Rosi, 1965). Para ello se mezclaron 1 mL de bebida con 10 mL de agua Milli-Q®, La mezcla se centrifugó por 20 min a 6000 rpm y se dejó reposar 2 horas en oscuridad. Se tomaron 50 µL de extracto, posteriormente se le añadió 3 mL de agua, 250 µL reactivo Folin-Ciocalteu, 12.05 g de carbonato de calcio y se dejó reposar por 24 horas para posteriormente tomar la lectura de la absorbancia a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Visible (Genesys 10s, Thermo scientific, Waltham Massachussets, EE. UU.). Los resultados se reportaron como equivalentes de ácido gálico por mL, obteniéndose de una curva patrón de ácido gálico a concentraciones de 50, 100, 150, 250 y 500 mg/L bajo las condiciones anteriormente descritas. Las muestras se realizaron para cada tratamiento por triplicado a 25 °C. Para calcular el porcentaje de retención de fenoles totales se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{Retencion de fenoles totales(\%)} = \frac{\text{Contenido final}\left(\frac{\text{mg EAG}}{\text{mL}}\right)}{\text{Contenido inicial}\left(\frac{\text{mg EAG}}{\text{mL}}\right)} \times 100 \quad \text{Ec. (3)}$$

2.10.4 Flavonoides

Para la determinación del contenido total de flavonoides se utilizó el método colorimétrico descrito por Chang et al., (2002) utilizando cloruro de aluminio (AlCl_3). Brevemente, se prepararon soluciones de quercetina en etanol (80%) en concentraciones de 25, 50 y 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para la curva de calibración. Se tomó una alícuota de 0.5 mL y se mezcló con 1.5 mL de etanol (95%), 0.1 mL de una solución de AlCl_3 al 10%, 0.1 mL de una solución de acetato de potasio (CH_3COOK) 1 mol y 2.8 mL de agua destilada Mili-Q®. Se incubó la muestra por 30 min a temperatura ambiente (23 ± 1 °C), la absorbancia de la mezcla se midió a 415 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10s, Thermo scientific, Waltham Massachussets, EE. UU.). Los resultados se expresaron como mg Equivalentes de Quercetina (EQ) por cada L. Las muestras se realizaron para cada tratamiento por triplicado.

2.10.5 Polifenoloxidasasa (PPO)

La extracción de la enzima PPO se realizó siguiendo la metodología propuesta por Zambrano-Zaragoza et al (2014) con algunas modificaciones. Posteriormente se adicionan 10 mL de la bebida funcional se homogenizo en un Ultra-Turrax (Tube Drive IKA®, EE.UU.) con 20 mL de fosfato de sodio (0.2 mol pH 7.0), 10 mL/L Tritón® X-100 y polivinilpirrolidona (50 g/L) durante 30s a 4 °C. El homogenizado se filtró para eliminar las partículas sólidas y se centrifugó a 16155 x g, utilizando una ultracentrífuga (Hermle Labor Technik GmbH Z323K, Alemania) durante 35 minutos 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 3 minutos 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.

2.10.6 Peroxidasa (POD)

La POD se determinó utilizando la metodología propuesta por Goncalves et al. (2010) con algunas modificaciones. Las muestras con los tratamientos aplicados se homogenizaron en un Ultra-Turrax (Tube Drive IKA®, EE.UU.) en 100 mL de solución de NaCl (1 mol) durante 3 min y el homogenizado se centrifugo en tubos de polipropileno utilizando una ultracentrífuga ((Hermle Labor Technik GmbH Z323K, Alemania). La suspensión se filtró y se tomaron 0.25 mL de jugo con extracto de *E. Polystachya* (filtrado) y se mezcló con 1.5 mL de Guayacol y 1 mL de H₂O₂ como sustratos.

El aumento de la absorbancia a 470 nm se registró usando un espectrofotómetro UV/Vis (Genesys 10s, Thermo scientific, Waltham Massachussets, EE. UU.). 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 mililitro de muestra de extracto bajo las condiciones de ensayo. El análisis se llevó a cabo en tres extractos independientes.

2.10.7 Pectinmetilesterasa (PME)

Para la extracción de la enzima PME se tomaron 10 g de las muestras con los tratamientos aplicados y se homogenizaron en un Ultra-Turrax (Tube Drive IKA®, Wilmington, EE.UU.) con 20 mL de una solución que contiene 0.2 mol de NaCl y 10 g/L de polivinilpirrolidona por 10 min, la mezcla se agitó magnéticamente durante 10 min con un baño de hielo externo. El homogeneizado se centrifugó en una ultracentrífuga (Hermle Z323K, Labortechnik GMBH, Wehingen, Alemania) durante 20 min y se filtró. La disolución obtenida consistió en el extracto enzimático

crudo para la determinación de la actividad PME, el cual se ajustará a pH = 7.5 con NaOH 2 mol y NaOH 0.2 mol.

La actividad PME se determinó de acuerdo con la metodología propuesta por Hagerman and Austin (1986) basado en el cambio de color de un indicador de pH durante la reacción catalizada por la PME con algunas modificaciones. Posteriormente en una celda espectrofotométrica se le adicionó 2 mL de pectina cítrica (10 g/L) a 60 °C, 500 µL de azul de bromotimol (0.1 g/L), 200 µL de NaCl (0.2 mol) y 580 µL de agua Mili-Q®. Cada solución fue ajustada a pH = 7.5 con NaOH 2 mol y NaOH 0.2 mol. La reacción se inició con la adición de 500 µL del extracto enzimático a la mezcla, se agitó ligeramente y se midió el decremento de la absorbancia a $\lambda = 640$ nm durante 5 min en un espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 10s, Thermo scientific, Waltham, Massachussets, EE.UU.).

2.11 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron utilizando el software estadístico Minitab (Minitab® Statistical Software 19 Inc., Centre, PA, EE.UU.), para determinar el efecto de la adición de nanopartículas que contienen extracto de *Eysenhardtia polystachya*, además de la aplicación de sistemas de pasteurización en frío tales como el ultrasonido y luz UV-C sobre la estabilidad, cambios fisicoquímicos y actividad enzimática de los jugos almacenados en refrigeración. Las diferencias entre tratamientos se realizaron en función de la variación con respecto a la media realizándose una prueba de ANOVA ($\alpha=0.05$). La Tabla 4, muestra los diferentes tratamientos que se evaluaron en el presente trabajo experimental.

Tabla 4. Nomenclatura de los tratamientos utilizados en la fase experimental.

Tratamiento	Nomenclatura
Control	C
Nanopartículas	E
Nanopartículas + Ultrasonido	E + US
Nanopartículas + Luz UV-C	E + UV
Nanopartículas + Ultrasonido + Luz UV-C	E + UV + US

CAPITULO 3 – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Colorimetría

El color es un parámetro de gran importancia en la aceptabilidad del consumidor en los productos frutales (Melendez-Martinez et al., 2010). El valor de L^* es una medida de la luminosidad y varía de 0 (negro) a 100 (blanco). Cuando los valores de L^* aumentan, el color se vuelve más saturado o cromático (Baccouche et al., 2013).

En la Figura 13, se muestran los cambios en el color de la bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados, mostrando un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.05$), los cuales se pueden atribuir a la degradación o liberación controlada del agente activo (extracto de *E. polystachya*).

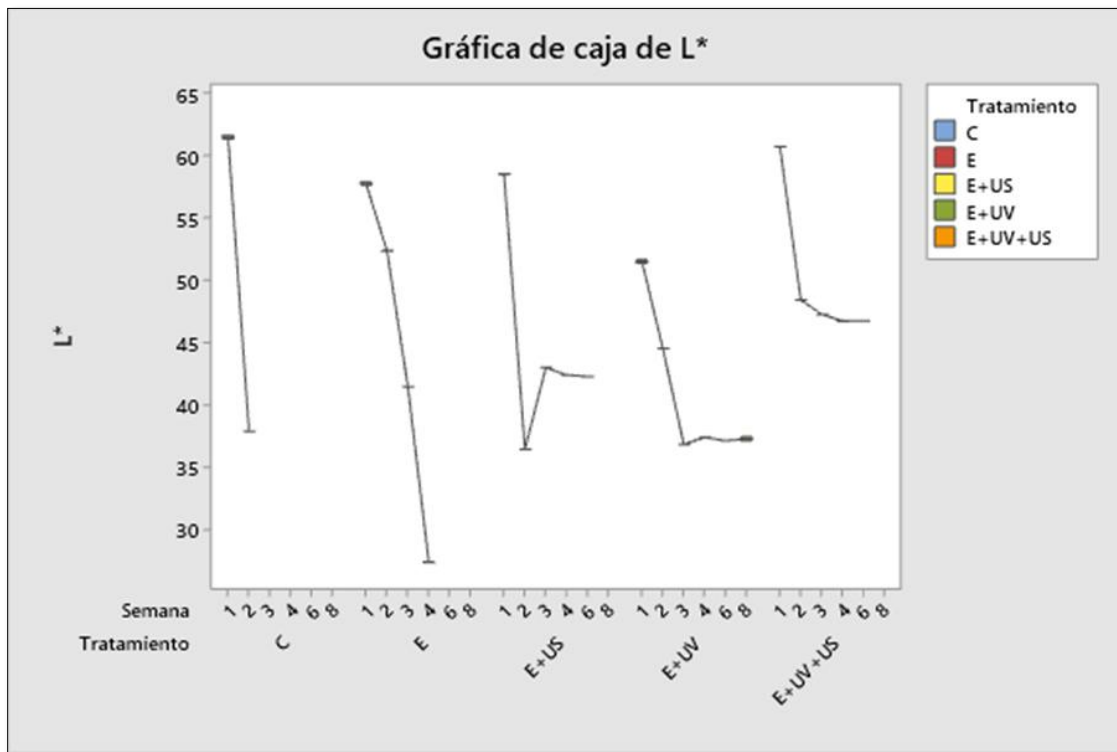


Figura 13. Cambios de color de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

El ANOVA evidenció como se muestra en la Figura 13, los cambios en las diferentes muestras analizadas presentan un efecto significativo ($P \leq 0.05$). Esto se asocia en primera instancia a la adición de extracto nanoestructurado, ya que la muestra control, solo tuvo dos semanas de vida útil, mientras que cuando se le adicionó las nanopartículas funcionalizadas, su vida útil aumento a 4 semanas. La disminución en la luminosidad se puede asociar a la liberación del extracto contenido en las nanopartículas.

3.1.2 Cromaticidad

El croma se utiliza para determinar el grado de diferencia de un color en comparación con un color gris, en otras palabras, indica la saturación de color (Fernández-Vázquez et al., 2013; Meléndez-Martínez et al., 2010).

En la Figura 14, se muestran los cambios en la cromaticidad de la bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados, mostrando un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.05$), los cuales se pueden atribuir a la degradación o liberación controlada del agente activo (extracto de *E. polystachya*). La intensidad de color disminuyó de manera paulatina después de la primera semana de almacenamiento, lo que se puede interpretar como una estabilización del sistema nanoestructurado con el medio, para posteriormente conservar su saturación.

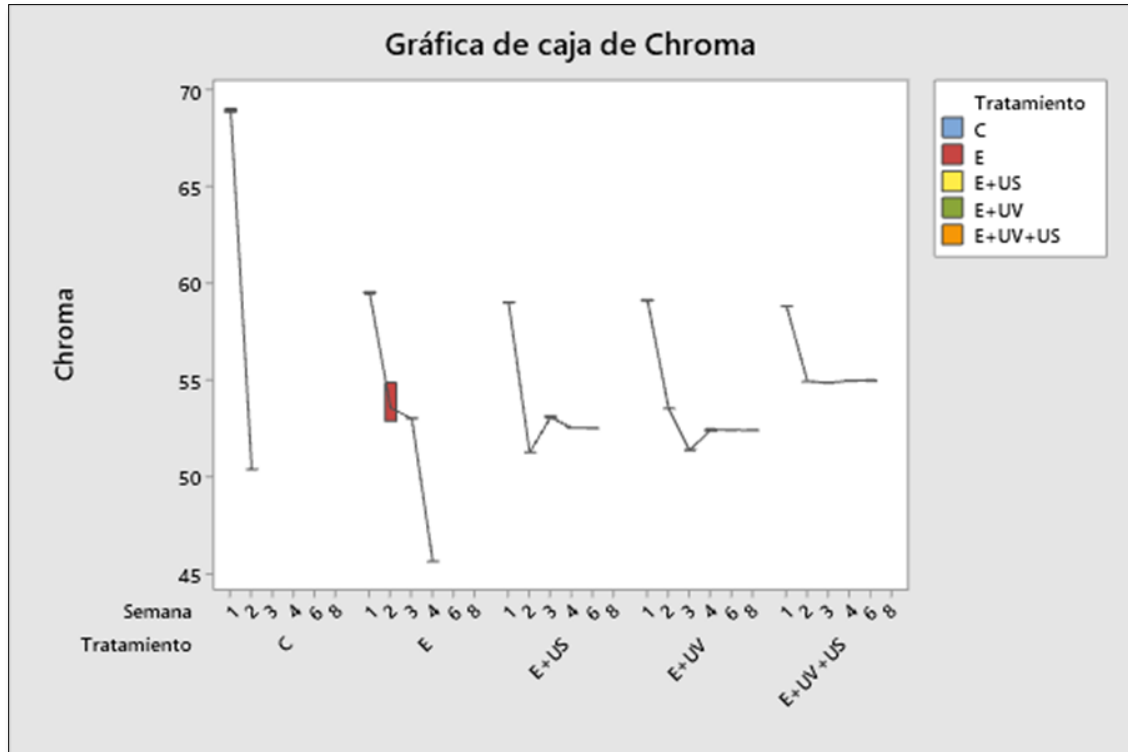


Figura 14. Cambios de cromaticidad de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

De la misma manera que la Luminosidad el ANOVA evidencio como se muestra en la Figura 14, la evolución de los fenoles totales en la bebida, encontrando un efecto significativo ($p \leq 0.05$) dado por la adición de las nanopartículas, en este sentido, el aumento en la concentración esta dado a que el extracto rico en flavonoides. Por tanto en los tratamientos sometidos a ultrasonido y UV-C no se observa una disminución significativa ($p > 0.05$) logrando una estabilidad, ya que las concentraciones de los compuestos termolábiles como los polifenoles los cuales están asociados a los cambios de color, a diferencia del tratamiento control el cual sufrió una disminución significativa en la saturación con respecto al tiempo lo cual como resultado da una bebida no atractiva visualmente al consumidor debido a la perdida de brillo (González-Reza, 2017).

3.2 Turbidez

La turbidez cuantifica el grado en que la luz viaja a través de una muestra, que es dispersada por partículas en suspensión, depende esencialmente del tamaño coloidal presente en la fase líquida y de la distribución de tamaño de partícula (Collado-Fernández et al., 2000; Narong & James;2006). La Figura 15, muestra los cambios en la turbidez en una bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados

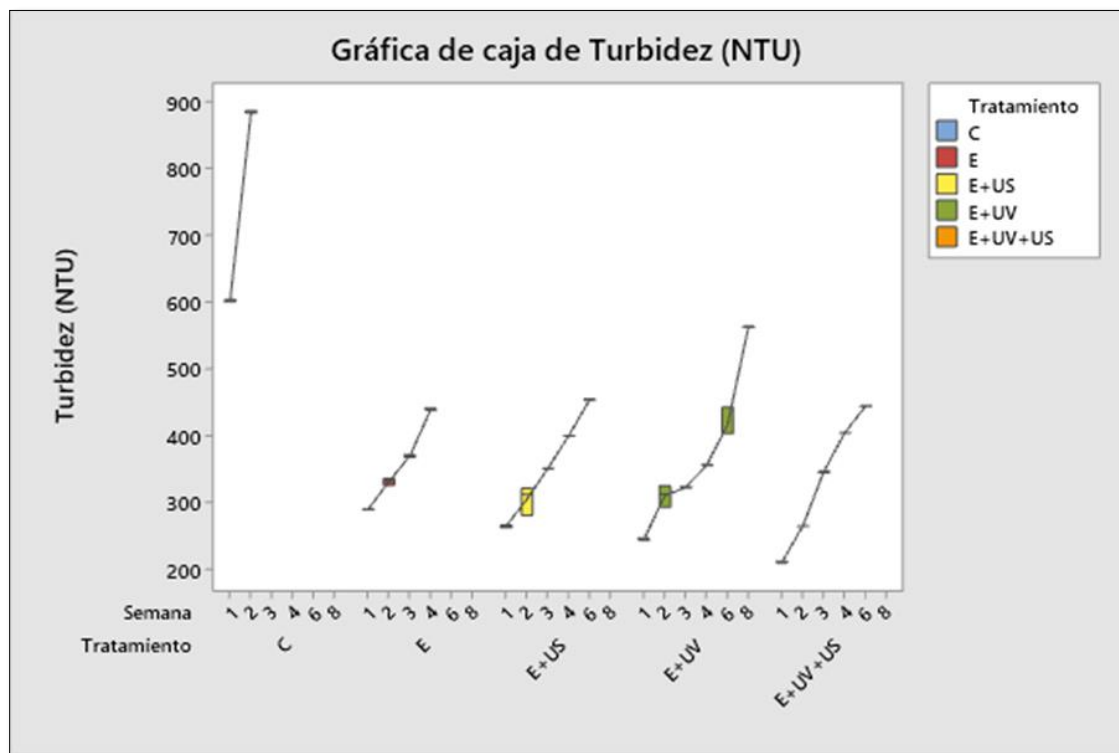


Figura 15. Cambios de turbidez de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

La Figura 15, muestra el comportamiento de la turbidez con respecto al tiempo de almacenamiento en refrigeración de las bebidas sometidas a tratamiento no térmico. Se observa que en todos los casos existe un incremento directamente proporcional con respecto al tiempo, sin embargo, el tratamiento control presenta valores iniciales de 600 NTU en contraste con ~250 NTU de los demás tratamientos. Esto se puede

explicar a la adición de nanopartículas en el medio acuoso, ya que el extracto rico en flavonoides proporciona a la bebida un mayor contenido de polifenoles totales. Por tanto, en los tratamientos sometidos a ultrasonido y UV-C no se observa un aumento significativo ($p > 0.05$) logrando una estabilidad a diferencia del tratamiento control y el aumento de turbidez se puede atribuir a la liberación controlada del agente activo (extracto de *E. polystachya*) y el cual a su vez ya ha sido descrito en anteriores investigaciones (González-Reza, 2017; Colín-Ortíz, 2019). El tratamiento que presenta una turbidez inicial más baja (250 NTU) y siempre se mostró estable y clarificado durante las semanas de almacenamiento fue E+UV+US.

3.3 Fenoles Totales.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios y se sabe que son importantes para impartir beneficios para la salud y para desarrollar en el color y sabor de jugos de frutas y vinos.

En la Figura 16, se muestran los cambios en el contenido de fenoles de la bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados, mostrando un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.05$), los cuales se pueden atribuir a la degradación o liberación controlada del agente activo (extracto de *E. polystachya*).

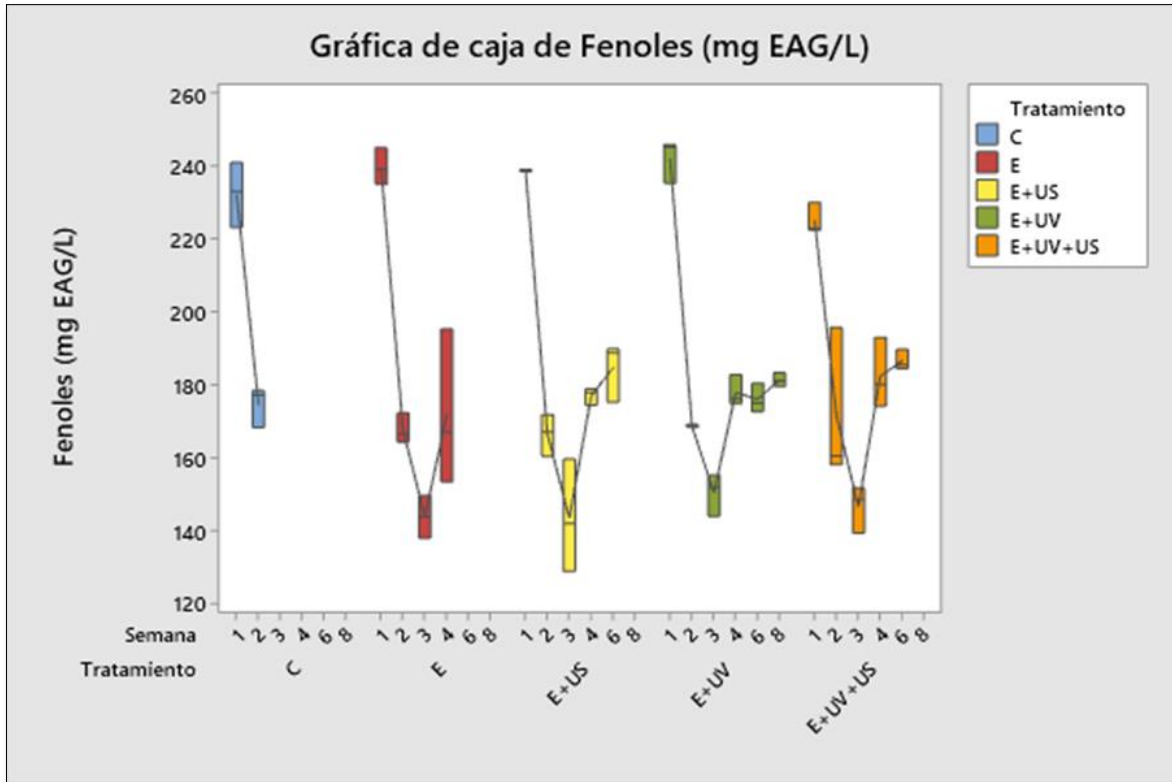


Figura 16. Cambios de contenido de fenoles totales de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

La Figura 16, muestra la evolución de los fenoles totales en la bebida, encontrando un efecto significativo ($p \leq 0.05$) dado por la adición de las nanopartículas, en este sentido, el aumento en la concentración esta dado a que el extracto rico en flavonoides proporciona a la bebida un mayor contenido de polifenoles totales. Los tratamientos sometidos a ultrasonido y UV-C no disminuyeron de manera significativa ($p > 0.05$) las concentraciones de los compuestos activos como los polifenoles (alrededor de 180 mg EAG/L) asociados a los cambios en la luminosidad. La variación en la disminución en la semana dos y el aumento en los otros cuatro tratamientos a partir de la semana 3 se debe a la estabilización de los flavonoides residuales lograda por la liberación de las nanopartículas de compuesto activo. Siendo el tratamiento E+UV+US el que siempre se mostró estable y clarificado durante el almacenamiento.

3.4 Flavonoides.

Los flavonoides han sido reportados como eliminadores de una amplia gama de especies reactivas al oxígeno, así como inhibidores de la peroxidación lipídica (Williams et al., 2004). En la Figura 17, se muestran los cambios en el contenido de flavonoides de la bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados, mostrando un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.05$), los cuales se pueden atribuir a la degradación o liberación controlada del agente activo (extracto de *E. polystachya*).

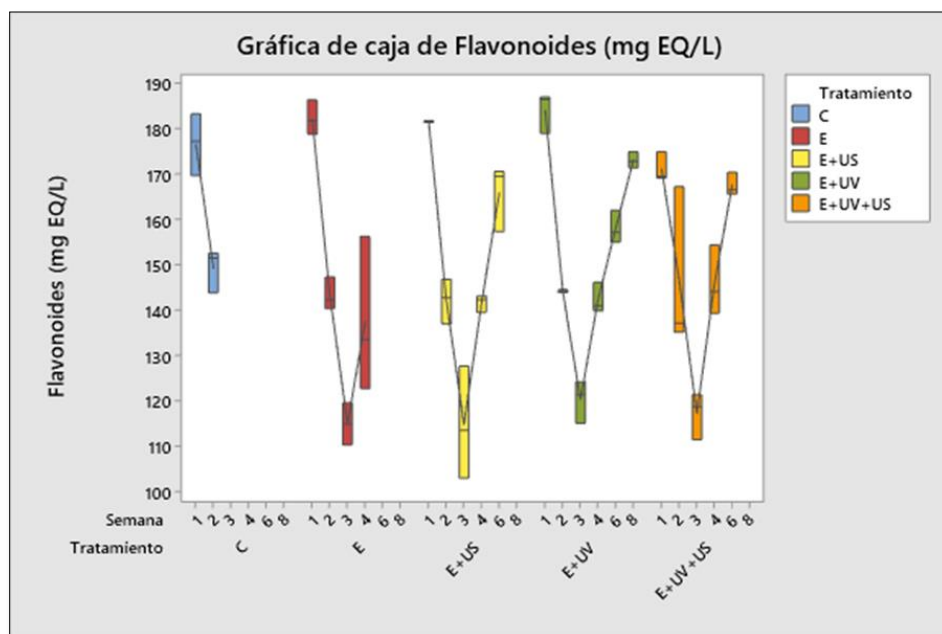


Figura 17. Cambios de contenido de flavonoides de la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

En la Figura 17, se observa el decremento significativo de la muestra control a diferencia los demás tratamientos ($p \leq 0.05$), debido a que en ese sistema no hay nanopartículas con compuesto activo a diferencia de los otros 4 tratamientos en donde se observa la variación en la disminución en la semana dos y el aumento en los otros cuatro tratamientos a partir de la semana 3, lo cual, se debe a la estabilización de los flavonoides residuales lograda por la liberación de las

nanopartículas de compuesto activo y los distintos tratamientos aplicados, en la cual no se observa un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p > 0.05$) puesto que de la semana 1 a la 2 disminuyen de 180 a 120 mg EQ/L pero a partir de la semana 3 aumenta de los 120 a 170 mg EQ/L lo cual se atribuye como antes se había mencionado a la liberación de nanopartículas. Ya que el aumento en la concentración esta dado a que el extracto rico en flavonoides proporciona a la bebida un mayor contenido de polifenoles totales.

3.5 PPO

La calidad y la frescura de los jugos de frutas pueden estar relacionadas con el color, la turbidez y la estabilidad de los sólidos en suspensión, los cambios en estos atributos se deben principalmente a reacciones catalizadas por enzimas, tales como PPO (Juárez Enríquez et al., 2015; Abid et al., 2014).

En la Figura 18, se muestran los cambios en la actividad residual relativa PPO de la bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados, mostrando un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p < 0.05$), los cuales se pueden atribuir a la degradación o liberación controlada del agente activo (extracto de *E. polystachya*).

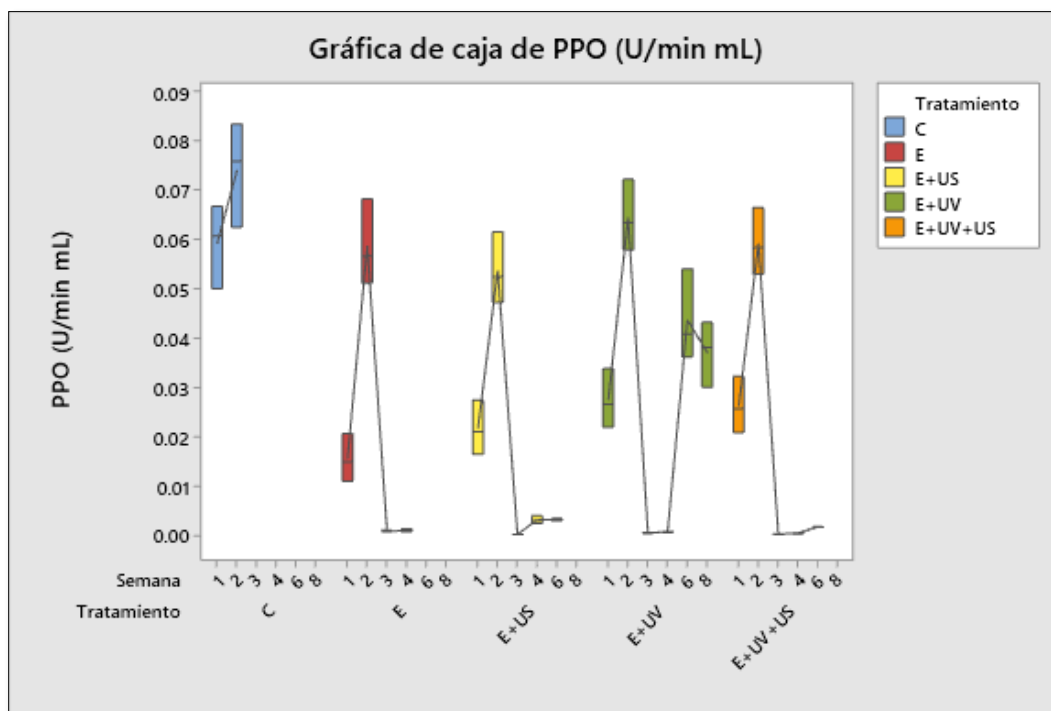


Figura 18. Actividad residual relativa PPO en la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

En la Figura 18, se observa como comportamiento de los tratamientos aplicados con respecto a la actividad enzimática PPO no presentaron variaciones significativas durante el almacenamiento ($p > 0.05$) revelando la efectividad de los mismos sobre la vida útil del jugo. El jugo adicionado con las nanopartículas y procesado por ultrasonido e irradiación UV-C presentó una vida útil de 8 semanas, en contraste con las 2 semanas del control, debido a que a partir de la semana 3 comienza la liberación del compuesto activo, el cual asegura la inhibición enzimática observándose una mayor efectividad en el tratamiento E+UV+US, la inactivación de las enzimas se produce debido a los cambios en estabilidad, la estructura y funcionalidad de las proteínas causadas por la interrupción de las interacciones intermoleculares o modificaciones en el grupo funcional de proteínas (Terefe et al., 2009).

3.6 POD

En la Figura 19, se muestran los cambios en la actividad residual relativa PPO de la bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados, mostrando un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.05$), los cuales se pueden atribuir a la degradación de liberación controlada del agente activo (extracto de *Eysenhardtia Polystachya*).

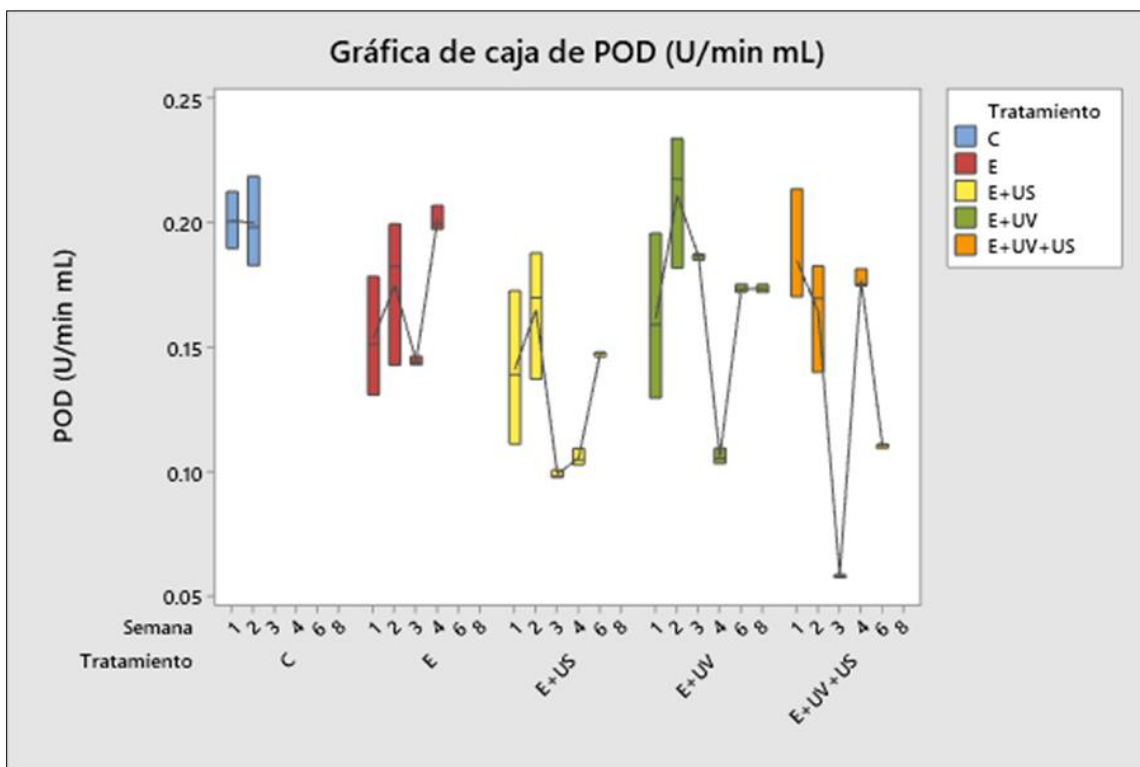


Figura 19. Actividad residual relativa POD en la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

En la Figura 19, se observa como comportamiento de los tratamientos aplicados con respecto a la actividad enzimática POD no presentaron variaciones significativas durante el almacenamiento ($p > 0.05$) revelando la efectividad de los mimos sobre la vida útil del jugo. Siendo el tratamiento E+UV+US el que siempre se mostró estable. Pues se observa como inicialmente va aumentando pues la POD para jugo fresco inicia 0.20 en U/mL min y las de los otros 4 tratamientos comienzan entre 0.15 y

1.17 U/mL min, de igual manera la actividad enzimática en los 4 tratamientos a diferencia de la muestra control, que como no tiene ningún compuesto activo, se comporta como en anteriores investigaciones que indican que la POD cataliza las reacciones de oxidación utilizando peróxidos u oxígeno como aceptor de hidrógeno, promoviendo la degradación de color, sabor y el valor nutricional de los jugos.

El mecanismo de acción de la POD implica la formación de complejos los cuales, pueden ser fenoles aminos u otros compuestos, por lo tanto, la POD podría reducir sustancialmente los beneficios para la salud perdiendo nutrientes importantes como ácido ascórbico y carotenoides (Hemada & Klein,1991; Davey et al., 2000; Wrostrand.2000), pero a partir de la semana 3 en los 4 tratamientos empieza su disminución, lo cual se puede atribuir a la degradación de liberación controlada del agente activo (extracto de *E. polystachya*), logrando un mejor resultado en el tratamiento E+UV+US, en el cual se observa dos curvas de descenso lo cual se puede deber a la combinación de todos los tratamientos y el efecto que tienen en la liberación del compuesto activo.

3.7 PME

En la Figura 20, se muestran los cambios en la actividad residual relativa PME de la bebida funcional de jugo de piña con los diferentes tratamientos aplicados, mostrando un efecto estadísticamente significativo por el tiempo de almacenamiento ($p \leq 0.05$), los cuales se pueden atribuir a la degradación de liberación controlada del agente activo (extracto de *Eysenhardtia Polystachya*).

La PME es una enzima péptica la cual está implicada en procesos en los cuales se degradan cadenas de homogalacturonanos que conforman las pectinas, al degradarse estas sustancias se provocan y catalizan cambios indeseables en el atractivo de color, viscosidad y sabor característico (Aguiló – Aguayo et al., 2010).

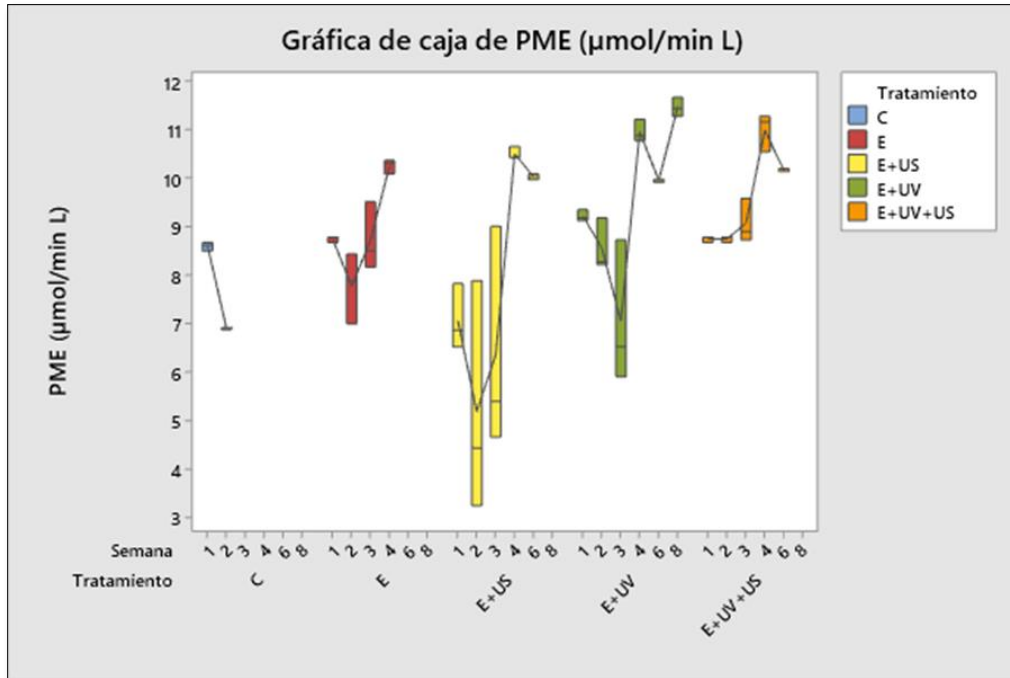


Figura 20. Actividad residual relativa PME en la bebida funcional durante el almacenamiento en refrigeración.

Como se muestra en la Figura 20, se observa como comportamiento de los tratamientos aplicados con respecto a la actividad enzimática PME no presentaron variaciones significativas durante el almacenamiento ($p > 0.05$) revelando la efectividad de los mimos sobre la vida útil del jugo. El jugo adicionado con las nanopartículas y procesado por ultrasonido e irradiación UV-C presentó una vida útil de 8 semanas, en contraste con las 2 semanas del control.

Los tratamientos que emplean tecnologías emergentes reflejan en las primeras tres semanas una disminución de la actividad enzimática, lo cual, es normal debido a la despectinización aplicada al elaborar el jugo, y a partir de la semana tres un aumento en la misma, esto se atribuye a la liberación del compuesto activo el cual al liberarse se degrada primero que los componentes nativos del jugo de piña. El que mejor comportamiento presento es el tratamiento E+UV+US, pues aparte de que en las primeras dos semanas se mostró estable, su curva de ascenso fue menor que los demás tratamientos, confirmando como se muestra en las otras pruebas que la combinación de tecnologías emergentes es más efectiva.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

Se estableció una formulación para la bebida funcional de piña, la cual tiene como variante la presencia de extracto *E Polystachya*, la forma en que se encuentra presente como sistema nanoestructurado y tecnologías emergentes que se aplicaron y combinaron para lograr una mayor durabilidad sin afectar al 100% sus propiedades organolépticas.

Se estableció que los cambios de color y turbidez que se obtuvieron en los diferentes tratamientos fueron por efecto de la adición de nanopartículas poliméricas funcionalizadas con extracto de *E. Polystachya*. Se concluyó que los cambios obtenidos en el almacenamiento refrigerado fueron dados por la liberación de activo de las nanopartículas al medio.

El contenido de polifenoles y flavonoides obedeció a la incorporación de el extracto de *E. Polystachya*, dado que es un medio rico en estos compuestos, además la evolución de la concentración de polifenoles totales y flavonoides fue explicada por la liberación de el extracto de *E. Polystachya* en el medio, asociado a los cambios en la cromaticidad y luminosidad de las muestras en el almacenamiento en refrigeración.

Se estableció que la actividad enzimática de la pectinmetilesterasa, polifenoloxidasas y peroxidasas en jugo de piña adicionado con nanopartículas de *E. polystachya* pasteurizado por luz UV-C y ultrasonido fue controlada por la combinación de estos tratamientos, favoreciendo así el aumento de la vida útil del jugo, pasando de 2 semanas en el sistema control a 8 semanas en el mejor tratamiento (nanopartículas de *E. polystachya* aunado con la combinación de tratamientos por ultrasonido e irradiación UV-C), lo que representa un aumento de la vida útil del 400%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, L. F. M. (2018). Producción y rendimiento del cultivo de la piña (ananas comosus) en Costa Rica, periodo. REVISTA E-AGRONEGOCIOS, 4.
- Almengor, L. (2009). Nanotecnología en la Industria Alimentaria. Revista Electrónica, 13(Julio), 35-52.
- Alimentarius, C. (2005). Norma general del Codex para zumos (jugos) y néctares de frutas. Codex Stan, 247-251.
- Alvarez, L., & Delgado, G. (1999). C-and O-glycosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. Phytochemistry, 50, 681-687.
- Alvarez, L., Rios, M. Y., Esquivel, C., Chávez, M. I., Delgado, G., Aguilar, M. I., ... & Navarro, V. (1998). Cytotoxic Isoflavans from *Eysenhardtia polystachya*. Journal of Natural Products, 767-770.
- Amidi, M., Mastrobattista, E., Jiskoot, W., & Hennink, W. E. (2010). Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. Advanced Drug Delivery Reviews, 62, 59-82.
- Awad, M., & Young, R. E. (1980). Avocado pectinmethylesterase activity in relation to temperature, ethylene and ripening. Journal of the American Society for Horticultural Science, 105, 638-641.
- Badui D. S. (2006). Química de los alimentos. México: Alhambra Mexicana.
- Barba, A. O., Hurtado, M. C., Mata, M. S., Ruiz, V. F., & De Tejada, M. L. S. (2006). Application of a UV-vis detection-HPLC method for a rapid

determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95, 328-336.

Barreiro, J. A., & Sandoval, A. J. (2006). Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. *Equinoccio*.

Calvo, P., Remunan-Lopez, C., Vila-Jato, J. L., & Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*, 63, 125-132.

Calvo, P., Vila-Jato, J.L., Alonso, M.J. (1997). Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers. *Int. J. Pharm.* 153, 41–50.

Campo Y, Gelves V, A. A. (2018). Ultra sonido en el procesamiento. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 16(1), 102–113.

Cattani, V.B., Pohlmann, A.R., Costa, T.D., 2008. Pharmacokinetic evaluation of indomethacin ethyl ester-loaded nanoencapsules. *International Journal of Pharmaceutics*, 363, 214–216.

Carbonell, J. V., Contreras, P., Carbonell, L., & Navarro, J. L. (2006). Pectin methylesterase activity in juices from mandarins, oranges and hybrids. *European Food Research and Technology*, 222(1-2), 83-87.

Cedillo Jiménez, C. A., & Hernández López, J. L. (2010). Determinación de la actividad enzimática de peroxidasas (catalasa). *Verano Ciencia Region Centro/UAQ*.

Cerrato, I. (2013). Panorama mundial de la piña. Pronagro.premperhn.com

CODEX STAND 247-2005, Standard, T. (2005). CODEX STAN 247 Página 1 de 21, 1–21.

- Domínguez, L., & Parzanese, M. (2009). Luz Ultravioleta en Alimentos. Alimentos Argentinos. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca. Gobierno Argentino, 1, 71–73.
- Duncan, T. V. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of Colloid and Interface Science*, 363, 1-24.
- Ebel, A. I., Itati Giménez, L., González, A. M., & Alayón Luaces, P. (2016). Evaluación morfoanatómica de hojas " D" de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr. var. *comosus*) en respuesta a la implantación de dos sistemas de cultivo en Corrientes, Argentina. *Acta Agronómica*, 65, 390-397.
- Ferreira-García, M. G., Hernandez-Martinez, A. R., Esparza, R., Molina, G. A., Rodriguez-Melgarejo, F., Jiménez, S., & Estevez, M. (2017). Effects of extraction solvents on photoluminescent properties of *Eysenhardtia polystachia* and their potential usage as biomarker. *Materials Science and Engineering: C*, 72, 42-52.
- García, M. D., & Serrano, H. (2005). La piña, *Ananas comosus* (L.) Merr. (Bromeliaceae), algo más que un fruto dulce y jugoso. *Contacto S*, 56, 55-61.
- González-Reza, R. M. (2017). Síntesis y funcionalización de nanoestructuras con compuestos fluorescentes extraídos de *Eysenhardtia polystachya* para su aplicación en una bebida funcional. Instituto Politécnico Nacional, 14-58.
- González-Reza, R. M., Quintanar-Guerrero, D., Flores-Minutti, J. J., Gutiérrez-Cortez, E., & Zambrano-Zaragoza, M. L. (2015). Nanocapsules of β -carotene: Thermal degradation kinetics in a scraped surface heat exchanger (SSHE). *LWT - Food Science and Technology*, 60, 124–130.

- Gutiérrez, R. M. P., Solís, R. V., Dueñas, L. M. G., & Badillo, L. D. (2002). Efecto de isoflavonas aisladas de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* sobre el crecimiento de cristales de oxalato y fosfato de calcio urinario. *Boletín del Colegio Mexicano de Urología*, 17, 134-139.
- Hemeda, H. M., & Klein, B. P. (1991). Inactivation and regeneration of peroxidase activity in vegetable extracts treated with antioxidants. *Journal of food science*, 56, 68-71.
- Heurtault, B., Saulnier, P., Pech, B., Proust, J. E., & Benoit, J. P. (2003). Physico-chemical stability of colloidal lipid particles. *Biomaterials*, 24, 4283-4300.
- Hirsch, A. R., Förch, K., Neidhart, S., Wolf, G., & Carle, R. (2008). Effects of thermal treatments and storage on pectin methylesterase and peroxidase activity in freshly squeezed orange juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56, 5691-5699.
- Hoover, D. G. (2000). Ultrasound. *Journal of Food Safety*, 65(8), 93-95. Koutchma, T. (2008). UV light for processing foods. *Ozone: Science and Engineering*, 30, 93-98.
- Inés Latorre, L. V, Lucia Pantoja, A. C., Fernando Mejía-españa, D., Osorio, O. M., & Mauricio Hurtado, A. B. (2013). revista Bio Vol 11 No1_6_11_13.pdf. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(1), 113-122.
- Lechford, K., Burt, H., 2007. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures. Micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *Eur J. Pharm. Biopharm.* 65, 259-569.
- Letchford, K., & Burt, H. (2007). A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles,

nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65, 259-269.

López-Díaz, A., Palou, E., & López-Malo, A. (2012). Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6, 79-93.

Lupano, C. E. (2013). *Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento*. Buenos Aires (Argentina): Universidad Nacional de La Plata.

Ly-Nguyen, B., Loey, A. V., Smout, C., ErenÖzcan, S., Fachin, D., Verlent, I., & Hendrickx, M. E. (2003). Mild-Heat and High-Pressure Inactivation of Carrot Pectin Methylesterase: A Kinetic Study. *Journal of Food Science*, 68, 377-1383.

Maca, M. P., Osorio, O., & Mejía-España, D. F. (2013). Inactivación térmica de pectinmetilesterasa en tomate de árbol (*Solanum betaceum*). *Información tecnológica*, 24, 41-50.

Macrae, R., R.K. Robinson and M.J. Sadler, 1993. Wine. In: *Encyclopedia of Food Science Food Technology and Nutrition*. Harcourt Brace Jovanovich Publishers, New York, 4921-4946.

Marshall, M. R., Marcy, J. E., & BRADDOCK, R. (1985). Effect of total solids level on heat inactivation of pectinesterase in orange juice. *Journal of Food Science*, 50, 220-222.

Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A., & Lopez-Buesa, P. (2005). Application of ultrasound. In *Emerging technologies for food processing* (pp. 323-351). Academic Press.

- Matsukawa, S., & Watanabe, T. (2007). Gelation mechanism and network structure of mixed solution of low-and high-acyl gellan studied by dynamic viscoelasticity, CD and NMR measurements. *Food Hydrocolloids*, 21, 1355-1361.
- Mora-Huertas, C. E., Fessi, H., & Elaissari, A. (2010). Polymer-based nanocapsules for drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 385, 113-142.
- Morata, A. (2004). *Nuevas tecnologías de conservación de alimentos (Vol. 2004)*.
- Narváez-Mastache, J. M., Garduño-Ramírez, M. L., Alvarez, L., & Delgado, G. (2006). Antihyperglycemic activity and chemical constituents of *Eysenhardtia platycarpa*. *Journal of Natural Products*, 69, 1687-1691.
- Narváez-Mastache, J. M., Novillo, F., & Delgado, G. (2008). Antioxidant aryl-prenylcoumarin, flavan-3-ols and flavonoids from *Eysenhardtia subcoriacea*. *Phytochemistry*, 69, 451-456.
- Narváez-Mastache, J. M., Soto, C., & Delgado, G. (2007). Antioxidant evaluation of *Eysenhardtia* species (Fabaceae): Relay synthesis of 3-O-Acetyl-11 α , 12 α -epoxy-oleanan-28, 13 β -olide isolated from *E. platycarpa* and Its Protective Effect in Experimental Diabetes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30, 1503-1510.
- Narváez-Mastache, J.M., Delgado, G., Garduño-Ramírez, M.L., Alvarez, L., 2003. Constituyentes bioactivos de *Eysenhardtia platycarpa* (Fab-aceae). *Journal of the Mexican Chemical Society*. 47 (Special issue 1), 149.
- Noriega-Peláez, E. K., Mendoza-Muñoz, N., Ganem-Quintanar, A., & Quintanar-Guerrero, D. (2011). Optimization of the emulsification and solvent displacement method for the preparation of solid lipid nanoparticles. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 37, 160-166.

- Perez-Gutierrez, R. M., Garcia-Campoy, A. H., & Muñiz-Ramirez, A. (2016). Properties of flavonoids isolated from the bark of *eysenhardtia polystachya* and their effect on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetes mellitus in mice. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Programa, E. L., & Alimentos, U. D. E. (1968). Ananas Sativus, Ananas Comosus), 1-5.
- Quintanar, D., Alleman, E., Fessi, H., Doelker, E., 1998a. Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, 1113-1128.
- Ramírez, A., & Pacheco de Delahaye, E. (2011). Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia*, 36.
- Ranganna, S. (1986). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*. Tata McGraw-Hill Education.
- Rebolledo Martínez, A., del Ángel Pérez, A. L., Rebolledo Martínez, L., Becerril Román, A. E., & Uriza-Ávila, D. (2006). Rendimiento y calidad de fruto de cultivares de piña en densidades de plantación. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 29.
- Robles-Ozuna, L. E., & Ochoa-Martínez, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista iberoamericana de tecnología postcosecha*, 13.
- Rodríguez, R., Becquer, R., Pino, Y., López, D., Rodríguez, R. C., Lorente, G. Y., ... & González, J. L. (2016). Producción de frutos de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) MD-2 a partir de vitroplantas. *Cultivos Tropicales*, 37, 40-48.

- Rojas, J., Gordillo, C., Guerrero, N., Izáziga, N., Laguna, B., & Lázaro, M. (2012). Efecto de la proporción de naranja (*Citrus sinensis*), papaya (*Carica papaya*) y piña (*Ananas comosus*) en la aceptabilidad sensorial de un néctar mixto. *Agroindustrial Science*, 2, 132-138.
- SAGARPA (2017). Planeación Agrícola Nacional, Piña Mexicana, 2017-2030, 1-16.
- Samaniego, E., Ibarz, A., & Ruales, J. (2014). Efecto de la Irradiación Ultravioleta en la Actividad Enzimática de la Polifenoloxidasas y Peroxidasas y las Propiedades Fisicoquímicas del Jugo de dos Variedades de Naranja (Solanumquitoense Lam). *Revista Escuela Politécnica Nacional*, 33(2), 1-6.
- Sankari, M., Hridya, H., Sneha, P., Doss, C. G. P., & Ramamoorthy, S. (2017). Effect of UV radiation and its implications on carotenoid pathway in *Bixa orellana* L. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 176, 1
- Sozer, N., & Kokini, J. L. (2009). Nanotechnology and its applications in the food sector. *Trends in biotechnology*, 27, 82-89.
- Wächter, G. A., Hoffmann, J. J., Furbacher, T., Blake, M. E., & Timmermann, B. N. (1999). Antibacterial and antifungal flavanones from *Eysenhardtia texana*. *Phytochemistry*, 52, 1469-1471.
- Wang, J. J., Zeng, Z. W., Xiao, R. Z., Xie, T., Zhou, G. L., Zhan, X. R., & Wang, S. L. (2011). Recent advances of chitosan nanoparticles as drug carriers. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 765.
- Zambrano-Zaragoza, M., González-Reza, R., Mendoza-Muñoz, N., Miranda-Linares, V., Bernal-Couoh, T., Mendoza-Elvira, S., & Quintanar-Guerrero, D. (2018). Nanosystems in edible coatings: A novel strategy for food preservation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 705.