



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Elaboración de bebida carbonatada de fruto de garmbullo (*Myrtillocactus geometrizans*)  
aplicando ozono y sonicación como métodos alternativos a la pasteurización

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERA EN ALIMENTOS

PRESENTA:

ARACELI CAPETILLO RUBIO

ASESORAS:

DRA. ALMA ADELA LIRA VARGAS

DRA. MARÍA ANDREA TREJO MÁRQUEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2021



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

*El presente trabajo fue financiado por el proyecto **IT202419**. Aplicación de tratamientos de ultrasonido, campos eléctricos y cocción solar en el procesamiento de productos hortofrutícolas típicos de México.*

*Agradecemos al proyecto **PIAPI 1805**. Aplicación de tecnologías emergentes para la conservación, aprovechamiento y control de la inocuidad de productos vegetales.*

### **LUGAR DE REALIZACIÓN**

*Este trabajo se realizó en el Centro de Asimilación Tecnológica, Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales, Facultad de Estudios Cuautitlán UNAM.*

## *Dedicatorias*

Le dedico este trabajo de tesis a mi mamá Oliva Rubio y a mi papá Martin Capetillo, porque gracias a ustedes pude terminar con éxito esta etapa de mi vida, mamá gracias por tus desvelos y por ser mi guía, por esas conversaciones en la madrugada, por tus palabras de aliento cuando más las necesitaba y por los consejos interminables, papá gracias por tu apoyo incondicional y por enseñarme a ser una persona honrada y respetable. Pero sobre todo por darme el más bonito de los amores que puede existir en la vida.

A mis hermanos María Elena, Maribel, Carlos y Marili porque gracias a ustedes he disfrutado cada una de las etapas de mi vida, por sus cuidados y amor hacia mí por permitirme ser su hermanita menor y regalarme momentos únicos que recuerdo con una sonrisa que nunca se borrara de mi rostro.

A mis sobrinos Valeria, Emiliano y a mis pequeñas Isa y Karlita, por tantas risas, juegos y momentos maravillosos a su lado y por permitir que los guíe en lo poco o mucho que se dé la vida, por esperarme los fines de semana con una sonrisa y un abrazo y también a los bebés de la familia Sofi y Leandro los amo mucho.

Y por último a mi abuelo Carlos Capetillo porque, aunque ya no este conmigo aun lo sigo recordando con mucho amor y respeto, sé que le daría tanto gusto y orgullo ver la mujer en la que me he convertido y también sé que este logro lo estamos compartiendo, siempre vivirás en mi corazón. Gracias por mi Teddy.

Los amo familia, son mi motor para ser cada día una mejor versión de mi porque sin su apoyo no sería el maravilloso ser humano que soy ahora.

“Las personas,  
al igual que las aves  
son diferentes en su vuelo  
pero iguales en su derecho a volar”

Anónimo

## *Agradecimientos*

A mis profesoras del taller de frutos, principalmente a mis asesoras, Dra. Ma. Andrea Trejo Márquez por todo el apoyo y las enseñanzas que me brindo durante y después de ser su alumna y a la Dra. Alma Adela Lira Vargas, por su paciencia hacia mí, el tiempo de más en el laboratorio, por apoyarme en la redacción de este trabajo de tesis y los consejos para ser una buena ingeniera. A la maestra Selene Pascual Bustamante, por ayudarme a resolver mis dudas respecto a mi proyecto.

Al profesor Edgar Arechavaleta, porque me enseñó a hacer frente a toda clase de situaciones y vencer mis miedos. En general, a todos los profesores que me brindaron su tiempo y compartieron su conocimiento para hacer posible mi formación profesional.

La amistad es un gran tesoro y tuve la oportunidad de encontrar el mejor. Gracias Viri (Netzahualcoyotl) por ser mi primera amiga en la Universidad y conservar tan lindo vinculo conmigo, Sebas (Frías) gracias por las charlas tan amenas y profundas que sin duda me dejaban pensando, David (Rodríguez) mi ingeniero químico favorito por siempre tener una palabra de aliento cuando más la necesitaba y también por consentirme, Noemí (Aguilar) mi gemela favorita por tan linda amistad de ñoñes y risas entre clases, Almita (Camacho) por ser una amiga tan maravillosa y compartir tantas cosas en común desde nuestros gustos por la comida, música, arte, hasta nuestros intentos con la danza contemporánea y junto con Fani hacer muy ameno el proceso de experimentación en el taller, gracias Fani (Melo) por permitirme conocerte mejor y saber que eres una gran persona que además cocina bien rico. Y por último a Erick (Hernández) porque, aunque nos conocimos al final de este camino me apoyaste incondicionalmente y por los bonitos momentos que compartimos. Gracias a la UNAM, por abrirme sus puertas y mostrar un mundo lleno de conocimientos y oportunidades que sin duda cambiaron el rumbo de mi vida. Y especialmente a Dios por todas las bendiciones que me ha dado.

## ÍNDICE GENERAL

	Página
Resumen	2
1. Introducción	4
2. Antecedentes	7
2.1. Generalidades del garambullo	7
2.1.1. Taxonomía y morfología	8
2.1.2. Importancia económica	10
2.1.3. Industrialización (usos y productos)	11
2.2. Bebidas	11
2.2.1. Definición de bebidas	11
2.2.2. Clasificación de bebidas	12
2.2.3. Bebidas carbonatadas	13
2.2.4. Importancia económica	13
2.2.5. Proceso de elaboración	14
2.2.6. Edulcorantes	17
2.2.6.1. Definición	17
2.2.6.2. Miel de agave	18
2.3. Tecnologías emergentes	18
2.3.1. Definición	18
2.3.2. Tipos	18
2.3.2.1. Altas presiones hidrostáticas	18
2.3.2.2. Campos eléctricos	20
2.3.2.3. Campos magnéticos	21
2.3.2.4. Irradiación	22
2.3.2.5. Ozono	24
2.3.2.6. Sonicación	25
2.3.3. Efectos físicos y nutrimentales	27

3. Objetivos	29
3.1. Objetivo general	29
3.2. Objetivos particulares	29
3.2.1. Objetivo particular 1	29
3.2.2. Objetivo particular 2	29
3.2.3. Objetivo particular 3	29
3.2.4. Objetivo particular 4	30
4. Materiales y métodos	32
4.1. Cuadro metodológico	32
4.2. Material biológico	33
4.3. Caracterización del fruto de garambullo	33
4.4. Desarrollo y selección de la bebida carbonatada	33
4.4.1. Evaluación sensorial	35
4.5. Evaluación del efecto de los tratamientos térmicos y no térmicos para la pasteurización de la bebida de garambullo	37
4.5.1. Ozonización	38
4.5.2. Sonicación	38
4.6. Evaluación de la vida útil de la bebida carbonatada	38
4.6.1. Cinética de deterioro de los atributos de la bebida carbonatada	38
4.7. Técnicas analíticas	42
4.7.1. Parámetros químicos	42
4.7.1.1. Azúcares reductores totales	42
4.7.1.2. Cenizas	42
4.7.1.3. Fibra cruda	43
4.7.1.4. Humedad	43
4.7.1.5. Lípidos	43
4.7.1.6. Proteínas	44
4.7.2. Parámetros de calidad	44

4.7.2.1.	Acidez	44
4.7.2.2.	Color	44
4.7.2.3.	pH	45
4.7.2.4.	Sólidos solubles	45
4.7.3.	Parámetros nutrimentales	45
4.7.3.1.	Betalainas	45
4.7.3.2.	Capacidad antioxidante	46
4.7.3.3.	Fenoles totales	46
4.7.3.4.	Vitamina C	47
4.7.4.	Parámetros microbiológicos	47
4.7.4.1.	Coliformes totales	48
4.7.4.2.	Mesófilos aerobios	48
4.7.4.3.	Mohos y levaduras	48
4.7.5.	Análisis estadístico	48
5.	Resultados y discusión	51
5.1.	Caracterización del fruto de garambullo	51
5.2.	Desarrollo y selección de la bebida carbonatada	59
5.2.1.	Evaluación sensorial	59
5.3.	Efecto de la pasteurización tradicional con tratamientos no térmicos	66
5.3.1.	Carga microbiológica	66
5.3.2.	Capacidad antioxidante	69
5.3.3.	Fenoles totales	71
5.3.4.	Color	73
5.4.	Evaluación de la vida útil de la bebida carbonatada	75
6.	Conclusiones	86
7.	Recomendaciones	89
8.	Referencias	91
9.	Anexos	99

**Índice de figuras**

Figura 1. Planta de garambullo	8
Figura 2. Planta de garambullo en proceso de floración	9
Figura 3. (A) Planta de garambullo con frutos, (B) Frutos de garambullo	9
Figura 4. Localización de los principales estados productores de garambullo (Hidalgo, Querétaro, San Luis Potosí y Guanajuato)	10
Figura 5. Usos de las flores y frutos de garambullo	11
Figura 6. Gráfica de volumen (en millones de litros) anual de ventas de refresco en México (2012-2016).	14
Figura 7. Diagrama de elaboración de bebidas carbonatadas	15
Figura 8. Proceso de pasteurización con altas presiones hidrostáticas tipo horizontal	19
Figura 9. Diagrama general de sistema de campos eléctricos	21
Figura 10. Espectro electromagnético	23
Figura 11. Acción del ozono sobre los microorganismos	25
Figura 12. Efecto de la sonicación en un medio líquido. Expansión de las burbujas de gas hasta implosión con evaluación de la temperatura y la presión	26
Figura 13. Diagrama de proceso para la elaboración de la bebida carbonatada	34
Figura 14. Formato de análisis sensorial	36
Figura 15. Diagrama de proceso para la elaboración de la bebida carbonatada (con tratamientos alternativos a la pasteurización)	37
Figura 16. Evaluación del color en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña y miel de agave	60
Figura 17. Evaluación del olor en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña y miel de agave	62
Figura 18. Evaluación del sabor en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña y miel de agave	63
Figura 19. Evaluación de la textura en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña y miel de agave	64
Figura 20. Evaluación general de la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña y miel de agave	65

Figura 21. Capacidad antioxidante en la bebida carbonatada de garambullo control, sometida a pasteurización y ozonización	70
Figura 22. Capacidad antioxidante en la bebida carbonatada de garambullo control, sometida a pasteurización y sonicación	70
Figura 23. Fenoles totales en la bebida carbonatada de garambullo control, sometida a pasteurización y ozonización	71
Figura 24. Fenoles totales en la bebida carbonatada de garambullo control, sometida a pasteurización y sonicación	72
Figura 25. Luminosidad de la bebida carbonatada control, sometida a pasteurización y ozonización	73
Figura 26. Luminosidad de la bebida carbonatada control, sometida a pasteurización y sonicación	74
Figura 27. Comportamiento del deterioro de la acidez de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento	78
Figura 28. Comportamiento logarítmico del deterioro de la acidez de la bebida carbonatada a diferentes temperaturas de almacenamiento	80
Figura 29. Log de vida útil de la bebida carbonatada de garambullo en función de las temperaturas	81

**Índice de tablas**

	Página
Tabla 1. Clasificación de bebidas	12
Tabla 2. Formulación para la elaboración de la bebida carbonatada a diferentes concentraciones de edulcorantes	33
Tabla 3. Parámetros químicos del fruto de garambullo ( <i>Myrtillocactus geometrizans</i> )	52
Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del fruto de garambullo ( <i>Myrtillocactus geometrizans</i> )	55
Tabla 5. Parámetros nutrimentales del fruto de garambullo ( <i>Myrtillocactus geometrizans</i> )	58
Tabla 6. Parámetros microbiológicos de la bebida carbonatada de garambullo con diversos tratamientos alternativos a la pasteurización	67
Tabla 7. Coeficiente de correlación ( $r^2$ ) de los parámetros determinados en la bebida carbonatada a diferentes temperaturas	77
Tabla 8. Regresiones lineales obtenidas en la acidez a diferentes temperaturas	79
Tabla 9. Valores de vida útil de la bebida carbonatada	82
Tabla 10. Factor $Q_{10}$ de la bebida carbonatada de garambullo	82
Tabla 11. Monitoreo microbiológico de la bebida carbonatada de garambullo a diferentes temperaturas	83



# RESUMEN

## RESUMEN

México es un país donde se consume una gran cantidad de refresco lo cual es alarmante debido a que el consumo de este tipo de bebidas es un detonante de enfermedades como la diabetes. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue elaborar una bebida carbonatada endulzada con miel de agave y azúcar de caña utilizando el fruto de garambullo, (el cual proviene de una cactácea con un alto contenido nutrimental: vitamina C, proteína, betalaínas, compuestos fenólicos y antioxidantes), aplicando ozonización y sonicación como métodos alternativos a la pasteurización. La caracterización del fruto se realizó evaluando parámetros químicos (carbohidratos, cenizas, fibra cruda, humedad, lípidos y proteínas), fisicoquímicos (acidez, pH, color y sólidos solubles totales) y nutrimentales (betalaínas, capacidad antioxidante, fenoles totales y vitamina C). Posteriormente se elaboró la bebida carbonatada evaluando dos tipos de edulcorantes (azúcar de caña a las concentraciones de 30, 40 y 50%, y miel de agave a 10, 20 y 30%) con una prueba sensorial con una escala hedónica. La bebida seleccionada fue sometida a los diferentes tratamientos alternativos a la pasteurización, como fue la ozonización a 3, 6 y 9 minutos y la sonicación durante 15, 25 y 35 minutos, la selección de la mejor alternativa se hizo evaluando parámetros microbiológicos (coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras), nutrimentales y fisicoquímicos. Por último, se llevó a cabo la determinación de la vida de anaquel de la bebida, esta se realizó con un estudio de vida acelerada bajo las condiciones de 1°, 15° y 25°C durante 28 días, donde se evaluaron parámetros microbiológicos, nutrimentales, fisicoquímicos y sensoriales (color, olor, sabor y textura). En la evaluación de edulcorantes la mejor formulación fue con 40% azúcar de caña, esta formulación brindó mejor sabor y textura. La sonicación durante 25 minutos logró disminuir la carga microbiana y preservó las mejores cualidades de la bebida como la capacidad antioxidante. En la vida útil, se obtuvo que al almacenar la bebida a 1°C prevalecen las propiedades sensoriales, fisicoquímicas y nutrimentales por más tiempo que a las otras temperaturas evaluadas. Se concluye que la bebida carbonatada es un producto viable para favorecer la comercialización y consumo del garambullo y a su vez ofrecer una alternativa de consumo más saludable que las bebidas carbonatas tradicionales.



# INTRODUCCIÓN

### 1. INTRODUCCIÓN

El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) es un cactus que crece en zonas áridas y semiáridas de México (García y Reynoso, 1998). Puede ser fácilmente propagada por semillas, la planta posee un fruto de baya redonda de color púrpura con un sabor dulce y agradable. Cabe mencionar que se localiza principalmente en los estados de Guanajuato, Querétaro, Hidalgo y San Luis Potosí (Monter, 2002). Es un fruto con alto contenido en proteínas, betalaínas, vitamina C y con una alta capacidad antioxidante, pero lamentablemente poco conocido e industrializado, con un consumo ya procesado de forma artesanal del 30% y con un consumo directo del 70%, dando como resultado pérdidas considerables debido a la falta de condiciones de almacenamiento postcosecha, ya que este fruto sufre una fermentación relativamente rápida (2 días en condiciones normales) (Topete, 2006). Este fruto además de consumirse de forma directa también es procesado de manera artesanal en mermeladas, refrescos y pasas.

Por otra parte, se sabe que México es líder latinoamericano en consumo de refrescos. A pesar que dichas bebidas incrementan el riesgo de padecer obesidad, diabetes mellitus, síndrome metabólico, algunos tipos de cáncer y osteoporosis (Silva y Duran, 2014). La industria refresquera aporta a la economía el 0.5% del Producto Interno Bruto (PIB) nacional y representa el 2.8% del PIB manufacturero (Secretaría de Economía, 2014). El promedio de consumo de bebidas carbonatadas alcanza los 163 litros por persona al año (Fundación UNAM, 2017). Durante la elaboración de las bebidas se deben someter a un proceso de desinfección que garantice su inocuidad, los tratamientos térmicos son los métodos más utilizados porque tienen la capacidad de destruir microorganismos e inactivar enzimas. El método más utilizado es la pasteurización por la capacidad que tiene de destruir microorganismos e inactivar enzimas, sin embargo, este método disminuye o elimina algunos de los nutrientes que el producto contiene al igual que interviene en las propiedades sensoriales (Villareal *et al.*, 2013). Para evitar este tipo de daños se desarrollaron las tecnologías emergentes, que son métodos no térmicos de conservación de alimentos, dos de estos métodos empleados son el ozono (O<sub>3</sub>) y la sonicación. La

sonicación es una de las tecnologías emergentes con más investigación y desarrollo para la conservación de alimentos, utilizada, principalmente para la disminución de la concentración de microorganismos y la inhibición de la actividad enzimática, sin alterar las propiedades físicas, químicas y nutricionales de los alimentos (Delgado, 2011). Por otro lado, la aplicación del ozono a concentraciones relativamente bajas y tiempos de contacto cortos, permite la inactivación de microorganismos, garantiza la calidad del producto e incrementa su resistencia al deterioro, debido a que el ozono es un fuerte agente antimicrobiano y su descomposición espontánea a oxígeno no genera productos tóxicos (Betaller-Venta *et al.*, 2010).

Debido a la problemática de consumo de gaseosas se decidió proponer la elaboración de una bebida carbonatada a base de garambullo como alternativa de consumo a las bebidas gaseosas tradicionales y para darle un uso tecnológico potencial a dicho fruto en donde no solo se beneficiará al consumidor por las propiedades del garambullo antes mencionadas, sino también se ayudará a aumentar la cantidad de plantas de esta especie debido al peligro que corre de extinguirse a causa de la tala inconsciente que el hombre ha dado (Pérez, 1999).

Por lo mencionado anteriormente se propone evaluar el efecto de dos métodos alternativos a los térmicos: la aplicación de tratamientos con ozono y sonicación a diferentes tiempos. Al utilizar estas alternativas se obtendrá un producto con mejores condiciones de calidad organoléptica al igual que se garantizará la inocuidad de dicho producto y a su vez obtener una mayor biodisponibilidad de los nutrientes en comparación con el método térmicos. Para conocer el tiempo que la bebida fue funcional se realizará la prueba de vida útil acelerada, que es el periodo en que un alimento mantiene sus características sensoriales y de seguridad aceptables para el consumidor, almacenado bajo condiciones óptimas establecidas (Anzueto, 2012).



# ANTECEDENTES

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Generalidades del garambullo

La diversidad vegetal de México es muy vasta, la familia *Cactaceae* destaca por su amplia representatividad y es considerada una de las más ricas dentro del reino vegetal. Hasta ahora se reconocen 63 géneros con 669 especies silvestres, de las cuales 51.8% son endémicas de México (Guzmán *et al.*, 2003).

Las cactáceas son uno de los grupos más amenazados del reino vegetal. Las poblaciones naturales de muchas de las especies han sido afectadas por las presiones del desarrollo humano, principalmente debido a la utilización del suelo para prácticas agrícolas y/o pecuarias, así como las actividades de extracción de plantas de su hábitat para su venta como plantas de ornato en mercados nacionales e internacionales (Hernández y Godínez, 1994).

El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*), es una cactácea arborescente que crece en zonas áridas de México, puede ser fácilmente propagada por semillas, la planta posee un fruto de baya redonda de color púrpura con un sabor dulce y agradable; dicho fruto tiene un alto contenido de proteínas, así como de betalaínas y un efecto antioxidante e hipoglucemiante (Topete, 2006).

En la actualidad el garambullo está amenazado ya que, de acuerdo al último registro de población, ha bajado el número de plantas visibles, debido al desarrollo urbano y al aprovechamiento agrícola de suelos poblamiento de ciertas zonas en donde crecen y que el ser humano desforesta para la construcción de viviendas, corraleras, caminos, carreteras, parcelas etcétera. También constituye un factor de riesgo para el garambullo el endemismo de su población, es decir, el hecho de tener una especie de planta o animal un área de distribución única y limitada. El endemismo, de las cactáceas en general y del garambullo en particular, se debe a que sus poblaciones sólo se encuentran en una determinada área geográfica bajo ciertas condiciones climáticas y de terreno (Sánchez *et al.*, 2016).

### 2.1.1. Taxonomía y morfología

Plantas (Reino *Plantae*)

Plantas Vasculares (Filo *Tracheophyta*)

Plantas con Flores (Subfilo *Angiospermae*)

Magnolias, Margaritas Y Parientes (*Dicotiledóneas*)( clase *Magnoliopsida*)

Cactos, Amarantos, Claveles Y Parientes (Orden *Caryophyllales*)

Cactos (Familia *Cactaceae*)

Biznagas, Órganos Y Parientes (Subfamilia *Cactoideae*)

Órganos o Cactos Columnares (Tribu *Pachycereae*)

Garambullos (Género *Myrtillocactus*)

Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) (Naturalista, 2018).

En la figura 1 se observa la planta de garambullo. Éste también recibe otros nombres como es en inglés; Blue Myrtle-cactus y en otomí; bastó (Naturalista, 2018).



**Figura 1.** Planta de garambullo.

Posee flores en la parte superior de las areolas, blancas pequeñas de 2.5 a 3.5 cm de ancho, varias en la misma areola. La floración del garambullo se lleva a cabo en la primavera, teniendo la planta un crecimiento lento, es susceptible al frío, ya que debido a éste su epidermis se deteriora, generándose manchas y suberaciones (Topete, 2006). En la figura 2 se observa la floración del garambullo.



**Figura 2.** Planta de garambullo en proceso de floración.

**Fuente:** Arredondo (2009).

Produce un fruto carnoso, color púrpura, pequeño de 1 a 2 cm de diámetro y sin espinas, maduros son consumidos en forma directa. Posee seis espinas en cada areola, cinco secundarias y una principal, en cada punto de fructificación se forman de 6 a 7 frutos, una planta puede alcanzar a producir de 25, 000 a 30, 000 frutos por temporada, en la figura 3 se observa la planta y fruto de garambullo (Topete, 2006).



**Figura 3.** (A) Planta de garambullo con frutos, (B) Frutos de garambullo.

### 2.1.2. Importancia económica

La producción de fruta de garambullo bajo condiciones silvestres es relativamente baja, inferior a 500 kilogramos/Hectárea, debido a la heterogeneidad de las poblaciones en lo que respecta a edad, vigor, sanidad y rendimiento por planta. De la producción total, sólo se cosecha entre el 35 y el 70 por ciento, debido a las diferencias en calidad, dificultad para cosechar los frutos localizados en la parte alta y en el centro de los árboles, y a la concentración del período de cosecha al iniciarse el verano (Sánchez *et al.*, 2016).

El garambullo se distribuye desde Tamaulipas hasta Oaxaca, abunda en los mezquiales del centro de México, llegando hasta Guerrero y el sur de Tamaulipas; por el oeste se extiende hasta Durango, Zacatecas, Jalisco y Michoacán (figura 4), siendo los estados productores principales: Querétaro, Hidalgo, Guanajuato y San Luis Potosí (Topete, 2006).



**Figura 4.** Localización de los principales estados productores de garambullo (Hidalgo, Querétaro, San Luis Potosí y Guanajuato).

**Fuente:** Elaborado a partir de la información de Topete (2006).

### 2.1.3. Industrialización (usos y productos)

La planta se utiliza como leña, cerca viva, para la construcción de viviendas y como planta ornamental (Casas y Valiente, 2001).

Las flores de esta especie se consumen “capeadas” y fritas como se puede observar en la figura 6. También se utiliza la planta como medicina al usar su tallo rebanado en té y tomado para aliviar la tos. Otro uso que se da a la especie es colocar sus tallos en forma de silo para almacenar rastrojos de maíz (Coronado y Vega, 1990).

El fruto es utilizado en la elaboración de helados, pasas, paletas, postres, dulces, mermeladas y vinos (Pérez, 1995), algunos de estos usos se muestran en la figura 5.



**Figura 5.** Usos de las flores y frutos de garambullo.  
**Fotos:** (A) Hernández (2017), (B) Nutrisalud (2018), (C) Sánchez (2018)

## 2.2. Bebidas

### 2.2.1. Definición de bebidas

La palabra bebida es una palabra de uso común que se refiere a todo tipo de líquidos (naturales o artificiales) que puedan ser utilizados para el consumo humano. Desde el agua potable hasta los productos líquidos más exóticos pueden ser considerados bebidas

siempre y cuando su consumo esté permitido para el hombre. Cuando se habla de bebidas se hace referencia principalmente a aquellos productos que suponen cierta elaboración como lo pueden ser las bebidas gaseosas, los jugos, las infusiones o las bebidas alcohólicas.

Sin embargo, como el agua potable también es consumida como bebida, la misma puede fácilmente entrar dentro de esta categoría (Bembibre, 2011).

El concepto de bebida se relaciona directamente con una de las necesidades primarias del ser humano que es el consumo constante de líquidos que le permitan reponer aquellos líquidos que utiliza en la realización de sus actividades diarias. Si bien el agua es la bebida recomendada por excelencia para cumplir tal función de reposición, desde siempre el ser humano ha creado diferentes tipos de bebidas más complejas que el agua cuyo objetivo principal era sumar gusto, placer o elementos visuales a la experiencia de beber (Bembibre, 2011).

**2.2.2. Clasificación de bebidas**

Las bebidas se clasifican acorde a dos criterios a saber en alcohólicas y no alcohólicas (tabla 1).

**Tabla 1.** Clasificación de bebidas

<b>Tipo de bebida</b>	
<b>Bebidas no alcohólicas</b>	Agua embotellada
	Bebidas refrescantes
	Carbonatadas
	Agua mineral
	Aromatizadas
	Bebidas estimulantes
	Zumos
<b>Bebidas alcohólicas</b>	Té
	Café
	Vinos
	Cervezas
	Destilados

**Fuente:** Jácome (2019).

### **2.2.3. Bebidas carbonatadas**

Toda bebida no alcohólica, no fermentada, elaborada por disolución de gas carbónico (CO<sub>2</sub>) en agua tratada, lista para el consumo humano directo, con adición o no de edulcorantes naturales, artificiales o ambos, jugos de frutas, concentrados de frutas y aditivos permitidos por la legislación nacional vigente o por el Codex Alimentarius (ICONTEC, 2009).

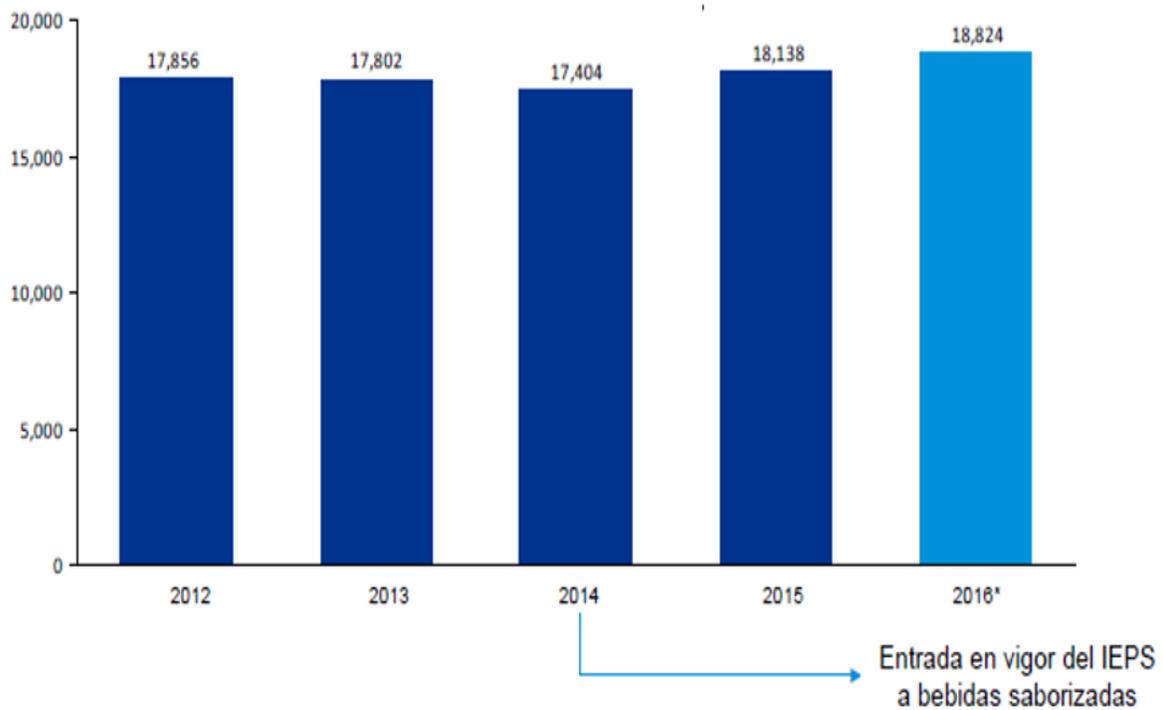
En México están reguladas por la Norma Oficial Mexicana NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba.

### **2.2.4. Importancia económica**

México se posiciona como uno de los mercados con mayor consumo en la industria de bebidas carbonatadas con un 15.6%, dentro del Continente Americano, de ahí se ha generado un continuo incremento en los últimos años. El consumo per cápita de bebidas carbonatadas es de 404 mL al día, 163 L por persona, mientras que el valor de la producción de dichas bebidas es de 214,400 millones de pesos aportados por la industria refresquera (ANPRAC, 2018).

De acuerdo con información publicada por la Asociación Nacional de Productores de Refrescos y Aguas Carbonatadas la industria refresquera aporta a la economía el 5% del Producto Interno Bruto (PIB) nacional y representa el 2.8% del PIB manufacturero (ANPRAC, 2018).

En la figura 6 se puede observar el consumo en millones de litros de refresco en México en los años que abarcan de 2012-2016:

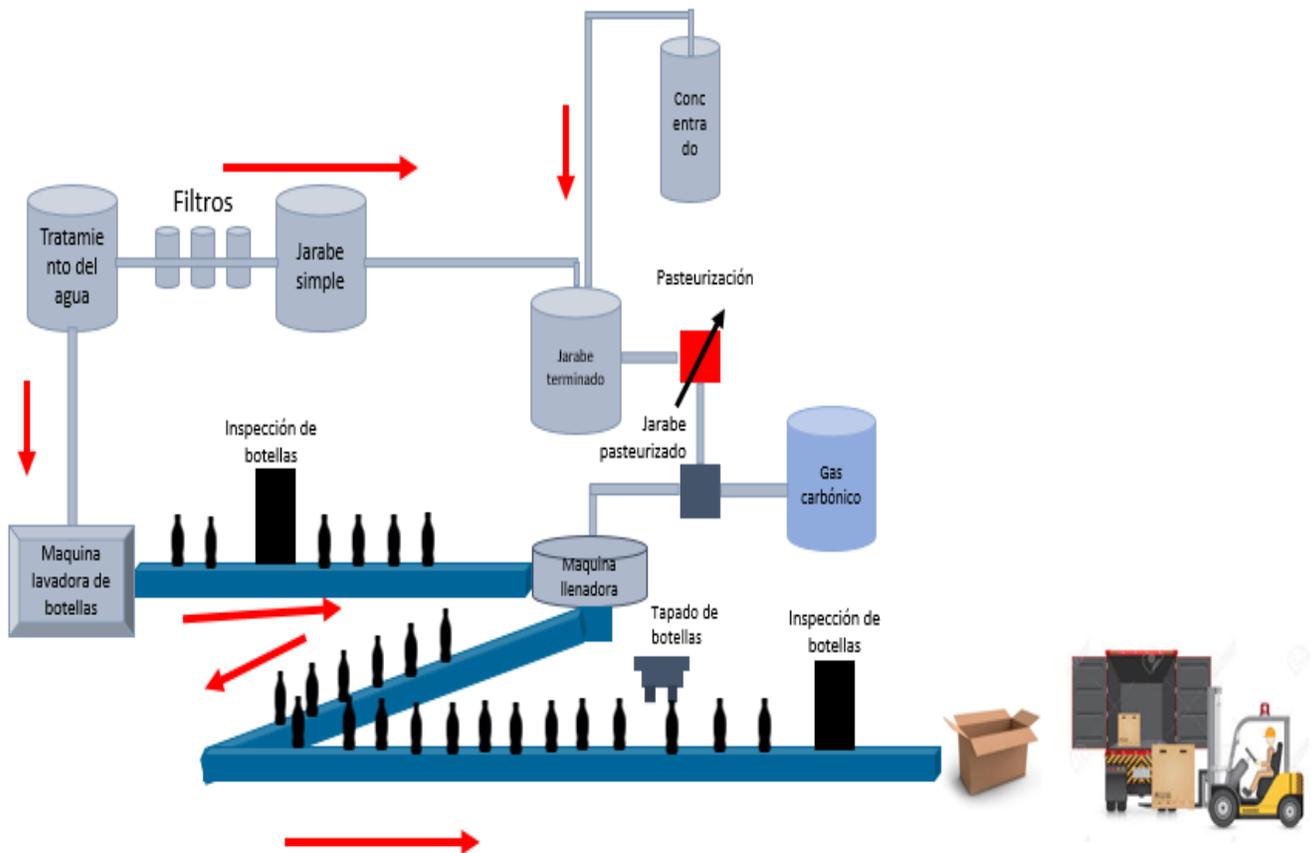


**Figura 6.** Gráfica de volumen (en millones de litros) anual de ventas de refresco en México (2012-2016).  
**Fuente:** KPMG (2017).

En los últimos años, la evolución del mercado de refrescos y bebidas embotellada en el país hacia el segmento de productos saludables y con menos contenido de azúcar representa una oportunidad de crecimiento para las empresas del sector (Secretaría de Economía, 2014).

### 2.2.5. Proceso de elaboración

El proceso de fabricación de las bebidas carbonatadas se puede observar en el diagrama de la figura 7.



**Figura 7.** Diagrama de elaboración de bebidas carbonatadas.

**Fuente:** Zavaleta (2017).

A continuación, se describe el diagrama de elaboración de bebidas carbonatadas:

**Tratamiento del agua:** Este tratamiento permite emplear para fines productivos fuentes hídricas que de otra manera no podrían usarse. Es posible efectuar el tratamiento en aguas primarias, en aguas de red y en aguas brutas. Integrando el tratamiento junto con la producción, se puede ahorrar en los costos de gestión de las instalaciones (A DUE, 2018).

**Elaboración del jarabe:** Primero se elabora el llamado “jarabe simple”, el cual consiste en la mezcla de azúcar con el agua tratada. Este proceso se efectúa en tanques de acero inoxidable (proceso tipo batch). El tanque se llena con agua y se lleva hasta una temperatura entre 80 a 90 °C, una vez alcanzada dicha temperatura se adiciona el azúcar. Este jarabe se

logra poniendo en marcha el agitador del tanque y agregando lentamente la cantidad de azúcar requerida para lograr la concentración deseada, que generalmente es entre 45 y 65 °Brix, pero depende de lo que indica la formulación de la bebida (Red Institucional de Tecnologías Limpias, s.f.). Luego, el jarabe simple pasa por un proceso de pasteurización y filtración, con el fin de eliminar cualquier impureza o contaminación microbiológica (A DUE, 2018).

**Pasteurización:** Es un tratamiento térmico relativamente suave (temperaturas generalmente inferiores a 100° C), que se utiliza para prolongar la vida útil de los alimentos durante un tiempo determinado. Este método que conserva los alimentos por inactivación de sus enzimas y destrucción de microorganismos relativamente termosensibles (bacterias no esporuladas levaduras y mohos), provoca cambios en el valor nutritivo y las características organolépticas del alimento en cuestión. La intensidad del tratamiento térmico y el grado de prolongación de su vida útil se hallan determinados principalmente por el pH del alimento. El objetivo principal en los alimentos de baja acidez (pH > 4.5) consiste en la destrucción de las bacterias patógenas, mientras que en los alimentos de pH interior a 4.5 suele ser más importante la destrucción de los microorganismos causantes de su alteración y la inactivación de sus enzimas (Fellows, 1994). Se utilizan tanto métodos discontinuos como continuos y puede tener lugar antes o después del envasado. En cualquier caso, el equipo y los aparatos son menos complejos que los necesarios para la esterilización, porque la pasteurización se lleva a cabo a la presión atmosférica (Fellows, 1994).

**Filtración:** Es un proceso mediante el cual, se separa un sólido del fluido en el cual se transporta. Esto se logra pasando el fluido a través de una membrana porosa. La membrana atrapa los sólidos y deja pasar el fluido, que puede ser líquido o gas (Foust *et al.*, 2006).

**Elaboración del jarabe terminado:** Una vez obtenido el jarabe simple y luego de filtrarlo, se procede a mezclar el resto de los ingredientes según la formula; es decir, el colorante, las esencias, saborizantes, acidulantes, etc. A este jarabe final se le denomina jarabe terminado (Red Institucional de Tecnologías Limpias, 2019).

**Carbonatación:** En este proceso el jarabe terminado se mezcla con agua tratada, hasta que la bebida tenga los °Brix que indica en la fórmula. Luego, la bebida pasa al carbonatador en donde se enfría para luego ser mezclada con CO<sub>2</sub>, esto se hace con el fin de aumentar la capacidad de la bebida para absorber el gas.

El proceso de carbonatación consiste básicamente en inyectar CO<sub>2</sub> en la bebida terminada. Para ello, se toma en consideración el efecto de la temperatura del líquido y de la presión de gas. Como se sabe, un líquido frío absorbe mayor cantidad de CO<sub>2</sub> que uno caliente; además, se satura a menor presión y, es más estable, por lo que disminuye las fugas de gas y formación de espuma en el llenado (Red Institucional de Tecnologías Limpias, 2019). La carbonatación obtenida depende de los siguientes factores

- Tiempo de contacto.
- Temperatura del líquido.
- Presión del gas.
- Composición del líquido.

**Invasado:** Una vez carbonatada la bebida, pasa a la llenadora, que es el equipo que recibe el envase lavado y estéril. Luego, al salir las botellas, se encuentran con la coronadora o encapsuladora que se encarga de tapar el producto. Este proceso es muy importante, ya que un mal tapado puede causar fugas; y, por otro lado, puede haber rotura del pico de una botella de vidrio si es que se encuentra muy apretado (Red Institucional de Tecnologías Limpias, 2019).

## **2.2.6. Edulcorantes**

### **2.2.6.1. Definición**

Los edulcorantes son sustancias que proveen un sabor dulce, los cuales pueden ser clasificados con base en el contenido nutritivo, pudiendo ser nutritivos o no nutritivos, o bien pueden clasificarse según su origen, en naturales o artificiales (De la Peña, 2010).

Dentro de los edulcorantes naturales destaca una alternativa deliciosa y que su vez aporta beneficios a la salud la cual es el jarabe o miel de agave.

### **2.2.6.2. Miel de agave**

Según la Norma Mexicana NMX-FF-110-SCFI-2008, el jarabe o miel de agave azul es la sustancia dulce natural producida por hidrólisis de sus fructanos y no debe contener aditivos alimentarios, almidones, melazas, glucosa, dextrinas, fructosa u otros azúcares de otro origen.

Tiene un poder endulzante del 30% mayor que el azúcar comercial y es utilizado, actualmente, como un edulcorante natural en alimentos y bebidas. Con bajo índice glucémico, reduce los lípidos en la sangre, el riesgo de enfermedades en el corazón y minimiza el efecto de la hipoglucemia (López 2013).

## **2.3. Tecnologías emergentes**

### **2.3.1. Definición**

Son métodos no térmicos de conservación de alimentos, siendo un proceso alternativo o complementario a los métodos tradicionales de conservación de alimentos. Estas nuevas tecnologías ofrecen alternativas en el procesamiento de alimentos (Trejo, 2010).

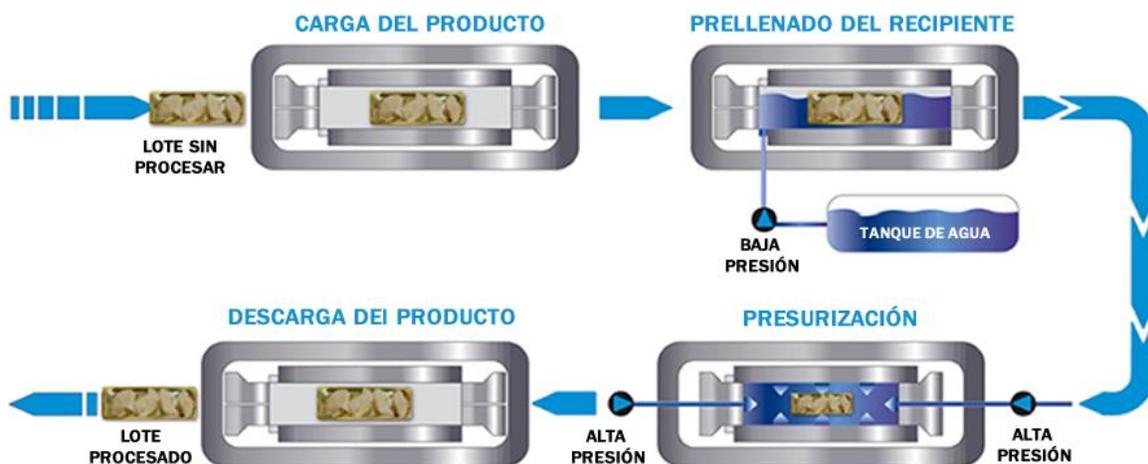
### **2.3.2. Tipos**

#### **2.3.2.1. Altas presiones hidrostáticas**

La alta presión hidrostática (APH), también denominada pascalización, presurización o simplemente alta presión, es una tecnología de gran interés en la industria de los alimentos debido a que es efectiva en la conservación de los mismos. El producto se somete a una elevada presión hidrostática (400-900 MPa o 4.0-9.0 atm), que va desde minutos hasta algunas horas. La APH provoca inactivación de las células microbianas sin alterar la calidad sensorial ni los nutrientes de los alimentos. En la figura 8 se puede observar el proceso de pasteurización con altas presiones. El efecto de la alta presión sobre la viabilidad de los microorganismos es una combinación de varias acciones (Téllez *et al.*, 2001):

- Cambios en la morfología de la célula, los cuales son reversibles a bajas presiones (300 MPa)

- Desnaturalización de proteínas a presiones altas debido al desdoblamiento de las cadenas peptídicas
- Modificaciones que afectan a la permeabilidad de la membrana celular



**Figura 8.** Proceso de pasteurización con altas presiones hidrostáticas tipo horizontal.

**Fuente:** Saavedra (2018).

El tratamiento evita la deformación de los alimentos, debido a que la presión se transmite uniforme e instantáneamente, es decir, no hay gradientes. A diferencia de lo que ocurre con los procesos térmicos, el tratamiento APH es independiente del volumen y de la forma de la muestra, con lo que se reduce el tiempo requerido para procesar grandes cantidades de alimento (Téllez *et al*, 2001).

No produce deterioro de nutrientes termolábiles como por ejemplo vitaminas (no destruye la vitamina C en los zumos, frente a los métodos tradicionales de pasterización).

No se altera el sabor natural, ni la coloración del alimento, pues las altas presiones no favorecen la reacción de Maillard o de pardeamiento no enzimático.

No produce residuos, se trata de una energía limpia, lo que iría en consonancia con las políticas medioambientales de la actualidad.

### 2.3.2.2. Campos eléctricos

Los fundamentos de esta técnica se basan en la propiedad que tienen los alimentos fluidos de ser muy buenos conductores eléctricos, debido a las altas concentraciones de iones que contienen y a su capacidad de transportar cargas eléctricas. El PEF se basa en colocar el producto entre un set de electrodos que envuelven una cámara de tratamiento, cuando se introduce el alimento se le suministran pulsos eléctricos de elevado voltaje como se muestra en la figura 9 (Pineda, 2019).

El tratamiento puede ser realizado a temperatura ambiente o de refrigeración y los tiempos de aplicación de las descargas se encuentran en el orden de los microsegundos. La fuerza del campo eléctrico depende de la diferencia de potencial de los electrodos los cuales se encuentran en el rango de 1-100kV/cm. El campo eléctrico es producido acumulando energía en un banco de condensadores y descargándolo súbitamente, con frecuencias entre 1-100Hz en uno de los electrodos, el segundo electrodo está conectado a tierra lo que garantiza la diferencia de potencial adecuada (Pineda, 2019).

El mecanismo de acción se basa en la destrucción de la pared celular cuando se aplica una intensidad de campo eléctrico, debido a la diferencia de potencial entre ambos lados de la membrana. Cuando esta diferencia de potencial (potencial transmembrana) alcanza un valor crítico se da la electroporación, formación de poros en la pared celular que trae como consecuencias pérdida de su integridad, incremento de la permeabilidad y destrucción de la célula (Pineda, 2019).

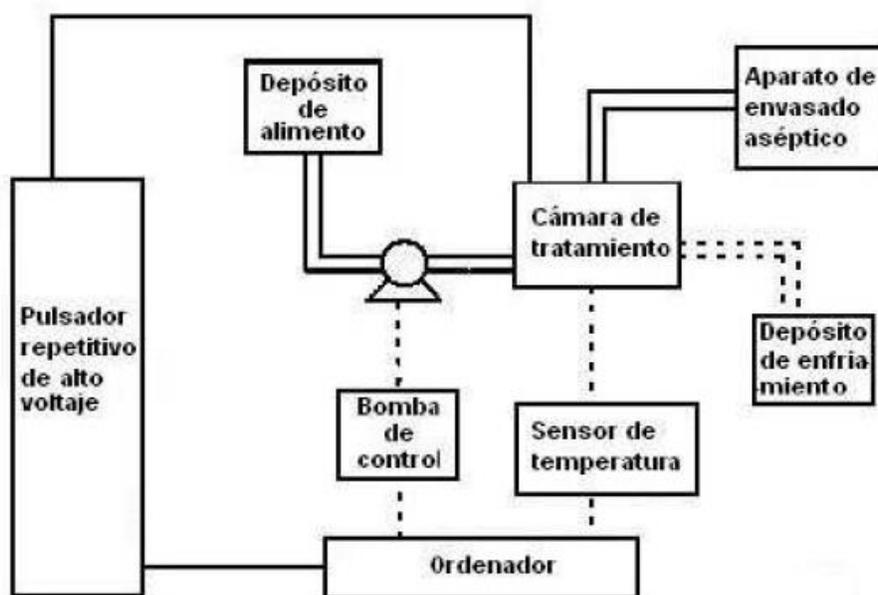
Los principales efectos observados sobre los alimentos son (Pineda, 2019):

- Electrólisis de sustancias, dependiendo de la composición de los alimentos y del material del electrodo.
- Calor producido por el efecto Joule, lo cual propicia la destrucción de los microorganismos.

Debido al tiempo utilizado en esta técnica estos efectos son mínimos, sin embargo, el diseño de los equipos utilizados está encaminado para evitar dichos efectos.

Entre las aplicaciones para las que ha sido estudiada esta técnica se encuentra (Pineda, 2019):

- Pasteurización de jugos de frutas y huevos líquidos.
- Mejoras de procesos de marinado y salazonado.
- Mejora de calidad de los mostos, al reducir el tiempo de maceración e incrementar el color de los vinos.
- Extracción de colorantes alimentarios.



**Figura 9.** Diagrama general de sistema de campos eléctricos.  
**Fuente:** Barbosa-Cánovas (1999).

### 2.3.2.3. Campos magnéticos

La conservación de alimentos con campos magnéticos supone el envasado de un alimento en una bolsa de plástico y someterle a 1-100 pulsos en un campo magnético oscilatorio con una frecuencia entre 5 y 500 kHz a 0- 50° C con un tiempo total de exposición en el rango entre 25  $\mu$ s a 10 ms (Corcuera, 2019).

Se puede aplicar en alimentos líquidos y sólidos. Actúa de manera que se genera una ruptura de la molécula de ADN y de ciertas proteínas. La rotura de enlaces covalentes en moléculas con dipolos magnéticos (Corcuera, 2019).

Puede aplicarse en la estimulación de microorganismos de interés y en la variación de algunas propiedades fisicoquímicas como son densidad y viscosidad. De esta forma puede obtenerse una calidad superior y mejorar algunas características tecnológicas como la clarificación. Esto permite aumentar rendimientos y disminuir costos de producción, sin grandes variaciones en las líneas tecnológicas (Barbosa- Cánovas *et al.*, 2000) (Polk *et al.*, 1990).

Tiene como principales ventajas (Corcuera, 2019):

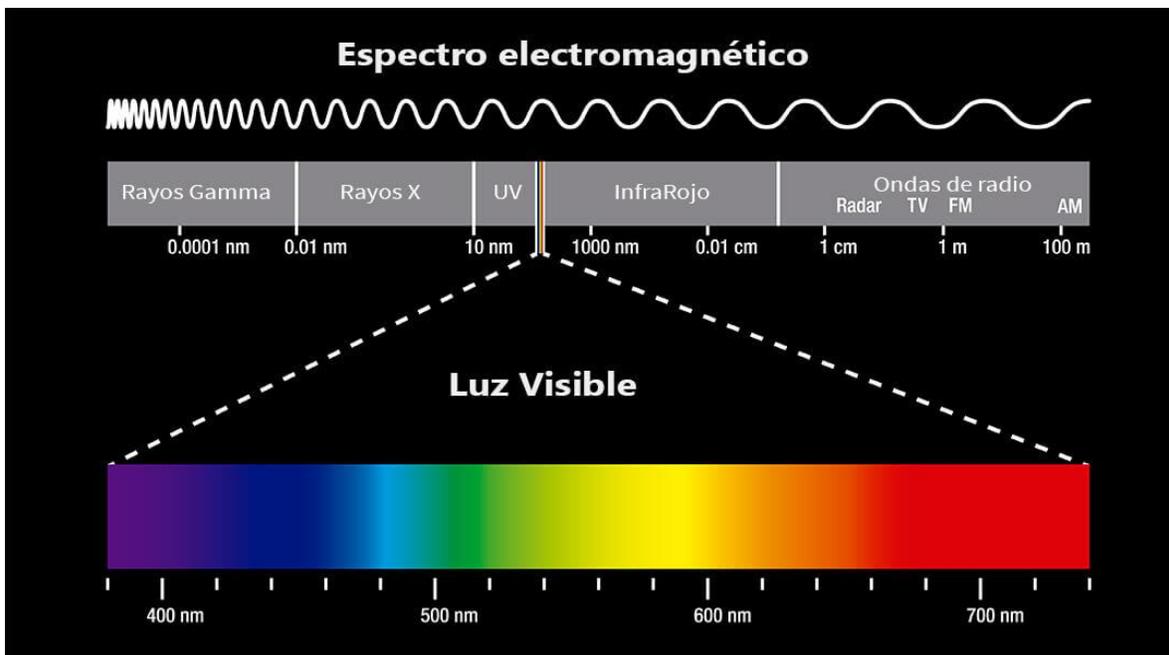
- Aplicable a alimentos envasados, inactivación de microorganismos, aplicable a la superficie e interior de alimentos sólidos, no hay pérdidas de nutrientes ni cambios sensoriales,
- Algunas de las limitaciones que presenta:
- Que es poco estudiado, desarrollo e implantación a largo plazo.

#### **2.3.2.4. Irradiación**

La irradiación de alimentos es un método físico de conservación que presenta interesantes beneficios pues prolonga el tiempo de comercialización de los productos y mejora la calidad higiénico-sanitaria de los mismos (Suárez, 2001).

La radiación se puede definir como la emisión y propagación de energía a través del espacio o de un medio material. Durante su investigación encaminada a descubrir procedimientos nuevos y más eficaces para conservar alimentos, los investigadores han prestado especial atención al posible empleo de radiaciones de distinta frecuencia, que se extienden desde la corriente eléctrica de baja frecuencia, hasta los rayos gamma de alta frecuencia. Muchas de estas investigaciones se han centrado en el empleo de los rayos ultravioleta, de las radiaciones ionizantes, y del calentamiento mediante microondas (Suárez, 2001).

En el espectro total de radiaciones electromagnéticas, se suelen distinguir dos clases distintas de las mismas, situadas una a cada lado del espectro visible. La radiación de baja frecuencia, de gran longitud de onda y de escasa energía cuántica, se extiende desde las ondas de radio hasta el espectro infrarrojo. El efecto de estas radiaciones sobre los microorganismos está relacionado tanto con su propia perturbación térmica como con la que experimenta el alimento. Por el contrario, las radiaciones de alta frecuencia y de longitud de onda más corta, poseen una gran cantidad de energía cuántica y, de hecho, excitan o, por el contrario, destruyen tanto los compuestos orgánicos (son capaces de romper las moléculas en iones, de aquí que se emplee el término de radiaciones ionizantes), como a los microorganismos, sin calentar el alimento. La destrucción de microorganismos sin producción de temperaturas elevadas sugirió el término de “esterilización fría”. En la figura 10 se puede observar el espectro electromagnético en donde se ubican las diferentes radiaciones (Suárez, 2001).



**Figura10.** Espectro electromagnético.

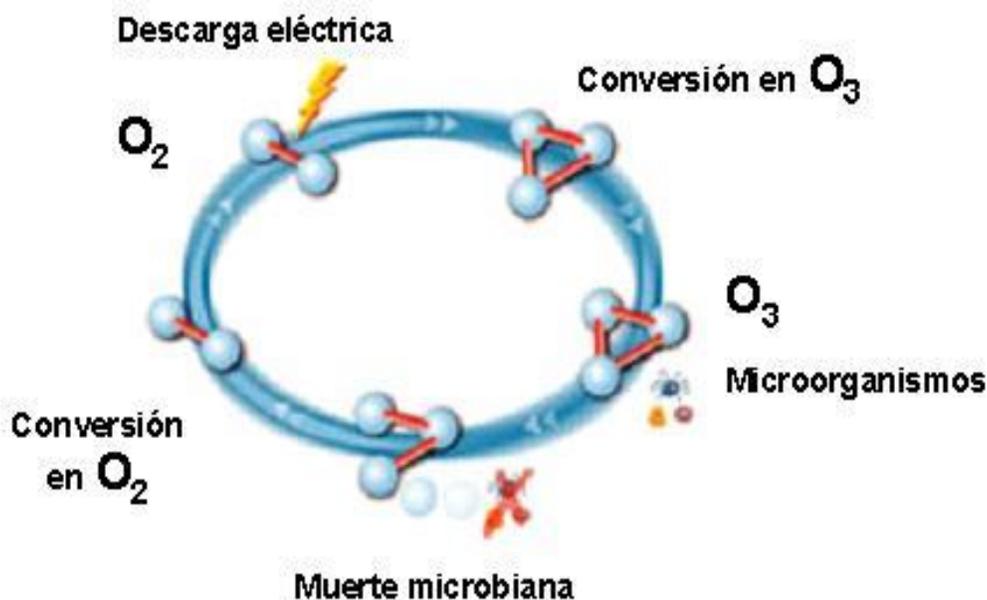
**Fuente:** Uzquiano (2017).

### 2.3.2.5. Ozono

El ozono es un potente oxidante y agente de desinfección. El tratamiento de ozonización se ha utilizado desde hace tiempo en algunos países europeos, sin embargo, es una tecnología de reciente utilización en países desarrollados como Estados Unidos. Se ha probado el efecto bactericida del ozono sobre una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como sus esporas y células vegetativas. La *Food and Drug Administration* (FDA) reconoce como procedimiento GRAS al uso de ozono en la producción de agua embotellada desde 1982. Además, tiene múltiples aplicaciones en la industria alimentaria como sanitizador de superficies y equipos y en el tratamiento de efluentes (Morata, 2010).

El ozono destruye los microorganismos por oxidación de componentes celulares vitales, el mecanismo de acción se muestra en la figura 11. El principal punto de ataque de un tratamiento por ozonización es la superficie celular. Se han descrito dos mecanismos de acción: el primero es la oxidación de grupos sulfhidrilos de aminoácidos de enzimas, péptidos y proteínas. El segundo es la oxidación de ácidos grasos poliinsaturados a peróxidos ácidos. La degradación por efecto del ozono de la envuelta celular de lípidos insaturados supone la rotura de la célula y la salida del contenido celular. Los dobles enlaces de los lípidos insaturados son especialmente sensibles al ataque del ozono. En las bacterias Gram negativas, las capas de lipoproteína y de lipopolisacáridos son los puntos de ataque iniciales del ozono lo que favorece un incremento en la permeabilidad y puede suponer la lisis celular (Morata, 2010).

La acción del cloro es más selectiva y actúa sobre ciertos sistemas enzimáticos intracelulares. El ozono, sin embargo, causa una intensa oxidación en proteínas celulares internas causando la rápida muerte de la célula. La muerte celular también puede deberse a la destrucción y daño de los ácidos nucleicos. La timina es más sensible a la oxidación que citosina o uracilo (Morata, 2010).



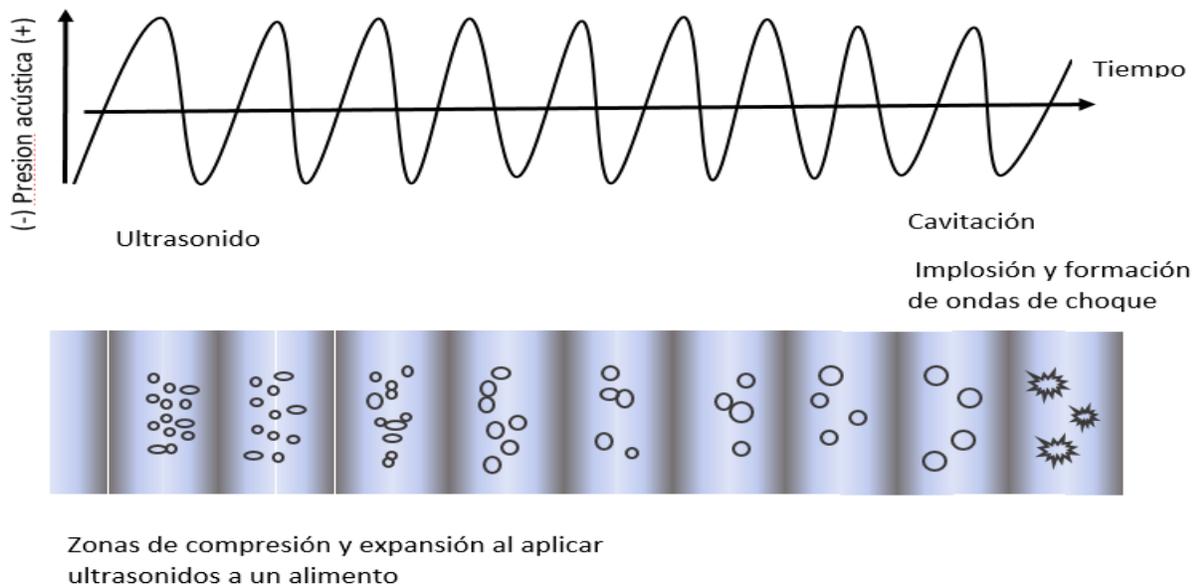
**Figura 11.** Acción del ozono sobre los microorganismos.  
Fuente: ecoWORLD (2019).

#### 2.3.2.6. Sonicación

El ultrasonido o sonicación es una tecnología que se basa en la aplicación de ondas sonoras con frecuencias superiores a las que puede percibir el oído humano (normalmente mayores a 16 kHz), la aplicación de ultrasonidos a medios líquidos se conoce como sonicación (Morata, 2010). El efecto antimicrobiano del ultrasonido está dado por las condiciones de alta temperatura y alta presión, creadas durante el proceso y atribuidas a la generación, crecimiento y colapso de burbujas o cavidades dentro del líquido. Este efecto es conocido como cavitación. Los cambios intensos de presión y temperatura causados durante la cavitación causan un rompimiento inducido de las paredes celulares y dañando el ADN de los microorganismos siendo atribuidos al desarrollo de radicales libres (Franco-Vega *et al.*, 2012).

El mecanismo de inactivación como se muestra en la figura 12, se lleva a cabo con la desconfiguración de membranas por presión/cavitación, las elevaciones de temperatura localizadas y la producción de radicales libres. En el proceso de sonicación se crean ondas

longitudinales cuando la onda sónica penetra en un medio líquido creando regiones alternas de compresión y expansión. Estas regiones producen cavitación y la forma de burbujas de gas en el medio. Las burbujas experimentan un gran incremento de área superficial en las zonas de expansión, difundiendo el gas e incrementando el tamaño de las burbujas. Esto sucede hasta que en un momento determinado la energía aplicada por los ultrasonidos no es suficiente para retener la fase de vapor en la burbuja y entonces se produce una rápida condensación, lo que favorece una colisión de moléculas y creando ondas de choque. Las ondas de choque elevan localmente mucho la temperatura y la presión pudiendo alcanzarse 5.5° C y 5MPa. Las ondas de presión causadas por estas implosiones constituyen el principal elemento microbicida de esta técnica. La cantidad de energía liberada por la cavitación depende de la cinética de crecimiento de las burbujas y de su colapso. Las elevaciones térmicas asociadas son menos efectivas probablemente por ser muy breve su duración. Los alimentos con alta tensión superficial, como los zumos de frutas, son excelentes candidatos para ser procesados por la tecnología ultrasónica (Piyasena *et al.*, 2003).



**Figura 12.** Efecto de la sonicación en un medio líquido. Expansión de las burbujas de gas hasta implosión con elevación de la temperatura y la presión.

**Fuente:** Piyasena *et al.* (2003).

### 2.3.3. Efectos físicos y nutricionales

- Ozono.

El ozono es un potente oxidante y su efecto puede ser significativo sobre moléculas fácilmente oxidables como pigmentos o volátiles aromáticos que son frecuentemente sensibles a procesos de oxidación. Por tanto, puede existir un deterioro en las características sensoriales de los alimentos. Sin embargo, en el tratamiento de lechuga troceada con agua ozonizada se ha observado que, pese a su fuerte capacidad antioxidante, no estimula la actividad respiratoria de la lechuga fresca cortada, además, ayuda a preservar la apariencia visual y a controlar el pardeamiento durante el almacenamiento al aire (Morata, 2010).

La utilización de soluciones ozonizadas, o bien, ozono gas, es un tratamiento superficial y que sea aplica normalmente a temperatura ambiente, por tanto, solo interacciona externamente con el alimento y no puede modificar características nutricionales como puede ser valor biológico de la proteína o contenido de vitaminas. En el tratamiento de lechuga precortada no se modifica de forma significativa (Morata, 2010).

- Sonicación

Puede afectar la textura en la boca por disgregación y reducción de tamaño en alimentos de constitución granulada. También por redisolución de componentes cristalizados. Se han observado modificaciones de color durante el procesado por termosonicación de zumos de frutas y hortalizas (Morata, 2010).

Se han realizado estudios sobre la aplicación de la sonicación al procesado de leche y zumo de naranja y se ha observado que, en general, la calidad nutritiva de estos alimentos no se ve significativamente afectada (Morata, 2010).



# OBJETIVOS

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo general.**

Desarrollar una bebida carbonatada a base de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) endulzada con dos tipos de edulcorantes (azúcar de caña y miel de agave), utilizando tratamientos de ozono y sonicación como métodos alternativos a los térmicos, para contribuir al aumento del consumo y comercialización del fruto.

#### **3.2. Objetivos particulares.**

##### **3.2.1. Objetivo particular 1.**

Caracterizar el fruto de garambullo mediante la evaluación de los parámetros químicos (carbohidratos, cenizas, fibra cruda, humedad, lípidos y proteínas), fisicoquímicos (acidez, color, pH y sólidos solubles) y nutrimentales (betalaínas, capacidad antioxidante, fenoles totales y vitamina C) para identificar su uso tecnológico potencial.

##### **3.2.2. Objetivo particular 2.**

Desarrollar una bebida carbonatada a base de garambullo, con dos edulcorantes (azúcar de caña 30, 40, 50% y miel agave 10, 20, 30%) y seleccionar el que presente mejores características sensoriales (olor, color, sabor y textura) de acuerdo con la aceptabilidad de los consumidores potenciales.

##### **3.2.3. Objetivo particular 3.**

Comparar el efecto que tiene el tratamiento térmico, con respecto a tratamientos no térmicos (ozonización y sonicación) mediante la evaluación de la carga microbiana (coliformes totales, mesófilos aerobios y mohos y levaduras), parámetros nutrimentales (fenoles totales y capacidad antioxidante), y fisicoquímicos (color), para seleccionar el método más efectivo que provoque una menor pérdida de nutrientes al producto y mayor inocuidad.

**3.2.4. Objetivo particular 4.**

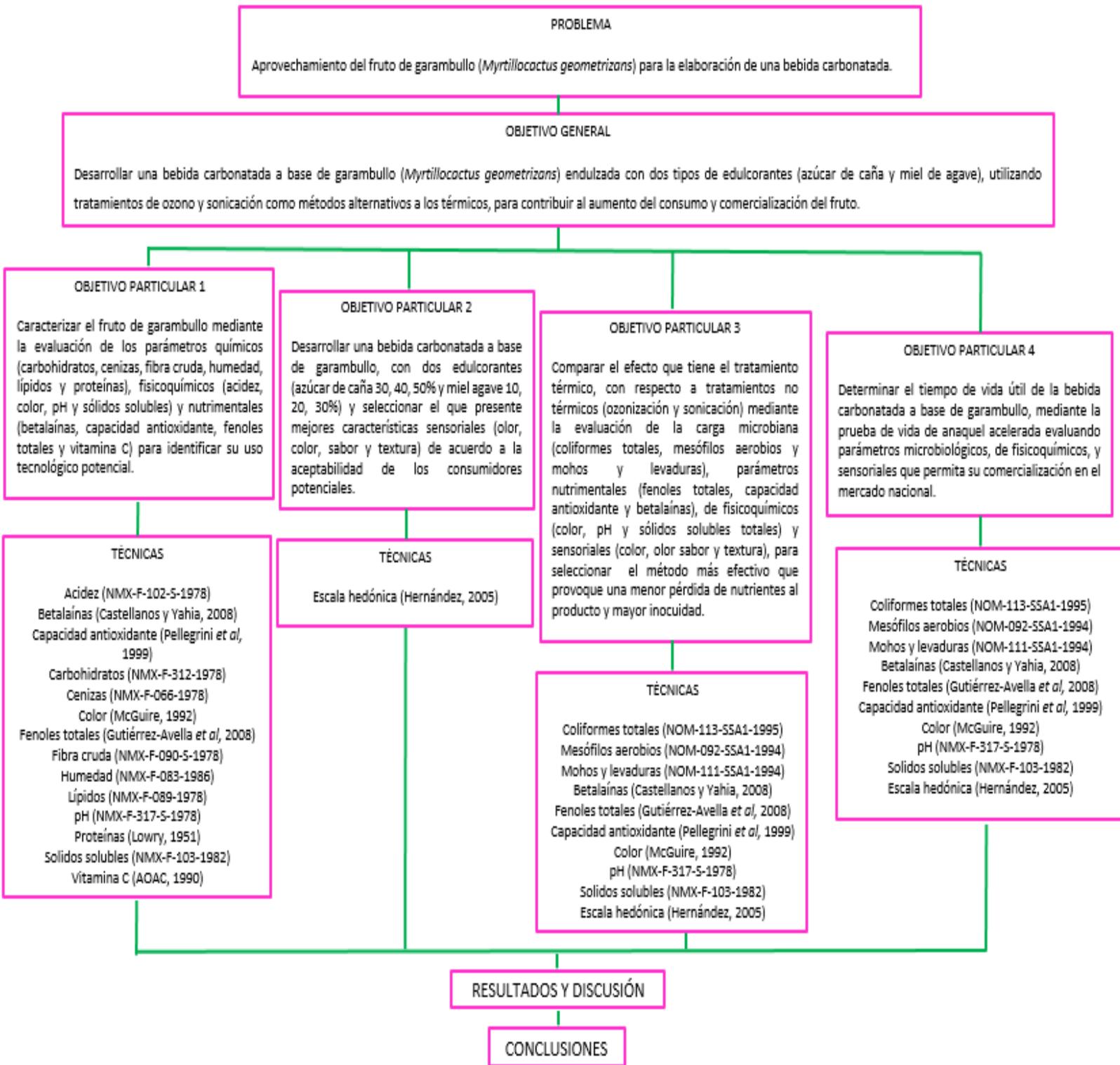
Determinar el tiempo de vida útil de la bebida carbonatada a base de garambullo, mediante la prueba de vida de anaquel acelerada evaluando parámetros microbiológicos, de fisicoquímicos, y sensoriales que permita su comercialización en el mercado nacional.



# MATERIALES Y MÉTODOS

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Cuadro metodológico



#### 4.2. Material biológico

En este trabajo se utilizaron frutos de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) de la región de Tolimán, Querétaro, en madurez fisiológica. Los frutos se lavaron, se colocaron en bolsas de polietileno y almacenaron en congelación a  $-25^{\circ}\text{C}$  hasta el día que se utilizaron para los análisis químicos y el desarrollo de las bebidas.

#### 4.3. Caracterización del fruto de garambullo

La caracterización del fruto se realizó mediante la evaluación de los parámetros químicos (carbohidratos, cenizas, fibra cruda, humedad, lípidos y proteínas), parámetros de calidad (color, pH, sólidos solubles) y nutrimentales (betalaínas, capacidad antioxidante, fenoles totales y vitamina C) descritos en el apartado 4.7., debido a que, al ser un fruto poco estudiado, se desconoce el contenido de sus compuestos.

#### 4.4. Desarrollo y selección de la bebida carbonatada

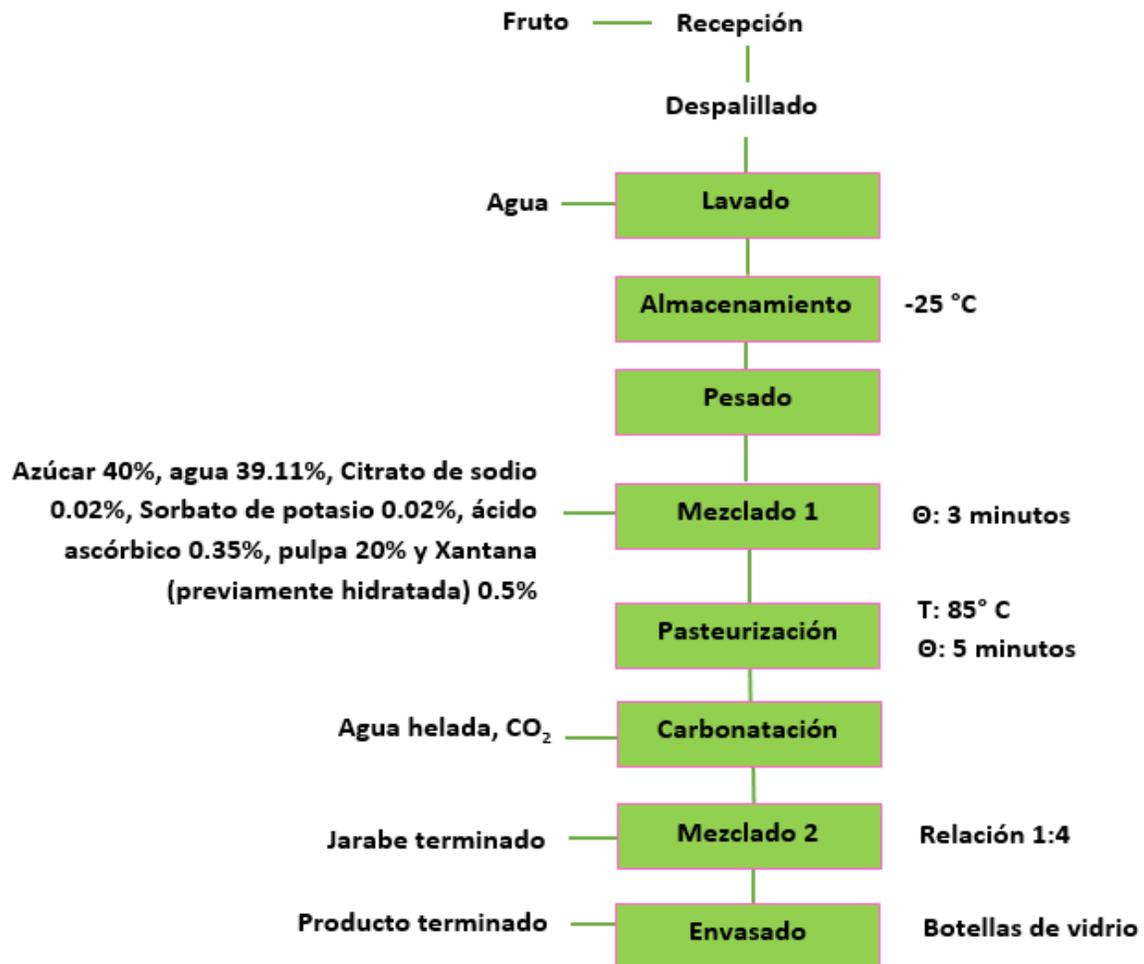
Para poder desarrollar la bebida se realizaron diferentes formulaciones tomando como base la formulación de Salinas, 2002., variando las concentraciones de edulcorante como se muestra en la tabla 2, miel de agave (10, 20 y 30%) y azúcar de caña (30, 40 y 50%), estas concentraciones se establecieron de esta manera debido a la miel de agave tiene un dulzor mayor (del 30%) que el azúcar de caña. En la figura 13 se observa el diagrama de proceso para la elaboración de la bebida.

**Tabla 2.** Formulaciones para la elaboración de la bebida carbonatada a diferentes concentraciones de edulcorantes.

Ingredientes	Azúcar de caña			Miel de agave		
	%			%		
Agua	49.11	39.11	29.11	69.11	59.11	49.11
Edulcorante	30	40	50	10	20	30
Pulpa de fruta (garambullo)	20	20	20	20	20	20
Xantana	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5

**Tabla 2.** Formulaciones para la elaboración de la bebida carbonatada a diferentes concentraciones de edulcorantes. (Continuación).

Ingredientes	Azúcar de caña			Miel de agave		
	%			%		
Ácido cítrico	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
Citrato de sodio	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
Sorbato de potasio	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02



**Figura 13.** Diagrama de proceso para la elaboración de la bebida carbonatada

**Recepción de la materia prima:** el garambullo se recibió para su posterior procesamiento.

**Despallado:** Se retiraron las partes de palitos que tenía el fruto de garambullo.

**Lavado:** un lavado se realizó con abundante agua a flujo medio, este se hizo con cuidado para no afectar al fruto.

**Almacenamiento:** el fruto se colocó en bolsas de polietileno en un congelador a una temperatura de -25° C.

**Pesado:** todos los ingredientes de la bebida se pesaron por separado de acuerdo con cada formulación.

**Mezclado 1:** en este primer mezclado se incorporaron todos los ingredientes en una licuadora durante 3 minutos.

**Pasteurización:** la mezcla obtenida en el punto anterior se colocó en un vaso de precipitados, con ayuda de un termoagitador se llevó una temperatura constante de 85° C durante 5 minutos.

**Tratamientos alternativos:** una vez seleccionada la mejor formulación se sometió a la bebida a los tratamientos de sonicación a 15, 25 y 35 minutos y ozonización a 3, 6 y 9 minutos.

**Carbonatación:** el agua se gasificó previamente tratada con un gasificador (marca SodaStream).

**Mezclado 2:** en este mezclado se realizó la incorporación del jarabe y el agua previamente tratada ya gasificada.

**Envasado:** la bebida carbonatada se envasó en botellas de vidrio previamente esterilizadas.

#### 4.4.1. Evaluación sensorial

Para la evaluación de las bebidas endulzadas con miel de agave y azúcar de caña se emplearon pruebas sensoriales en una escala hedónica de 7 puntos. Estas pruebas permiten la caracterización y análisis de aceptación o rechazo de un alimento por parte del catador o consumidor, de acuerdo con las sensaciones experimentadas desde el mismo momento que lo observa y después que lo consume (Hernández, 2005).

En este punto se evaluaron los parámetros cualitativos de la bebida carbonatada de garambullo (color, olor, sabor, textura y general) con una escala predeterminada siguiendo

un formato como se muestra en la figura 14. La evaluación se realizó por 70 panelistas estudiantes de la UNAM Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1.

NOMBRE: \_\_\_\_\_  
 FECHA: \_\_\_\_\_

**INSTRUCCIONES**

Frente a usted se presentan tres muestras de bebida carbonatada de garambullo. Por favor observe y pruebe cada una de ellas, yendo de izquierda a derecha. Indique el grado en el que le gusta o le disgusta cada atributo de cada muestra, de acuerdo al puntaje/categoría, escribiendo el número correspondiente en la línea del código de la muestra.

Nota: recuerde tomar agua y comer una pequeña galleta entre cada muestra.

Puntaje	Categoría	Puntaje	Categoría
1	Me disgusta muchísimo	5	Me gusta
2	Me disgusta mucho	6	Me gusta mucho
3	Me disgusta	7	Me gusta muchísimo
4	Me es indiferente		

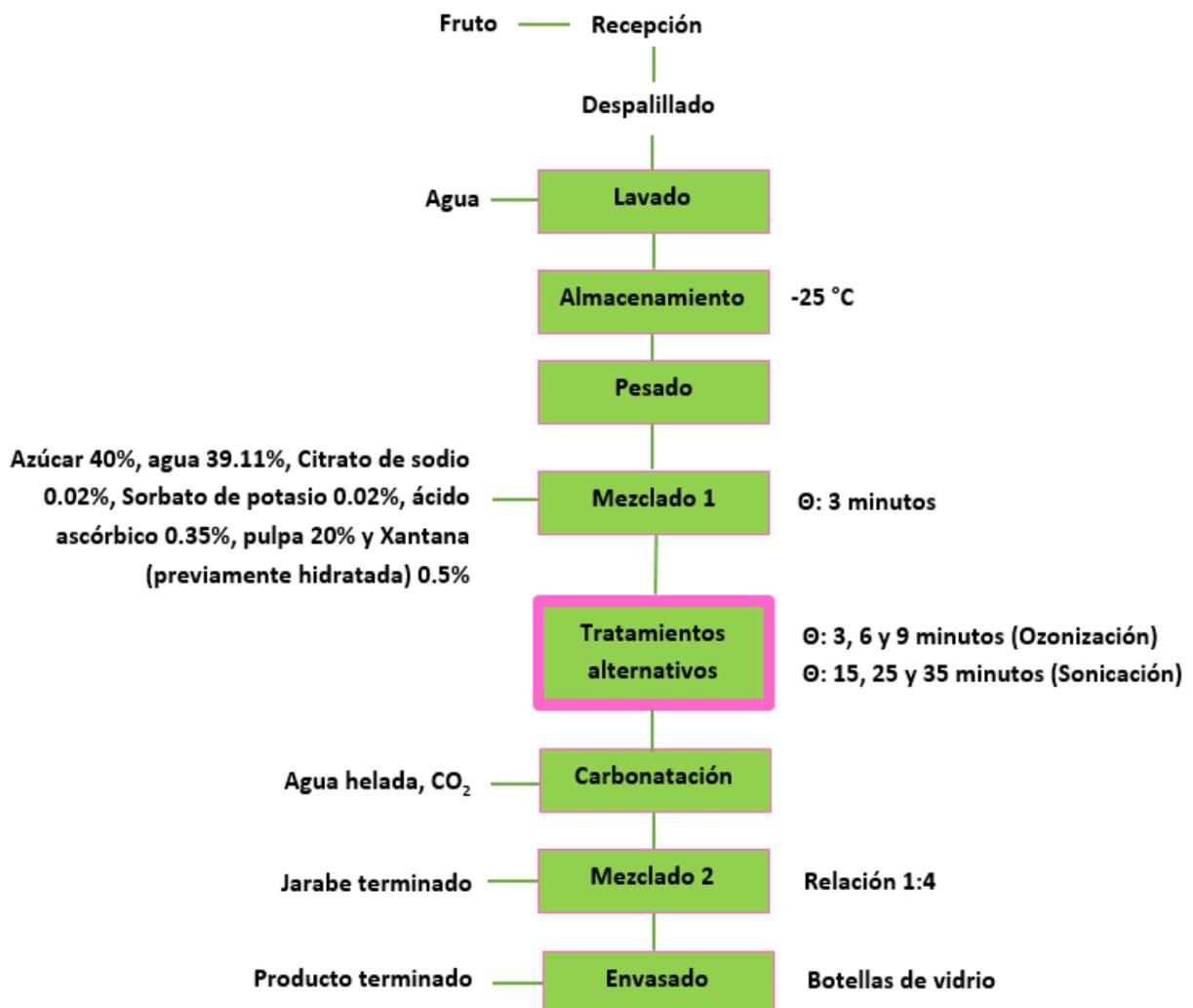
Código	Calificación para cada atributo				
	Color	Olor	Sabor	Textura	General

**¡GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!**

**Figura 14.** Formato de análisis sensorial

**4.5. Evaluación del efecto de los tratamientos térmicos y no térmicos para la pasteurización de la bebida de garambullo.**

Una vez realizada la prueba sensorial y analizados los resultados se eligió la bebida que más agrado a los panelistas, esta bebida se sometió a los tratamientos alternativos a la pasteurización, de ozonización y sonicación como se muestra en la figura 15, con la finalidad de mantener las propiedades sensoriales y nutrimentales de la bebida que se ven afectadas durante la pasteurización y a su vez asegurando la inocuidad del producto.



**Figura 15.** Diagrama de proceso para la elaboración de la bebida carbonatada (con tratamientos alternativos a la pasteurización).

#### **4.5.1. Ozonización**

Para el tratamiento de ozonificación se utilizó un potabilizador de agua (Biozo<sup>3</sup>n 2000) con una producción de ozono por burbujeo 180 mg/h, de esta manera se lograron purificar 3L de agua en 3 minutos en donde primero se colocó el equivalente de la bebida con el agua siguiendo una relación 1:4. La aplicación de este método se realizó por a tres tiempos diferentes de 3, 6 y 9 minutos.

#### **4.5.2. Sonicación**

Para aplicar el método de sonicación, se utilizó un baño sónico Cole-Parmer (modelo 8891) con una potencia de 42kHz en donde se colocaron dos vasos de precipitados de vidrio de 400 mL con el agua o jarabe a una temperatura de 30° C en 15, 25 y 35 minutos.

### **4.6. Evaluación de la vida útil de la bebida carbonatada**

Una prueba de vida de anaquel acelerada se realizó para establecer el tiempo de vida de anaquel del producto. Esta prueba consiste en almacenar el alimento a diferentes temperaturas y bajo condiciones controladas. Para llevar a cabo dicha prueba fue necesario someter la bebida carbonatada a tres temperaturas diferentes (1, 15 y 25°C) durante 28 días, haciendo un muestreo cada 4 días comenzando desde el día 0, evaluando parámetros sensoriales (olor, color, sabor y textura), nutrimentales (betalaínas, fenoles totales y capacidad antioxidante), fisicoquímicos (acidez, color, pH y sólidos solubles) y microbiológicos (coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras). La descripción de la metodología se explica en el apartado 4.7 de las Técnicas analíticas.

#### **4.6.1. Cinética de deterioro de los atributos de la bebida carbonatada**

La cinética de degradación o deterioro de los atributos de la bebida carbonatada se llevó a cabo en función del tiempo, graficando en el eje “y” el tiempo y en el eje “x” el parámetro evaluado, estas gráficas se realizaron para cada parámetro evaluado a cada temperatura siguiendo el modelo matemático descrito en la ecuación (a) para las reacciones de orden

cero (velocidad de reacción constante) y el modelo de la ecuación (b) para las reacciones de orden uno (velocidad de reacción dependiente de la concentración).

$$\frac{dA}{dt} = -k \quad (a)$$

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

Integrando las ecuaciones anteriores y reacomodando, se tiene la ecuación de la línea recta con pendiente k; siendo k la constante específica de reacción y cuyo valor depende de la temperatura, donde  $A_0$  es la intersección con el eje y.

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

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

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

$$Vector = b - m.t \quad (c)$$

Dónde:

Vector= (A), b= ordenada al origen, m= k o (Ea/R), t= tiempo de vida útil (1/T).

La ecuación anterior obedece al modelo de Arrhenius, el cual describe la relación de la constante de velocidad de reacción con la temperatura según la ecuación (d).

$$k = Ae^{\left(\frac{-Ea}{RT}\right)} \quad (d)$$

Al aplicar logaritmos a ambos lados de la ecuación (d) se obtiene la ecuación de una línea recta donde  $m$  es  $\frac{Ea}{R}$ ,  $x$  es  $1/T$  y  $b$  es el  $\ln A$ , tal como expresa la ecuación (e), el término  $Ea$  puede evaluarse para conocer el valor de la energía de activación.

$$\ln k = \ln A - \frac{Ea}{R} \cdot \frac{1}{T} \quad (e)$$

Para determinar  $Ea$  (J/mol) se despeja el término de la ecuación de la pendiente para obtener el valor de la energía de activación, como se muestra en la ecuación (f), donde  $R$  es la constante de los gases con un valor de 8.31 J/mol.K.

$$Ea = m \times R \quad (f)$$

La vida útil se obtiene en días en donde se despeja  $t$  de la ecuación (c) resultando la ecuación (g) donde  $[A]$  es el vector, es decir un valor de referencia (límite máximo) del parámetro que se está evaluando o el valor del dato crudo obtenido en el día máximo de la vida acelerada.

$$t_{vida} = \frac{[A] - b}{-m} \quad (g)$$

Después se graficó el logaritmo de la vida útil a las temperaturas de estudio en °C, con la ecuación de la recta obtenida del gráfico se puede estimar la vida útil del producto para las diferentes temperaturas de almacenamiento, como se muestra en la siguiente ecuación (h):

$$\text{Log vida útil} = b - m.T \quad (h)$$

Y despejando la ecuación (h) se obtiene la ecuación (i) donde T está en °C.

$$\text{Vida útil} = 10^{(b-m.T)} \quad (i)$$

Con los datos obtenidos de vida útil se obtiene el valor de  $Q_{10}$  experimental como lo establece la ecuación (j), la cual describe la influencia de la temperatura sobre la aceleración de la reacción de deterioro del producto.

$$Q_{10} = \frac{\phi S(T)}{Q_s(T \pm 10)} \quad (j)$$

Donde  $Q_{10}$  es el factor de aceleración (adimensional) y  $\phi_s$  es el tiempo de vida útil a una temperatura determinada.

## **4.7. Técnicas analíticas**

### **4.7.1. Parámetros químicos**

#### **4.7.1.1. Azúcares reductores totales**

Para la determinación de estos compuestos se utilizó el método volumétrico de Lane-Eynon que se basa en la determinación del volumen de una disolución de la muestra, que se requiere para reducir completamente el volumen conocido del reactivo alcalino de cobre. El punto final se determina por el uso de un indicador interno, azul de metileno, el cual es reducido a blanco de metileno por un exceso de azúcar reductor (NMX-F-312-1978).

Se colocaron 10 g de muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se añadieron y agitaron 100 mL de agua. Se agregaron de 2 a 10 mL de disolución saturada de acetato neutro de plomo, se agito y dejo sedimentar.

Enseguida se añadió poco a poco oxalato de potasio hasta la total precipitación del acetato de plomo. El filtrado fue recolectado en un matraz volumétrico de 250 mL, se lavó tres veces el matraz Erlenmeyer y filtro con 20 mL de agua y esta fue recibida en un matraz volumétrico. Posteriormente, se añadieron 10 mL de HCl concentrado al matraz volumétrico que contenía el filtrado obtenido, este fue calentado a 65° C durante 15 minutos, se enfrió y neutralizó con hidróxido de sodio 1N, aforando el volumen con agua. Este se colocó en una bureta y tituló. Los resultados se expresan en % de azúcares reductores totales.

#### **4.7.1.2. Cenizas**

Para determinar las cenizas se utilizó el método gravimétrico, incinerando la materia orgánica a 550° C. Los resultados se expresaron en % de cenizas (NMX-F-066-1978).

Los crisoles se llevaron previamente a peso constante y fueron colocados 2 gramos de la muestra del fruto de garambullo fresco, enseguida el crisol se puso a incinerar en un mechero y se quemó lentamente la muestra hasta que ya no desprendiera humos, de esta manera para evitar las perdidas fuera del crisol. Después se colocó el crisol en una mufla

(Arsa AR 340) para efectuar la calcinación completa, asimismo se dejó enfriar en el desecador por 30 minutos y peso en la balanza analítica (OHAUS Pioneer PA214).

#### **4.7.1.3. Fibra cruda**

La fibra es obtenida por la digestión ácida y alcalina de la muestra obteniéndose un residuo de fibra cruda, fue determinado según lo descrito en la norma (NMX-F-090-S-1978).

Se tomaron 2 g de muestra y agregaron 200 mL de ácido sulfúrico 0.255 N llevándolo a ebullición, la mezcla fue filtrada con papel filtro y se lavó con agua caliente hasta que llego a pH 7, después el residuo del papel filtro fue colocado en un matraz y se le añadió 200 mL de hidróxido sodio 0.313 N, calentó hasta ebullición y se volvió a filtrar la mezcla en un papel filtro el cual fue llevado a peso constante, después se realizó un segundo lavado con agua caliente hasta llegar a un pH 7. Por último, el papel filtro fue incinerado y se llevó a peso constante. La cantidad de fibra fue obtenida al calcular la diferencia de pesos. Los resultados fueron expresados en porcentaje de fibra cruda/100 g.

#### **4.7.1.4. Humedad**

La humedad se realizó como lo describe la NMX-F-083-1986 en donde se pesaron 2 g de la muestra y se colocaron en charolas de aluminio llevadas previamente a peso constante, se metieron a la estufa a 90° C en intervalos de 2 horas. Enseguida las charolas fueron transferidas a un desecador, se dejó enfriar por 30 minutos y se procedió a pesar. Este procedimiento se repitió hasta obtener el peso constante. El resultado fue expresado en % de humedad.

#### **4.7.1.5. Lípidos**

Los lípidos se evaluaron mediante el método de Soxhlet en donde se utiliza un sistema de extracción cíclica de los compuestos solubles en éter que se encuentran en el alimento como lo describe la NMX-F-089-S-1978.

Se pesaron 2 g de la muestra la cual fue transferida a un cartucho; este se cubrió con algodón. El cartucho se colocó dentro del extractor Soxhlet, en la parte inferior se colocaron

los matraces bola llevados previamente a peso constante. Después fueron añadidos 80 mL de éter por el extremo superior del refrigerante. La extracción se realizó durante 4 horas, para corroborar que la muestra había sido extraída en su totalidad fue realizada la prueba de la gota de éter. Los resultados se obtuvieron en % de extracto etéreo.

#### **4.7.1.6. Proteínas**

Las proteínas se determinaron por el método de Lowry (1951), es un método colorimétrico de valoración cuantitativa de las proteínas. Donde las proteínas reaccionan con el cobre en solución alcalina y mediante la reducción del reactivo Folin-Ciocalteu a heteropolibdeno azul por la oxidación de aminoácidos aromáticos que es catalizado por el cobre. Primero fueron extraídas las proteínas de la muestra del fruto de garambullo, con ayuda de buffer fosfatos pH 7.5, enseguida se centrifugo a 3000 rpm por 30 minutos en una centrifuga digital (Diagger 4350), después fue recuperado el sobrenadante el cual se mezcló con la solución de Folin-Ciocalteu. La cuantificación de resultados se realizó con la curva patrón de la solución estándar de albumina sérica bovina, al igual que la curva las muestras fueron leídas a una longitud de onda de 750 nm en un espectrofotómetro (Velab UV-visible, VE-5100UV). Los resultados fueron reportados en porcentaje de proteína/100 g muestra.

#### **4.7.2. Parámetros de calidad**

##### **4.7.2.1. Acidez**

La acidez se determinó volumétricamente por medio de una titulación acido-base con una solución de NaOH 0.1N y fenolftaleína al 1% como indicador, registrando el volumen gastado para neutralizar el ácido. Los resultados se expresaron como gramos de ácido cítrico/100 mL de muestra (NMX-F-102-S-1978).

##### **4.7.2.2. Color**

Este parámetro se obtuvo por medio de un colorímetro (Konica Minolta CR-410C) en las coordenadas rectangulares \*L, \*a y \*b por el sistema Hunter Lab, obteniendo a partir de estos valores el croma y el tono. Para realizar la medición se maceraron los frutos de

garambullo, se colocaron en una caja petri, la lectura se realizó en 10 puntos distintos de la caja (McGuire, 1992).

#### **4.7.2.3. pH**

La determinación de pH se realizó por medio de un potenciómetro digital (Hanna Hi- 98130). Este fue calibrado antes de realizar las mediciones con soluciones buffer de 4 y 7. Se colocaron 40 mL de la muestra de garambullo en un vaso de precipitados, la lectura se obtiene al sumergir el potenciómetro, el valor de la muestra se lee directamente en la escala del potenciómetro (NMX-F-317-S, 1978).

#### **4.7.2.4. Sólidos solubles**

Para la determinación de los sólidos solubles se utilizó un refractómetro digital (Atago PAL-03S). Para calibrarlo se colocaron algunas gotas de agua destilada en el lente del instrumento, se limpió el lente con un pañuelo y se colocó la muestra obteniendo los resultados directamente en °Brix (NMX-F-103, 1982).

### **4.7.3. Parámetros nutrimentales**

#### **4.7.3.1. Betalaínas**

El contenido de las betalaínas se cuantificó según lo descrito por Castellanos-Santiago y Yahia (2008), mediante la absorbancia de los extractos de betalaínas a 535 nm en un espectrofotómetro (Velab UV-visible, VE-5100UV); ya que las betalaínas poseen en su estructura un cromóforo (ácido betalámico), centro absorbente no saturado, que permite el estudio de éstos pigmentos por absorbancia en el espectro UV-Vis. En donde primero se obtuvo un extracto de la muestra con metanol al 80%, llevándolo a sonicación en un baño sónico (Cole-Parmer 8891) por 10 minutos previo a su agitación por 20 minutos en un agitador horizontal a temperatura ambiente y en obscuridad. Las muestras se centrifugaron a 2200 rpm por 10 minutos en una centrifuga (Biomedica-Lab T620). El sobrenadante se guardó y el residuo se sometió a la metodología descrita antes. Ambos sobrenadantes se juntaron y se llevaron a concentración en sequedad en un rotavapor (DLAB-RE100-Pro) a 65° C. Los resultados se expresaron en mg/100 g de muestra

#### 4.7.3.2. Capacidad antioxidante

Esta técnica se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical catiónico ABTS es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 415 o 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin -6- sulfonato de amonio) con persulfato de potasio. Las mediciones se realizan a una longitud de onda de 734 nm (Pellegrini *et al.*, 1999).

Para la preparación de la solución de ABTS se diluyeron 2mL de ABTS concentrado en 200 mL de buffer fosfatos 0.01M pH 7.4. Se preparó una solución madre de Trolox 4mM, a partir de esta a diferentes concentraciones se realizó una curva patrón con metanol 80% y solución de ABTS midiendo los puntos en intervalos de 7 minutos. Para la lectura de las muestras se agregaron tanto el metanol al 80% como el ABTS sustituyendo el Trolox por el extracto de la muestra. Todas las lecturas se llevaron a cabo en un espectrofotómetro (Velab UV-visible, VE-5100UV) con absorbancia de 734 nm. Los resultados fueron expresados en  $\mu$ moles equivalentes a Trolox/g de fruto fresco.

#### 4.7.3.3. Fenoles totales

La técnica de Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Basándose en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles (García *et al.*, 2015).

Los extractos se elaboraron mediante la adición metanol al 80% a 200 mg de muestra, centrifugando a 10000 rpm durante 15 minutos en una centrifuga digital (Diagger 4350),

fue realizada una segunda centrifugación, al sobrenadante se le agregaron 500  $\mu\text{L}$  de metanol al 100%. Se realizó una curva patrón utilizando ácido gálico, agua destilada, Folin-Ciocalteu y  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , se leyó en un espectrofotómetro (Velab UV-visible, VE-5100UV) con una absorbancia de 765 nm. Una vez realizada la curva se realizó la lectura de las muestras y los resultados fueron expresados en mg equivalentes de Acido Gálico/100g muestra (Gutiérrez-Avella *et al.*, 2008).

#### **4.7.3.4. Vitamina C**

La vitamina C se determina por el método volumétrico que se fundamenta en que la vitamina C tiene la propiedad altamente reductora de decolorar el indofenol (2,6 dicloro fenol indofenol) colorante azul y la cantidad decolorada es proporcional a la cantidad de vitamina C presente en el alimento. El método volumétrico se utilizó como lo establece el AOAC (1990), en donde el ácido ascórbico presente en la muestra es neutralizado por medio de una titulación. Primero se pesaron 1.25 g de fruto de garambullo a esto se le agregaron 25 mL de ácido acético al 5% (todos los recipientes donde se colocó la muestra fueron cubiertos con papel aluminio), enseguida la muestra fue filtrada y aforada con agua a 25 mL, se colocó la solución de indofenol en la bureta, agregaron 10 mL de la muestra en un matraz y se tituló hasta obtener un color rosa persistente. En este caso como la muestra de garambullo presentaba una coloración rosa intensa dada de manera natural fue necesario decolorar la muestra agregando carbón activado, una vez que la muestra ya contenía el carbón activado se filtró para que no quedara ningún residuo de este y llevo a cabo la metodología descrita anteriormente. El contenido se expresó en mg de ácido ascórbico/100 g de muestra.

#### **4.7.4. Parámetros microbiológicos**

Para verificar que los tratamientos de pasteurización, así como los alternativos aplicados a la bebida tuvieron un efecto sobre esta se realizaron pruebas de coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras.

#### **4.7.4.1. Coliformes totales**

Para determinar el número de microorganismos coliformes totales presentes en la muestra se utiliza como medio selectivo el agar de bilis y rojo violeta. Según la NOM-113-SSA1-1995, estas bacterias crecen a 35° C y el conteo se realizó a las 24 horas.

#### **4.7.4.2. Mesófilos aerobios**

El método se lleva a cabo en agar nutritivo como medio selectivo, consiste en contar las colonias que se desarrollan después de 48 horas de haber sido incubadas a 35° C como lo describe la NOM-092-SSA1-1994.

#### **4.7.4.3. Mohos y levaduras**

Para este método se utilizó agar dextrosa y papa como medio selectivo, se incubó la muestra a 25° C y el conteo se llevó a cabo una vez transcurridos 3-5 días como lo establece la NOM-111-SSA1-1994.

A todas las bebidas sometidas a los diferentes tiempos en cada uno de los tratamientos alternativos, se evaluaron parámetros nutrimentales como capacidad antioxidante y fenoles totales, al igual que el color, como se describe en los apartados anteriores.

#### **4.7.5. Análisis estadístico**

En el objetivo 2 se realizó un diseño completamente aleatorizado donde se evaluó el factor de edulcorante en dos niveles (x y y) a los que se les realizó un análisis estadístico ANOVA de un solo factor con pruebas de rango múltiple (Tuckey y Duncan) con un nivel de significancia de 0.05, este análisis se realizó con el programa estadístico IBM SPSS versión 24.

A las bebidas elaboradas con diferentes concentraciones de edulcorantes se le aplicaron técnicas analíticas evaluando parámetros de calidad como acidez, color, pH y sólidos solubles al igual que se evaluaron los parámetros nutrimentales de capacidad antioxidante y fenoles totales, las técnicas se realizaron como se explica en los apartados anteriores.

En el objetivo 3 también se realizó un diseño completamente aleatorizado en el cual se evaluó el factor tratamiento no térmico en dos niveles, aplicando de igual manera que en el objetivo 2 antes mencionado.



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Caracterización del fruto de garambullo

El garambullo es un fruto que se asocia con los “berries” o frutos menores, en este grupo están la fresa, frambuesa, zarzamora, arándano, uva, entre otros, los cuales han sido ampliamente caracterizados, excluyendo al fruto de garambullo (Vázquez-Cruz *et al.*, 2018).

La razón por la que se realizó la caracterización del fruto de garambullo fue por la poca o nula información bibliográfica que hay sobre los compuestos de este fruto. Topete (2006) señala que el garambullo es rico en proteínas, así como betalaínas y efecto antioxidante e hipoglucemiante. Por lo tanto, es considerable realizar un estudio más detallado de este fruto incluyendo parámetros químicos, fisicoquímicos y nutrimentales, de esta manera se amplía la información y también se corrobora con los datos bibliográficos encontrados en estudios realizados al garambullo.

Entre los distintos componentes de los alimentos, después del agua, los carbohidratos son las sustancias más abundantes y más ampliamente distribuidas en la naturaleza, en las frutas y hortalizas los carbohidratos cumplen funciones estructurales y energéticas, constituyendo algunos la estructura rígida o mecánica de los tejidos vegetales, este compuesto es utilizado como la principal fuente de energía para el ser humano (Castaño, 2019).

La cantidad de agua es importante en la composición de los frutos, generalmente se encuentra por encima del 90% dicho compuesto favorece a que las enzimas y ácidos nucleicos se vuelvan activos una vez que adquieren sus estructuras, también es un factor fundamental para indicar frescura (Badui, 2006), motivo por el cual la determinación de este componente es elemental en el análisis del fruto de garambullo.

De igual manera el contenido de cenizas se considera significativo en este análisis ya que estas representan el contenido en minerales del alimento, en general, las cenizas constituyen menos del 5% de la materia de los alimentos (Márquez, 2014).

La fibra cruda también juega un papel importante en el contenido del fruto, ya que ésta contribuye a mantener limpio y sano el intestino, pues favorece al tránsito intestinal y evita

el estreñimiento y la acumulación de toxinas en el organismo (QuimiNet, 2007). Por ello también se realizó la cuantificación de la fibra cruda en el fruto de garambullo.

Topete (2006) menciona que el garambullo cuenta con un alto contenido de proteínas, es bien sabido que las proteínas son el principal componente de las células, la musculatura y otros tejidos, las proteínas vegetales son importantes debido a que son más digeribles y con menos calorías que las proteínas de origen animal, por tal razón se analizó este compuesto para conocer el contenido exacto de proteínas en el garambullo (Herrero, 2019).

Los lípidos desempeñan muchas funciones en los tejidos, además son la fuente energética más importante, ya que cada gramo genera 9 kcal, mucho más que las proteínas y los carbohidratos (Badui, 2006), por lo tanto, conocer el porcentaje de lípidos presentes en el fruto de garambullo resulta interesante.

En seguida se muestra la tabla 3, en donde se encuentran los resultados obtenidos de los parámetros químicos evaluados.

**Tabla 3.** Parámetros químicos del fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*).

Componente	%
<b>Carbohidratos</b>	18.66 ± 0.64
<b>Cenizas</b>	2.02 ± 0.22
<b>Fibra cruda</b>	3.77 ± 0.37
<b>Humedad</b>	72.39 ± 0.76
<b>Lípidos</b>	0.37 ± 0.016
<b>Proteínas</b>	3.49 ± 0.054

Se realizaron cinco repeticiones por parámetros

Conforme a los resultados presentados en la tabla 3, se puede observar que el porcentaje de carbohidratos es considerablemente alto comparado con la tuna roja que presenta un valor del 12.97% (Zenteno-Ramírez *et al.*, 2015), esto se atribuye a que el fruto de garambullo se encontraba en un estado de madurez avanzado, lo cual hace que el porcentaje de azúcares se incremente.

Por otra parte, las cenizas presentaron un valor más alto que el reportado por Durán (2009), el cual es de 1.18% para fruto de gámbullo en estado de madurez similar al estudiado en este proyecto, indicando que el gámbullo de este estudio cuenta con una concentración más elevada de minerales y a su vez se concuerda con lo explicado por la literatura según Márquez (2014) donde se menciona que el porcentaje de cenizas en los alimentos es menor del 5%.

El contenido de fibra cruda difiere del dato bibliográfico citado por Durán (2009), quien obtuvo un 16.44%, quedando por debajo el dato experimental, esta reducción se atribuye a que el fruto fue recolectado en una sola región del país, mientras que el reportado en la literatura fue recolectado en diversas zonas de México, lo cual favorece a que haya una mayor concentración de compuestos debido a los diferentes tipos de suelos.

Con respecto al contenido de humedad, se observó que dicho contenido se encuentra muy cercano al dato bibliográfico referido por Durán (2009) en donde se reporta un valor de 75%, estos datos son muy similares ya que ambos estudios se hicieron con frutos de gámbullo frescos, almacenado en condiciones similares por ello no hubo una diferencia considerable.

Durán (2009) reportó un contenido de lípidos del 0.4507%, este porcentaje es muy cercano al que se obtuvo de manera experimental, en este caso el contar con un valor mínimo de lípidos resulta favorable para el consumidor, además de recordar que las grasas más dañinas son las de origen animal y no las vegetales.

Por último, en este análisis de los parámetros químicos, el valor obtenido de las proteínas se encontró mayor en el estudio experimental que lo reportado en la literatura por Durán (2009), cuyo valor es del 1.36%, esto favorece a nuestro análisis, ya que al contar con un porcentaje más alto de proteína se puede decir que el gámbullo es de los pocos frutos que cuentan con este componente en mayor proporción como lo que menciona Topete (2006).

Las comparaciones de los datos anteriores difieren debido a que se sabe que los frutos presentan variaciones en su contenido y composición química y que está relacionado, con la variedad, grado de madurez, además que se ve afectado por la ubicación geográfica donde se producen (Guevara, *et al.*, 2014; Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010).

Mediante el análisis químico se determinan los componentes de los alimentos, pero es necesario conocer los parámetros fisicoquímicos, ya que estos nos dan datos sobre la calidad del alimento (Schwab *et al.*, 2013). Con estos se buscan manejos adecuados que garanticen la calidad y los requisitos de comercialización, teniendo en cuenta los cambios fisicoquímicos que se presentan durante los estados de madurez, que dependen de diversos factores como luz, temperatura, humedad, fertilidad del suelo, entre otros (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010). Además, factores físicos como el color y su uniformidad son parámetros que definen directamente la calidad de los frutos, debido a que se considera que interfiere con características como el sabor.

La acidez en los frutos resulta muy importante de analizar, debido a que los ácidos presentes como son principalmente el cítrico, málico y tartárico, influyen en el sabor, el color, la estabilidad microbiana y en la calidad de conservación (Domene y Segura, 2014), por ello se realizó el análisis de este parámetro para conocer el porcentaje de acidez presente en el fruto de garambullo.

A su vez el pH es otro parámetro relevante ya que nos define el tipo de proceso de conservación requerido para un alimento, además el pH de un alimento determinara que tipo de microorganismos son capaces de crecer en él, un ejemplo es el valor de 4.6, en el cual impide el crecimiento de *Clostridium botulinum*. Un valor de pH entre 2.5 y 5.5 prolonga la conservación de la fruta fresca e inhibe la reproducción de microorganismos (Odar, 2008). Para conocer el valor real de pH del garambullo se hizo una medición de este factor.

También es de suma relevancia analizar el color debido a que es la primera sensación que percibimos de los alimentos, se considera que es el primer atributo que determina la aceptabilidad y preferencias del consumidor, es necesario evaluarlo ya que una apariencia natural tiene mayor aceptabilidad mientras que un color extraño suele ser interpretado en

términos de deterioro, falta de madurez o manipulación inadecuada de frutos (Moreno-Arribas, 2019), motivo por el cual se evaluó este parámetro.

Por lo que se refiere a los sólidos solubles, se sabe que son un importante parámetro para determinar la calidad de las frutas, ya que este permite determinar con exactitud el extracto total que contiene en °Brix, es decir la concentración aproximada de sacarosa que hay en una solución (Domene y Segura, 2014).

A continuación, se presenta la tabla 4, en donde se colocan los valores obtenidos durante la experimentación para los parámetros fisicoquímicos del fruto de garambullo.

**Tabla 4.** Parámetros fisicoquímicos del fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*).

Parámetro	Porcentaje
Acidez (% Ac. Cítrico)	0.034 ± 0.013
pH	5.63 ± 0.028
Color	21.16 ± 0.50
Sólidos solubles totales (°Brix)	3.32 ± 0.14

Se realizaron cinco repeticiones por parámetro

De acuerdo con los resultados plasmados en la tabla 4 se observa que la acidez del fruto de garambullo se encuentra en un intervalo aceptable comparando este valor con el de la tuna roja que es de  $0.036 \pm 0.005$  % de ácido cítrico (Ochoa y Guerrero, 2012), se hizo esta comparación debido a que no existe algún dato bibliográfico del garambullo con respecto a este parámetro y también porque la tuna roja posee propiedades similares a las del fruto de garambullo como es el caso de los antioxidantes, ácido ascórbico, compuestos fenólicos y pigmentos betalaínicos (Tesoriere *et al.*, 2005).

Enseguida se encuentra el valor del pH, el cual indica que el fruto de garambullo se acerca más hacia la parte neutra de la escala de pH, este dato lo comparamos con el establecido por Durán (2009) en donde el valor de pH es de 3.60 siendo más ácido que el dato experimental, esto se atribuye a la región donde fue recolectado el fruto, ya que las condiciones del suelo son diferentes en cada región (FAO,2000).

Con respecto al dato de color, en este se reportó la luminosidad que es el grado de claridad u oscuridad de un color, la luminosidad de un color genera una escala cromática de valor que termina en el blanco. Por otro lado, cada color tiene una luminosidad propia, por ejemplo, el azul tiene una luminosidad más baja que el amarillo, el rojo tiene más luminosidad que el violeta, etc., (Cabrera, 2011), también se sabe que el color es uno de los principales parámetros de calidad de las frutas puesto que es la característica externa más importante en la determinación del punto de madurez y de la vida poscosecha (Torres *et al.*, 2013), en este caso se obtuvo una luminosidad que tiende hacia la parte más oscura dentro de la escala de color, esto se genera debido a que el fruto de garambullo tiene una coloración purpura intensa una vez que alcanza su estado de madurez óptimo como fue el que se utilizó en este proyecto.

Los sólidos solubles totales indican que el fruto de garambullo tiene un contenido menor de sacarosa con respecto a otros frutos como es el caso de la tuna roja la cual tiene un contenido de 13.8 °Brix (Carrasco y Encina, 2008). La cantidad de azúcar en la fruta es esencial ya sea para consumo en fresco mejorando su sabor, como para la elaboración de ciertos productos ya que las normativas exigen que se mantenga un contenido de sólidos de azúcar determinado (Arvensis, 2014). Por lo tanto, al ser un fruto con un contenido de sólidos solubles bajo se considera ideal para su transformación en diversos productos y a su vez se confirma lo descrito por Topete (2006), donde se habla que el garambullo es un excelente hipoglucemiante.

Por último, se realizó la evaluación de los parámetros nutrimentales del fruto de garambullo para de esta manera tener un análisis más completo de dicho fruto.

Estudios revelan que los frutos de garambullo son ricos en fitoquímicos tales como compuestos fenólicos, vitamina C y betalaínas, los cuales le confieren al fruto buenas propiedades funcionales (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010). Por tal motivo se decidió evaluar el contenido de las betalaínas presentes en el fruto, las betalaínas son pigmentos nitrogenados solubles en agua que imparten colores que van de amarillo a rojo, a los

alimentos y que a su vez funcionan como potentes antioxidantes (González-Ortiz y Guerrero Beltrán, 2018).

Otro compuesto importante a evaluar es la capacidad antioxidante que tiene el fruto, debido a que los antioxidantes pueden neutralizar el exceso de radicales libres durante la actividad oxidativa, propia del organismo (Coronado *et al.*, 2015), según Núñez (2011), el consumo de frutos con alto contenido antioxidante previene enfermedades cardiovasculares, gástricas, respiratorias, neurológicas, del sistema endocrino y el cáncer, por esta razón se hizo la determinación de la capacidad antioxidante para conocer el contenido exacto de ésta y darle una mayor relevancia a dicho fruto y de esta manera aumentar su consumo.

Así mismo el estudio de los compuestos fenólicos resulta relevante debido a que se consideran importantes antioxidantes naturales en los alimentos, estos son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las frutas y vegetales, juegan un papel importante al momento de preparar productos con alto contenido fenólico puesto que supone una reducción en utilización de aditivos antioxidantes (Porras y López, 2009).

Y por último se hizo la determinación de la vitamina C también conocida como ácido ascórbico, que es un nutriente hidrosoluble que actúa en el cuerpo como antioxidante, al ayudar a proteger las células contra los daños causados por los radicales libres, además el cuerpo necesita vitamina C para producir colágeno y esta vitamina también contribuye al buen funcionamiento del sistema inmunitario para proteger al cuerpo de enfermedades (National Institutes of Health, 2016), por tal razón es considerable realizar la determinación de este compuesto.

En la tabla 5 se muestran los resultados que se obtuvieron por las diferentes determinaciones para cada uno de los componentes nutrimentales del fruto de garambullo.

**Tabla 5.** Parámetros nutrimentales del fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*).

<b>Componente</b>	
<b>Betalainas</b> (mg/g de muestra)	25.12 ± 1.8
<b>Capacidad antioxidante</b> (µm Trolox/g fruto fresco)	42.43 ± 0.89
<b>Fenoles totales</b> (mg Ac. Gálico/g muestra)	45.8 ± 1.76
<b>Vitamina C</b> (mg Ac. Ascórbico/g muestra)	35.65 ± 0.29

Se realizaron tres repeticiones por parámetros

Los compuestos presentados en la Tabla 5 tienen en común su poder antioxidante cuando son consumidos, estos son favorecidos o afectados por diversos factores tanto del medio como el estado de madurez de fruto (López-Palestina *et al.*, 2019). El contenido de betalaínas es un poco más bajo que los demás compuestos nutrimentales, estos compuestos se incrementan con el estado de madurez del fruto ya que son los encargados de darle la coloración purpura característica, este valor se le atribuye a que las betalaínas son compuestos inestables que presentan una degradación en corto tiempo (Moreno *et al.*, 2002).

En cuanto a la capacidad antioxidante y fenoles totales se observa que los resultados se encuentran en valores muy cercanos entre sí, esto debido a que a mayor concentración de fenoles la actividad antioxidante del fruto va en aumento, según Herrera-Hernández *et al.* (2011), mencionan que el contenido de polifenoles se puede ver afectado por los cambios internos del fruto durante el proceso de maduración que promueve la polifenoloxidasas y otras enzimas catabólicas, también menciona que aunque haya una disminución de compuestos fenólicos durante la maduración del fruto de garambullo este sigue siendo una excelente fuente de estos compuestos comparado con frutos como las fresas, frambuesas, ciruela, uva y arándanos.

Para el caso de la vitamina C, se puede observar un contenido de este compuesto más alto que en otros frutos como es el caso de la tuna roja con un 22.75% (Carrasco y Encina, 2008).

De acuerdo a García-Gabarra (2006) la ingesta diaria de vitamina C en adultos es de 60 mg por día, por lo que un consumo de 100g de frutos de garambullo en estado maduro pueden contribuir con un 54.35% de la ingesta diaria recomendada (López-Palestina *et al.*, 2019).

La elevada capacidad antioxidante que presenta el fruto es dada gracias a la concentración de compuestos bioactivos, por esta razón se recomienda ampliamente el consumo de frutos de garambullo.

### **5.2. Desarrollo y selección de la bebida carbonatada**

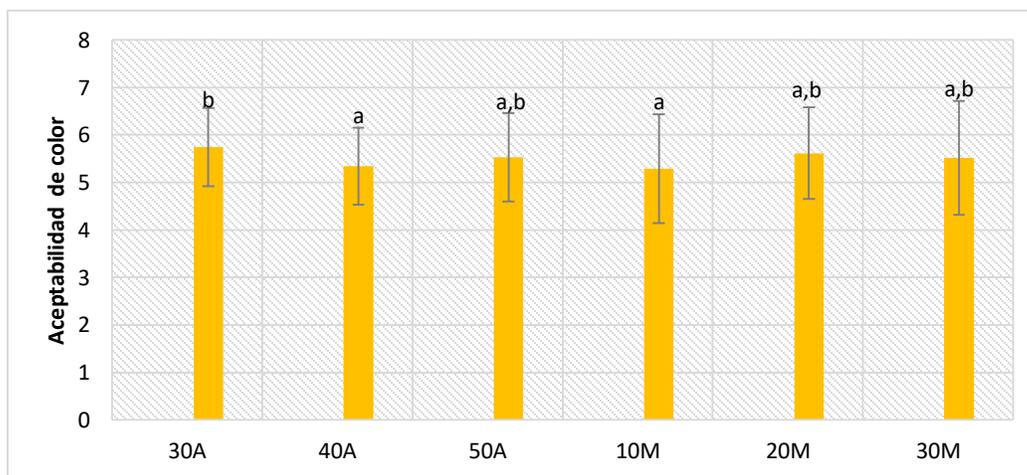
#### **5.2.1. Evaluación sensorial**

La evaluación sensorial surge como disciplina para medir la calidad de los alimentos, conocer la opinión y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor. Además, la evaluación sensorial no solamente se tiene en cuenta para el mejoramiento y optimización de los productos alimenticios existentes, sino también para la realizar investigaciones en la elaboración e innovación de nuevos productos (Hernández, 2005). Los alimentos se pueden evaluar mediante pruebas específicas desarrolladas para conocer grado de aceptación y preferencia con grupos de personas poco expertas en la materia, pero que respondan al medio social o cultural al que va destinado el producto. Por ejemplo, el color de una bebida azucarada y carbonatada de naranja, la saturación del color anaranjado de la misma es diferente según qué grupo social o país lo consuma (Cordero, 2017).

Cuando se deben evaluar más de dos muestras a la vez, puede recurrirse a las pruebas de grado de satisfacción. Estas se usan para manejar más objetivamente datos tan subjetivos como son las respuestas de los jueces acerca de cuanto les gusta o les disgusta un alimento. Para llevar a cabo estas pruebas se utilizan las escalas hedónicas, la palabra “hedónico” proviene del griego ἕδον, que significa placer. Por lo tanto, las escalas hedónicas son instrumentos de medición de las sensaciones placenteras o desagradables producidas por un alimento a quienes lo prueban (Anzaldúa-Morales, 2005).

El color es la percepción de la luz a una cierta longitud de onda reflejada por un objeto (Anzaldúa-Morales, 2005). Es a menudo el primer elemento observado en la apariencia de un producto alimenticio, constituye la parte central de nuestra experiencia visual del alimento ya que nos proporciona pistas sobre si ese alimento es comestible o no y sobre la identidad e intensidad del sabor (Fernández, 2012). Cuando el color de un alimento está apagado o es diferente a lo que esperamos, nuestro cerebro nos dice que su sabor es diferente también (Konica Minolta, 2019), por lo mencionado anteriormente se decidió integrar este atributo en el análisis sensorial de la bebida carbonatada.

En la figura 16 se encuentran los resultados para el color en la bebida carbonatada de garambullo, en donde se observa que la endulzada con 30% de azúcar muestra mayor aceptación con un 4% con respecto a la endulzada con miel en el mismo porcentaje, siendo la formulación de 30% azúcar la que muestra diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a todas las formulaciones. La bebida endulzada con miel en 20% presentó una aceptación mayor del 2% comparado con las otras dos formulaciones de este edulcorante, también se puede apreciar que las bebidas endulzadas con 50% azúcar, 20 y 30% miel no presentaron diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). En este caso la bebida con la concentración de 30% de azúcar fue la tuvo mayor aceptación por parte de los panelistas.



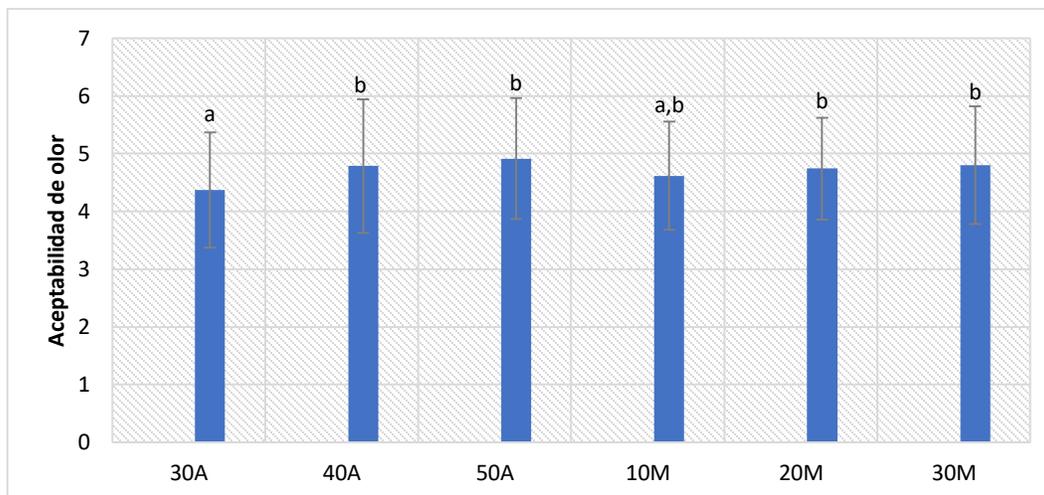
**Figura 16.** Evaluación del color en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña (A) y miel de agave (M) a diferentes porcentajes 30,40, 50% y 10,20, 30%, respectivamente. Las letras iguales en cada barra indica que no existe diferencia significativa

El promedio de aceptación es de 5 o sea “me gusta” por lo que se puede decir que la percepción de color no se afecta demasiado por las concentraciones y variación de edulcorante.

El olor es la percepción, por medio de la nariz de sustancias volátiles liberadas por los alimentos, esta propiedad es diferente para cada uno de los alimentos y no ha sido posible establecer clasificaciones ni taxonomías completamente adecuadas para los olores (Anzaldúa-Morales, 2005), también se considera al olor como uno de los principales factores que contribuyen a la calidad de los alimentos (Cordero, 2017).

En la figura 17 se aprecian los resultados para el atributo de olor que se obtuvo en la evaluación sensorial de la bebida carbonatada de garambullo a las diferentes concentraciones con 2 edulcorantes, para este caso se puede apreciar que la bebida endulzada con azúcar en 50%, tuvo una aceptación mayor del 2% con respecto a la bebida con 30% de miel de agave, no mostrando diferencia significativa entre estas dos formulaciones ( $p \geq 0.05$ ), mientras que la endulzada con menor porcentaje de azúcar es decir la del 30% tuvo una aceptación menor del 11% con respecto a la de mayor aceptación es decir 50% azúcar, incluso mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a las otras formulaciones. La bebida con 10% de miel de agave fue la que presentó menor aceptación con un 6% con respecto a la de mayor aceptación es decir la de 50% azúcar.

Para el caso del olor podemos decir que los penalistas prefirieron la bebida endulzada con azúcar de caña, aunque en la percepción de este atributo no hay gran diferencia ya que las respuestas se encuentran en el intervalo de aceptación 4, o sea “me es indiferente”, y en la bebida de 50% azúcar que fue la que más agrado, el olor que se percibía era muy dulce dado por el porcentaje elevado de azúcar.



**Figura 17.** Evaluación del olor en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña (A) y miel de agave (M) a diferentes porcentajes 30,40, 50% y 10,20, 30%, respectivamente. Las letras iguales en cada barra indica que no existe diferencia significativa

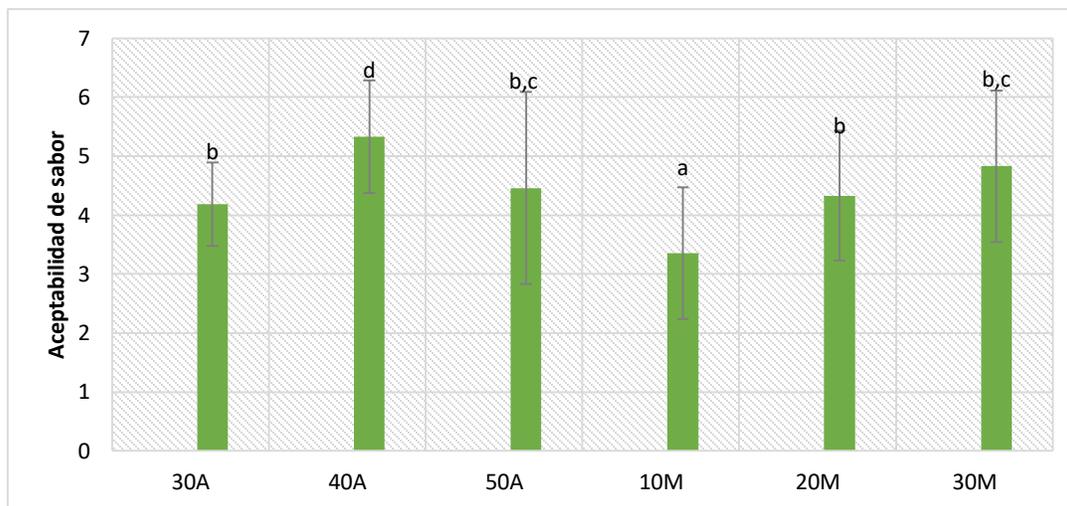
El sabor puede ser definido como la totalidad de la experiencia que se produce en la boca. La detección del sabor depende de la interacción tanto del sentido del gusto como del olfato, además de la combinación con otros atributos sensoriales tales como la textura, el color y la temperatura (Cordero, 2017).

Los resultados del sabor se observan en la figura 18, en donde los panelistas tuvieron una mayor aceptación por la bebida con 40% azúcar de caña obteniendo un 16% de preferencia con respecto a la de bebida con 50% de azúcar y un 9% más que la bebida endulzada con miel de agave al 30% mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la formulación de 40% azúcar, ya que las bebidas de 50% azúcar y 30% miel no presentan diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre ellas.

La bebida que agrado menos a los panelistas fue la de 10% miel de agave con un 37% de desaprobación con respecto a la bebida de mayor aceptación es decir la de 40% azúcar de caña incluso mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre estas dos formulaciones.

La diferencia de aceptación o desaprobación se debe principalmente a que las bebidas endulzadas con miel de agave presentaban un sabor más “ligero” comparadas con las de

azúcar las cuales tenían propiedades similares a una bebida carbonatada tradicional, lo cual agradaba más a los panelistas.



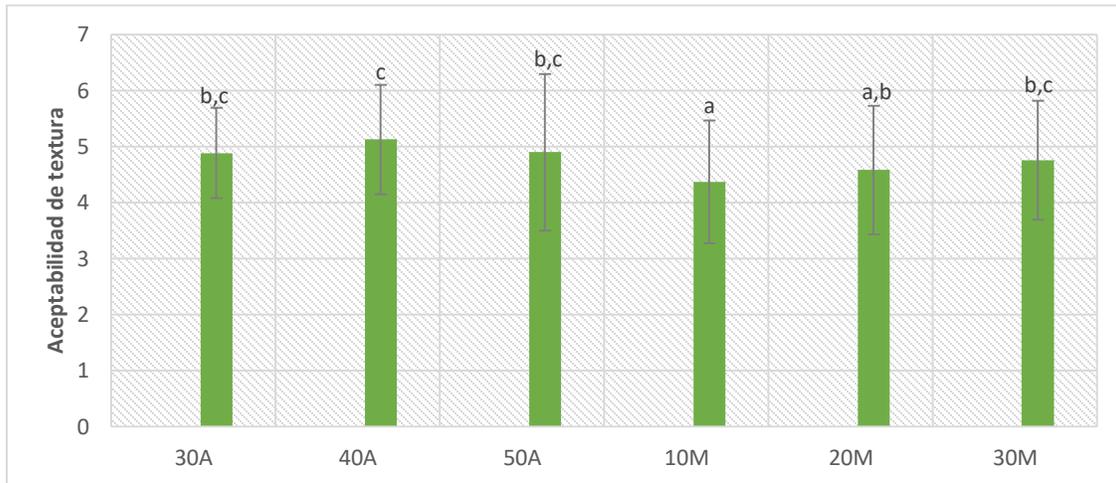
**Figura 18.** Evaluación del sabor en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña (A) y miel de agave (M) a diferentes porcentajes 30,40, 50% y 10,20, 30%, respetivamente. Las letras iguales en cada barra indica que no existe diferencia significativa.

Se define a la textura como el conjunto de propiedades mecánicas, geométricas y de superficie de un producto, en los líquidos la textura viene definida por la viscosidad (Cordero, 2017).

Los resultados obtenidos para el atributo de textura se muestran en la figura 19 en donde se puede apreciar que la bebida que agrado más a los panelistas fue la de 40% azúcar de caña con una aceptación mayor del 7% con respecto a la bebida endulzada con miel de agave al 30% mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre estas concentraciones.

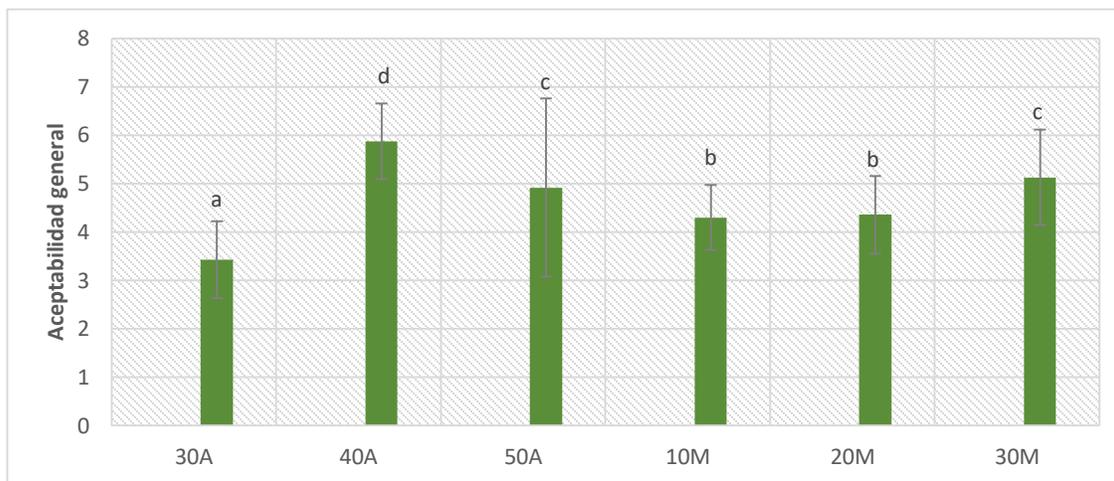
En las bebidas de 30 y 50% azúcar, así como la de 30% miel no se encontró diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ). También se puede apreciar que la bebida que obtuvo una menor aceptación fue de la 10% miel de agave con un 15% menos que la bebida con 40% azúcar que es la de mayor agrado, mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) entre estas dos concentraciones. Para este caso la textura de la bebida se mostró diferente ya que el tipo de edulcorante, así como la cantidad de este en cada una de las formulaciones tuvo un papel importante ya que las burbujas del  $\text{CO}_2$  permanecían por más tiempo en las bebidas

con azúcar también se pudo observar que la bebida con miel de agave presentaba mayor viscosidad, lo cual no fue del agrado de los panelistas ya que mencionaban que una bebida carbonatada no debe tener esas características.



**Figura 19.** Evaluación de la textura en la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña (A) y miel de agave (M) a diferentes porcentajes 30,40, 50% y 10,20, 30%, respectivamente. Las letras iguales en cada barra indica que no existe diferencia significativa.

En la figura 20 se encuentran los resultados de manera general de la bebida carbonatada de garambullo, en donde se aprecia una aceptación del 16% más para la bebida con 40% azúcar de caña mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), esto con respecto a la endulzada al 50% de este mismo edulcorante y un 13% más comparado con la de 30% miel de agave en donde no hubo diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre estas dos concentraciones. En este caso se puede observar que la bebida que tuvo una menor aceptación fue la de 30% azúcar de caña con un 42% con respecto a la bebida que encabeza la prueba, es decir azúcar de caña al 40% aquí también se encontró diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 20.** Evaluación general de la bebida carbonatada de garambullo con diferentes concentraciones de azúcar de caña (A) y miel de agave (M) a diferentes porcentajes 30, 40, 50% y 10, 20, 30%, respetivamente. Las letras iguales en cada barra indica que no existe diferencia significativa.

Así se puede decir que para este caso general la bebida con mayor aceptación por los panelistas fue la endulzada con azúcar de caña al 40%. De acuerdo con los resultados que se muestran anteriormente para la evaluación sensorial de la bebida carbonatada de garambullo, se puede decir que la bebida que agrado más a los panelistas fue la de 40% azúcar en el caso del sabor, textura y en general.

Quetglas (2015) realizó un estudio a 522 personas de entre 18 y 60 años titulado “Tendencias en el sabor”, para ConsumoLab del centro tecnológico Ainia en donde se establece que los productos que el consumidor acepta a nivel de sabor generan más confianza en la elaboración del propio producto, porque hay una asociación entre sabor y calidad. Que un alimento tenga buen sabor genera confianza (44%) y es percibido como un producto de calidad por el consumidor (35.6%), también el sabor prevalece como factor decisivo en la intención de compra de un alimento para un 97.3% de los consumidores frente a otros atributos. Según este estudio, más de dos tercios de los consumidores no vuelve a comprar un producto si no le gusta su sabor.

Por lo tanto, en este proyecto se tomó como factor importante el sabor en la bebida carbonatada de garambullo, así que para realizar los objetivos restantes de este trabajo de

investigación se consideró como la mejor opción a la bebida endulzada con azúcar de caña al 40%.

En todos los atributos sensoriales evaluados en la bebida se observa diferencia entre los dos edulcorantes, esta diferencia se da principalmente a que se utilizó la miel de agave que es un excelente edulcorante natural, es 1.4 veces más dulce que el azúcar de caña esto debido a que la fructosa es un azúcar 40% más dulce que la sacarosa (azúcar de caña), convirtiéndose en el azúcar más dulce de la naturaleza, por lo tanto que la miel de agave posea un alto contenido en fructosa lo vuelve más dulce que otros jarabes que contienen niveles apreciables de otra clase de azúcares (García y López, 2013).

Hernández (2018) realizó un estudio comparando el uso de la miel de agave con el azúcar de caña en la elaboración de un producto de repostería, obteniendo como resultado un bizcocho con °Brix similares al tradicional al igual que los atributos organolépticos deseados en este tipo de productos.

La miel de agave tiene un índice glucémico más bajo (I.G. 17) que el azúcar común (I.G. 68) (Amidor, 2012), lo cual favorece a que su consumo no afecte a personas con problemas de diabetes, pero en este proyecto los panelistas prefirieron las bebidas carbonatadas de garambullo endulzadas con azúcar, aunque gracias al aporte nutricional del garambullo como son los fenoles totales, capacidad antioxidante y betalaínas la bebida sigue siendo un producto recomendable para el consumo regular, sustituyendo a las bebidas carbonatadas tradicionales.

### **5.3. Efecto de la pasteurización tradicional con tratamientos no térmicos**

#### **5.3.1. Carga microbiológica**

La conservación de alimentos, en su contexto más amplio se puede definir como la aplicación de tecnologías encargadas de prolongar la vida útil y disponibilidad de los alimentos para consumo humano y animal, protegiéndolos de microorganismos patógenos y otros agentes responsables de su deterioro, y así permitir su consumo futuro (Aguilar, 2012).

La conservación de alimentos utiliza mecanismos tradicionales, así como nuevas tecnologías (ozonización, sonicación, irradiación UVC, altas presiones hidrostáticas, campos magnéticos y eléctricos), que tienen el objetivo principal de preservar el sabor, los nutrientes, la textura e impedir alteraciones microbiológicas (Aguilar, 2012).

Para comprobar que los métodos empleados en la desinfección de la bebida carbonatada de garambullo fueron efectivos, se realizó un muestreo evaluando parámetros microbiológicos, como fueron coliformes totales, bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras, los resultados se encuentran en la tabla 6.

**Tabla 6.** Parámetros microbiológicos de la bebida carbonatada de garambullo con diversos tratamientos alternativos a la pasteurización.

Tratamiento	Coliformes totales UFC/mL	Mesófilos aerobios UFC/mL	Mohos y levaduras UFC/mL
Control	<10	*	*
Pasteurizado	<10	<10	<10
Ozono 3 min	<10	900	1490
Ozono 6 min	<10	560	1400
Ozono 9 min	<10	320	370
Sonicación 15 min	<10	600	1130
Sonicación 25 min	<10	300	680
Sonicación 35 min	<10	300	430

\*Incontables <10 UFC/mL en la dilución de  $10^{-1}$

En la Tabla 6 se puede observar que todas las bebidas tanto control como las sometidas a los diferentes tratamientos de desinfección presentaron valores menores a 10 UFC/mL para el caso de los coliformes totales, lo cual se encuentra dentro de los límites permisibles

establecidos por la NOM-113-SSA1-1994. Es importante tener un control sobre este tipo de bacterias ya que son uno de los indicativos principales de inocuidad en los alimentos, estos se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, se les puede encontrar en el agua, el suelo y los vegetales, y forman parte de la flora intestinal de los seres humanos y de los animales de sangre caliente y fría, la presencia de bacterias coliformes es un indicio de que el alimento puede estar contaminado con aguas residuales u otro tipo de desechos en descomposición (Jay, 2002).

Con respecto a los resultados obtenidos en cuanto a las bacterias mesófilas aerobias se puede observar que el método de pasteurización tradicional fue el que logro eliminar este tipo de bacterias en la bebida, mientras que en las bebidas sometidas a los tratamientos de ozonización y sonicación a diferentes tiempos no lograron eliminar del todo estas bacterias, sin embargo si se observa la disminución del 76% en la bebida ozonizada y de un 84% en la bebida sonicada con respecto a la bebida control logrando entrar en los límites permisibles establecidos por la NOM-092-SSA1-1994, a su vez el tratamiento que presentó mejores resultados fue el de sonicación a 25 y 35 minutos logrando reducir la misma cantidad de estos microorganismos.

Por lo que se refiere a la presencia de mohos y levaduras, la bebida sometida a la pasteurización tradicional logro eliminar estos microorganismos, mientras que el método alternativo más efectivo fue el de ozonización durante 9 minutos, no obstante, este tipo de microorganismos estuvieron presentes en la mayoría de las muestras a pesar de que fueron sometidas a los procesos de desinfección, esto debido a que se vieron favorecidos por diversos factores, como el pH, el sustrato por la concentración de los solutos y a su vez por la aerobiosis, lo cual hizo un ambiente más propicio para el desarrollo de las levaduras y los mohos, ya que estos también crecen mejor en condiciones ácidas (Frazier y Westhoff, 1993). A pesar de la presencia de estos microorganismos al realizarse el conteo en placa los resultados se encontraron dentro del intervalo permisible que establece la NOM-111-SSA1-1994.

Rivas (2007) realizó un estudio con muestras de leche utilizando el método de sonicación a diferentes tiempos para la eliminación de microorganismos presentes en las muestras, en su trabajo encontró que el método es efectivo para la muerte microbiana de *E. coli* y

*S. aureus*, notando que llega un momento en el cual ya no se observa la disminución de la población microbiana. Esto se puede explicar por la existencia de una fracción de la población microbiana que es resistente o bien por la presencia de sólidos suspendidos de la muestra irradiada por sonicación que funcionan como un escudo para los microorganismos (Karel y Lund, 2003).

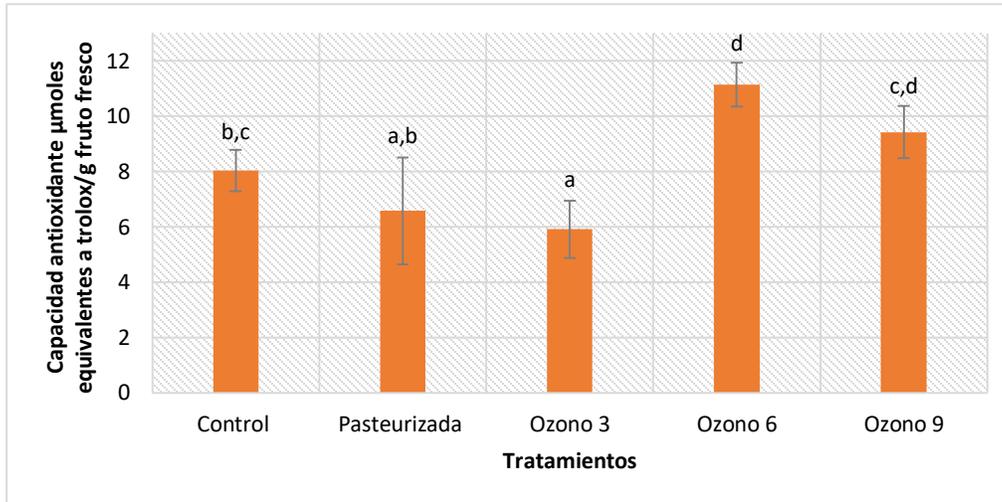
Mientras tanto Betaller-Venta *et al.* (2010), evaluaron los resultados de la aplicación del ozono en fase gaseosa o acuosa para el tratamiento, almacenamiento y procesamiento de frutas y hortalizas donde observaron que la aplicación del ozono a concentraciones relativamente bajas y tiempos de contacto corto permite la inactivación de microorganismos, garantiza la calidad del producto agrícola e incrementa su resistencia al deterioro.

Por lo mencionado anteriormente se puede concluir que la bebida carbonatada de garambullo sometida a la pasteurización y al proceso de sonicación durante 25 y 35 ofrece los mejores resultados en cuanto a la eliminación de la población microbiana brindando un producto confiable para el consumo humano.

### 5.3.2. Capacidad antioxidante

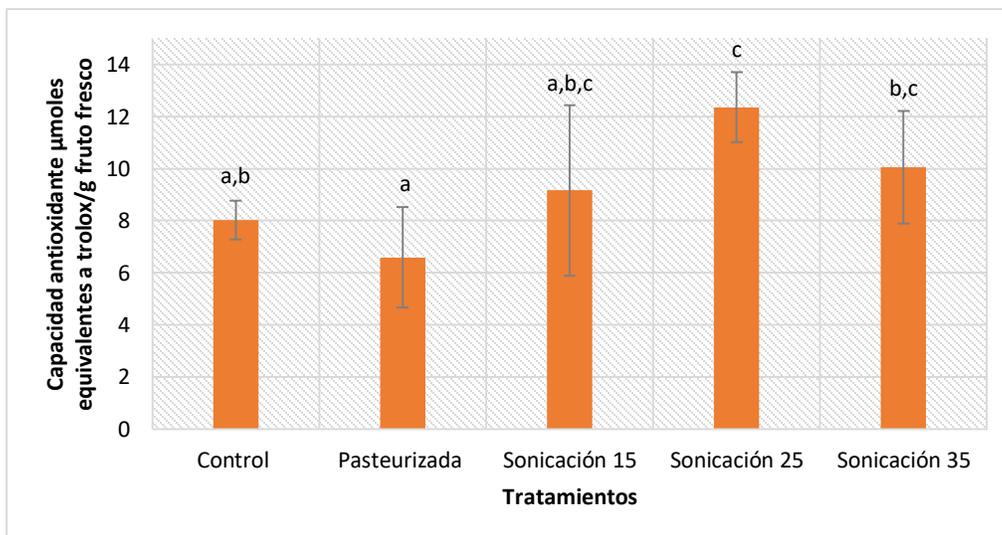
En las figuras 21 y 22 que se presentan a continuación se observan los resultados para la capacidad antioxidante en las bebidas control, pasteurizada, ozonizadas y sonicadas a los diferentes tiempos de exposición. Se observa que la capacidad antioxidante presente en la bebida sometida al proceso de pasteurización disminuyó un 18% con respecto a la bebida control; la cual no fue sometida a ningún proceso incluso no mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) en la capacidad antioxidante de las dos bebidas, en cuanto a las bebidas sometidas al proceso de ozonización la bebida de ozono 6 fue la que registró un incremento en la capacidad antioxidante con un 39% con respecto a la bebida control

mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), mientras que la bebida de ozono 3 fue la que mostró una capacidad antioxidante menor del 47% con respecto a la de ozono 6 con diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).



**Figura 21.** Capacidad antioxidante en la bebida carbonatada de gámbullo control, sometida a pasteurización (85° C 5 minutos) y ozonización por 3, 6 y 9 minutos de tratamiento. Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa entre los tratamientos.

En la figura 22 se observa que la bebida sometida al proceso de sonicación 25 presentó un 35% más capacidad antioxidante que la bebida control incluso mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).



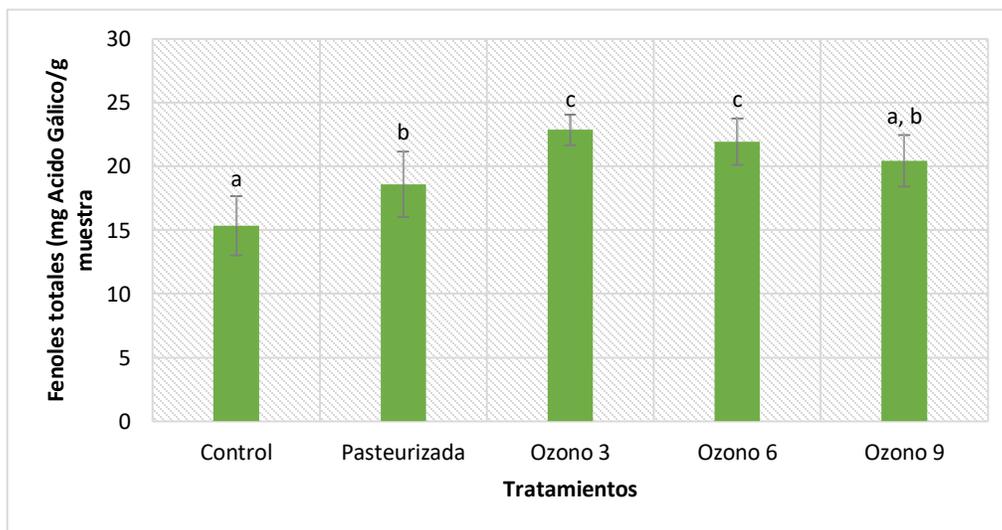
**Figura 22.** Capacidad antioxidante en la bebida carbonatada de gámbullo control, sometida a pasteurización (85° C, 5 minutos) y sonicación (15, 25 y 35 minutos de tratamiento). Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa entre los tratamientos.

La bebida pasteurizada fue la que mostró un 37% menos de capacidad antioxidante que la bebida de sonicación 25 mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), por lo que se puede decir que la pasteurización tradicional afecta directamente a este tipo de compuestos bioactivos.

Como se analizó anteriormente las bebidas sonicadas fueron las que presentaron un mayor incremento en la capacidad antioxidante esto se debe principalmente a que el fenómeno de cavitación ultrasónica favorece la ruptura de la pared celular, la reducción del tamaño de la partícula, la permeabilidad del tejido, facilita la rehidratación del tejido y la abertura de los poros, por lo que las sustancias que se encuentren en las células internas o externas del tejido, son extraídas con mayor rapidez (Rodríguez-Riera, *et al.* 2014).

### 5.3.3. Fenoles totales

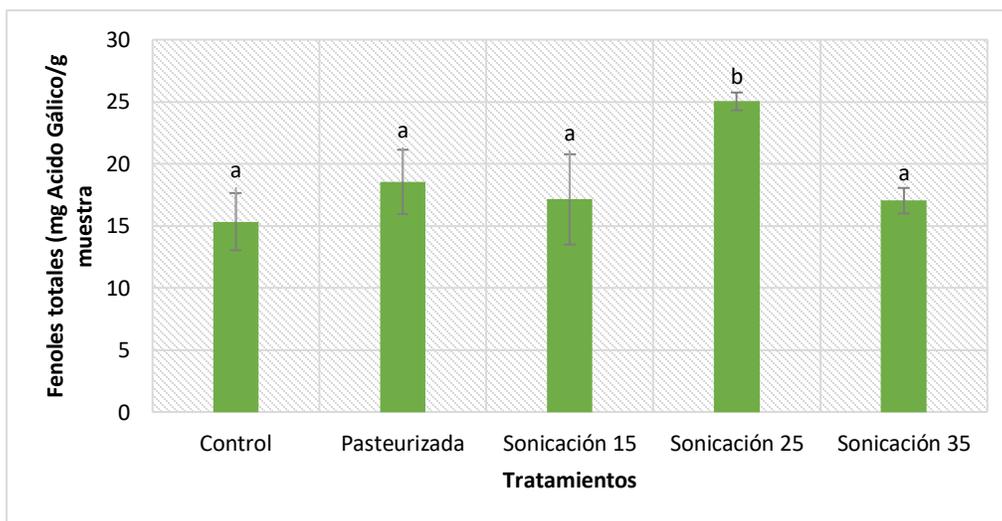
En la figura 23 se observa que la bebida sometida a ozonización durante 3 minutos fue la que presento un contenido más alto de estos compuestos con tan solo el 4% más que la ozonizada durante 6 minutos no mostrando diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre los dos tiempos.



**Figura 23.** Fenoles totales en la bebida carbonatada de garmbullo control, sometida a pasteurización (85° C, 5 minutos) y ozonización (3, 6 y 9 minutos de tratamiento). Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa entre tratamientos.

La figura 24 muestra que la sonicación durante 25 minutos fue la que presentó un contenido más alto de estos compuestos con un 39% más que la bebida control y un 26% más con respecto a la bebida pasteurizada mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con las demás bebidas.

La bebida sonicada durante 35 minutos fue la que presentó un porcentaje menor dentro de las bebidas sometidas a este proceso con un 32% menos con respecto a la bebida sonicada durante 25 minutos mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

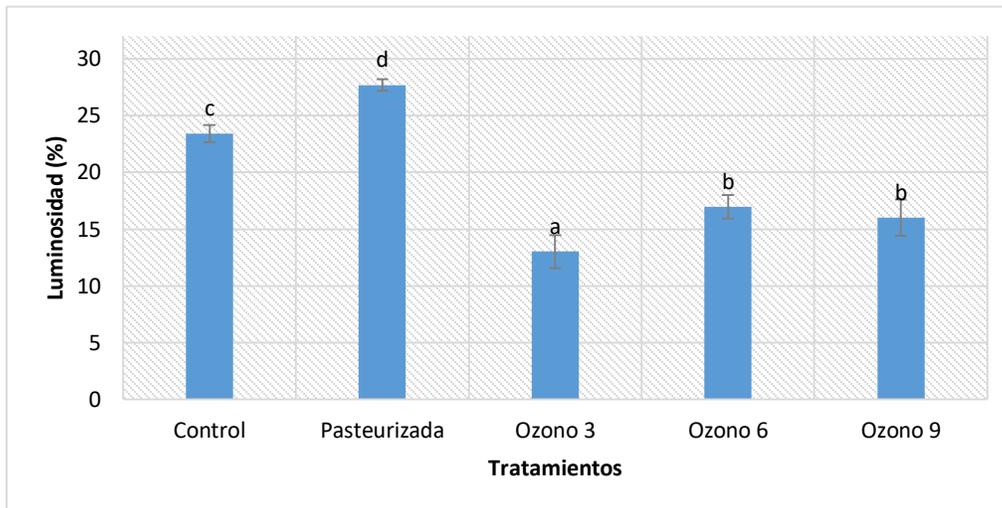


**Figura 24.** Fenoles totales en la bebida carbonatada de garambullo control, sometida a pasteurización (85° C, 5 minutos) y sonicación (15, 25 y 35 minutos de tratamiento). Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa entre tratamientos.

Al hacer el análisis de resultados se obtuvo que la bebida sonicada durante 25 minutos fue la que preservó los valores más altos de compuestos bioactivos tanto de fenoles totales como de capacidad antioxidante, esto debido a que se considera que la sonicación es una de las tecnologías de procesamiento de alimentos que mejora los atributos de calidad, Awad *et al.* (2012) mencionan que la sonicación funciona como un excelente método para facilitar la extracción de diversos compuestos bioactivos de alimentos. Chandrapala *et al.* (2012) señala que los alimentos con alta tensión superficial, como los zumos de frutas, son excelentes candidatos para ser procesados por la tecnología ultrasónica.

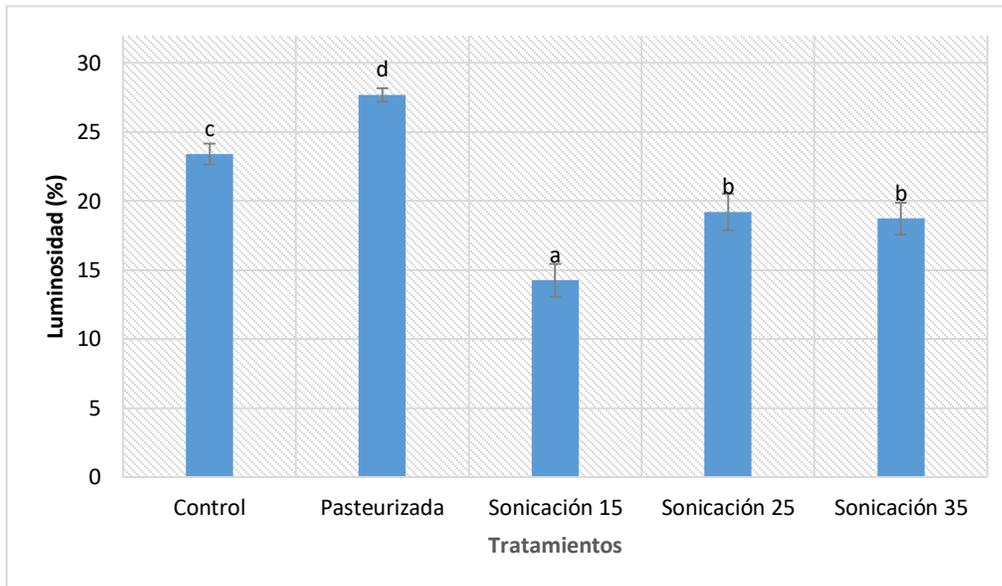
### 5.3.4. Color

En las figuras 25 y 26 se muestran los resultados obtenidos para la evaluación de la luminosidad en la bebida carbonatada de garambullo tanto control, pasteurizada, ozonizada, así como sonicada a los diferentes tiempos de exposición.



**Figura 25.** Luminosidad de la bebida carbonatada control, sometida a pasteurización (85° C, 5 minutos) y ozonización (3, 6 y 9 minutos de tratamiento). Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa entre tratamientos.

Por lo que se refiere a la luminosidad, se observa en la figura 25 que las bebidas sometidas al proceso de ozonización, la de 3 minutos fue la que presentó un valor menor del 44% con respecto a la bebida control mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), en cuanto a las bebidas de ozono de 6 y 9 minutos los valores se encuentran similares y no mostraron diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) entre ellas, obteniendo valores del 28 y 32% menos con respecto a la bebida control.



**Figura 26.** Luminosidad de la bebida carbonatada control, sometida a pasteurización (85° C, 5 minutos) y sonicación (15, 25 y 35 minutos de tratamiento). Las letras diferentes en cada barra indican diferencia significativa entre tratamientos.

En la figura 26 se puede observar que la bebida sometida al proceso de sonicación durante 15 minutos fue la que reporto un valor más bajo con respecto a la bebida control con un 39% menos mostrando diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ), en cuanto a las bebidas sometidas al proceso de sonicación durante 25 y 35 minutos la diferencia en cuanto a este atributo es muy pequeña incluso no se encuentra diferencia significativa entre ellas ( $p \leq 0.05$ ) mostrando valores de 18 y 20% respectivamente al ser comparadas con la bebida control con la cual si presentaron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

Un estudio realizado por Arevalo-Cruz *et al.*, (2018) mencionan que el tratamiento de ultrasonido a baja frecuencia durante 25 minutos logra la reducción microbiana, conserva los niveles de vitamina A y C, contenido de compuestos fenólicos y alta capacidad antioxidante, y a su vez no altera el % de luminosidad en los jugos de piña con espinaca al ser comparado con el jugo control y el sometido a la pasteurización, siendo este tratamiento a estas condiciones el que logro proporcionar los mejores resultados en este estudio.

Por lo tanto, se puede afirmar que el tratamiento de sonicación durante 25 minutos fue el que proporcionó los mejores resultados en cuanto a la preservación de la calidad

nutrimental de la bebida carbonatada de garambullo y a su vez al no alterar de manera importante la coloración de dicha bebida, por último, también este tratamiento logro disminuir la población microbiana en la bebida para ofrecer un producto confiable al consumidor.

Dicho lo anterior se seleccionó el método de sonicación durante 25 minutos para realizar el siguiente objetivo en el cual se evaluará la vida de anaquel de la bebida carbonatada.

#### **5.4. Evaluación de la vida útil de la bebida carbonatada**

La vida útil es un periodo de tiempo durante el cual, el alimento se conserva apto para el consumo desde el punto de vista sanitario y mantiene características sensoriales, fisicoquímicas, nutricionales y funcionales por encima de un grado límite de calidad, previamente establecido como aceptable (Nuñez de Villavicencio, 2013).

En la industria de los alimentos se requiere conocer la vida útil de los productos para asegurar a los consumidores finales que el alimento adquirido mantiene todas sus características en buen estado. La vida útil de un producto depende de muchos factores, por ejemplo: ambientales, humedad, temperatura a la cual se expone, el proceso térmico que sufre, de la calidad de las materias primas que lo componen, entre otros. El resultado de la exposición a estos factores produce cambios en las cualidades del alimento que impide su comercialización como puede ser la pérdida de nutrientes, cambios de sabor, color o textura (García *et al.*, 2011).

El final de la vida útil de un producto se alcanza cuando ya no mantiene las cualidades requeridas para que el consumidor final lo utilice (Kuntz, 1991). Los estudios de vida útil acelerados permiten obtener información en tiempos relativamente cortos (García *et al.*, 2011).

Se considera que la vida útil está íntimamente relacionada con la calidad del alimento y de esto son conscientes tanto los productores como los consumidores, por lo que la FDA (Food and Drug Administration) y la USDA exigen declarar la vida útil del producto indicando claramente la fecha de expiración en los empaques (Malvais, 2017).

El objetivo principal de un estudio de vida útil es determinar el tiempo en el que un producto puede mantenerse sin sufrir un cambio apreciable en su calidad o inocuidad. Esta depende de 4 factores:

- Formulación (selección de materias primas)
- Proceso (inhibir reacciones de deterioro)
- Empaque
- Condiciones de almacenamiento

Estos factores se encuentran en el concepto del análisis de riesgos y puntos críticos de control (HACCP, por sus siglas en inglés), una metodología de aseguramiento de calidad que busca tanto la seguridad del alimento como una calidad alta (Malvais, 2017).

Por lo mencionado anteriormente se realizó la evaluación de la vida útil de la bebida carbonatada de garambullo, sometiéndola a diferentes temperaturas de almacenamiento que fueron desde 1, 15 y 25°C, esto para conocer el comportamiento de los parámetros nutrimentales, de calidad y microbiológicos de la bebida.

Para realizar la evaluación de la vida útil, los parámetros de la bebida carbonatada que se evaluaron durante 28 días fueron los fisicoquímicos (acidez, pH, luminosidad y sólidos solubles), nutrimentales (betalaínas, capacidad antioxidante y fenoles totales), sensoriales (color, olor, sabor, textura y aceptabilidad general) y microbiológicos (coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras), en donde se graficaron los datos obtenidos durante la experimentación en función del tiempo en días, una vez graficado se aplicó regresión lineal para cada una de las temperaturas, logrando obtener el coeficiente de correlación ( $r^2$ ), el cual indica el grado de ajuste de la recta de regresión a los valores de la muestra, cuando más cercano es el valor a la unidad, mejor es el ajuste (Laguna, 2019). Todos los gráficos obtenidos se encuentran en el apartado de anexos.

En la tabla 7 se observan los valores del coeficiente de correlación evaluados en los parámetros a las diferentes temperaturas de almacenamiento.

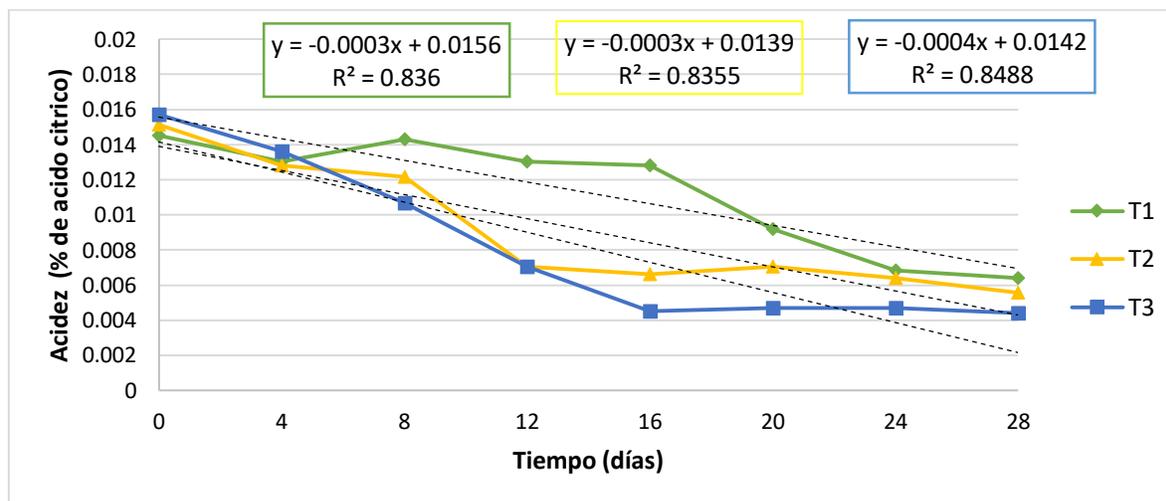
**Tabla 7.** Coeficientes de correlación ( $r^2$ ) de los parámetros determinados en la bebida carbonatada a diferentes temperaturas.

Parámetro evaluado	Coeficiente de correlación ( $r^2$ )		
	1°C	15°C	25°C
pH	0.2651	0.7434	0.7326
Sólidos solubles	0.1762	0.904	0.919
<b>Acidez</b>	<b>0.836</b>	<b>0.8355</b>	<b>0.8488</b>
Luminosidad	0.1193	0.074	0.0743
Capacidad antioxidante	0.0126	0.0123	0.0126
Fenoles totales	0.0151	0.1179	0.0051
Betalaínas	0.0735	0.08	0.1176
Olor	0.0504	0.9317	0.9861
Color	0.0325	0.4456	0.235
Sabor	0.0021	0.7983	0.9791
Textura	0.1059	0.8479	0.8204
Aceptabilidad general	0.0164	0.9397	0.9934

En la tabla anterior se observa que los valores obtenidos para  $r^2$  en todos los parámetros evaluados son menores a la unidad, siendo el parámetro de acidez el que mostró un mayor acercamiento a 1 en las tres temperaturas de almacenamiento estudiadas, por lo que se procedió a realizar la cinética de degradación para este atributo en función del tiempo para cada una de las temperaturas de almacenamiento. Los demás parámetros evaluados no mostraron un deterioro constante que diera una pendiente de degradación para posteriormente estimar el tiempo de vida útil de la bebida carbonatada, porque para el caso de los atributos sensoriales se sabe que tanto en la bebida almacenada a 15 y 25 °C se dejó de proporcionar la muestra a los panelistas debido a un cambio en el olor de la bebida y de esta manera evitar algún tipo de problema con los panelistas.

En la figura 27 se observan los resultados de la cinética de degradación con respecto al tiempo para este parámetro en las tres temperaturas de almacenamiento, para este caso la pendiente (m) representa la constante de velocidad de reacción (k) que es la

proporcionalidad entre la velocidad de reacción y las variables que la afectan (temperatura o concentración) o dicho de otra manera el deterioro de la acidez en la bebida, en donde se analiza que la acidez en la bebida carbonatada tuvo una tendencia a disminuir con respecto al tiempo. Según la Norma Técnica de Bebidas Carbonatadas Nicaragüense (2001) el valor de acidez en el que se debe encontrar una bebida carbonatada es de 0.03% ácido cítrico, en este caso la bebida carbonatada de garambullo se encuentra dentro de este intervalo en el tiempo de estudio y en las tres temperaturas, mostrando una disminución mayor en la temperatura de 25 °C, la bebida almacenada en la temperatura a 1 °C fue la que mostró una menor pérdida de acidez comparada con las demás temperaturas.



**Figura 27.** Comportamiento del deterioro de la acidez de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento

En un estudio realizado por Franco *et al.*, (2016) en donde evaluaron el efecto del tiempo de almacenamiento sobre propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de productos derivados del fruto agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*) durante 60 días, muestra que la acidez titulable varió a través del tiempo de almacenamiento incluso mostrando diferencia estadísticamente significativa ( $p \leq 0.05$ ), entre el tiempo de almacenamiento inicial y los tiempos restantes. A su vez Ávila *et al.* (2007) evaluaron esta característica en fruta fresca de agraz almacenada a 2 °C durante 9 días mostrando valores más altos que en la pulpa por

la siguiente razón, al convertir la fruta fresca en un producto se realiza un proceso mecánico que puede liberar ácidos orgánicos aumentando la acidez.

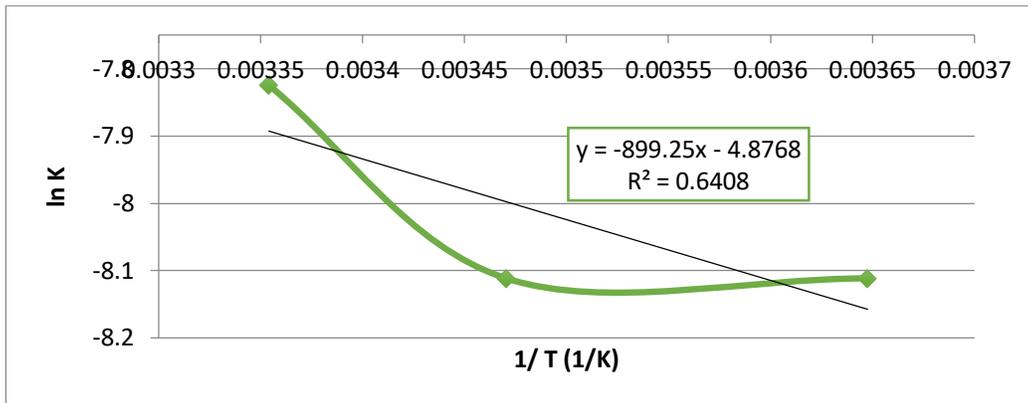
Malvais (2017) menciona que el envase juega un papel crítico en la protección de las bebidas carbonatadas en la mayoría de los aspectos de deterioro como por ejemplo en la acidez. El envejecimiento de las bebidas puede ser acelerado por  $O_2$  que entra a través del envase y con los efectos de la luz. Se debe agregar que la funcionalidad del envasado constituye un factor determinante en el éxito o fracaso de este, esta también se define por un buen dispensado, buena sellabilidad, nivel de llenado adecuado y resistencia a condiciones de almacenamiento y transporte (Giraldo, 1999).

La ecuación de Arrhenius es una expresión matemática que se utiliza para comprobar la dependencia de la constante de velocidad (o cinética) de una reacción con la temperatura a la que se lleva a cabo esa reacción (Herrera y Stave, 2013).

En la tabla 8 se encuentran las regresiones lineales obtenidas en la figura 27, en donde a las tres constantes representadas por la pendiente (m) de cada una de las temperaturas de almacenamiento se les aplicó el modelo de Arrhenius, para obtener el gráfico de  $\ln k$  en función de  $1/T$ , este gráfico se encuentra en la figura 28.

**Tabla 8.** Regresiones lineales obtenidas en la acidez a diferentes temperaturas.

Temperatura (°C)	Regresiones lineales
1° C	$0.0003 \cdot t + 0.0156$
15° C	$0.0003 \cdot t + 0.0139$
25° C	$0.0004 \cdot t + 0.0142$



**Figura 28.** Comportamiento logarítmico del deterioro de la acidez de la bebida carbonatada a diferentes temperaturas de almacenamiento.

De la figura 28 se obtiene la regresión lineal, y a su vez la ecuación de ln k como se muestra a continuación:

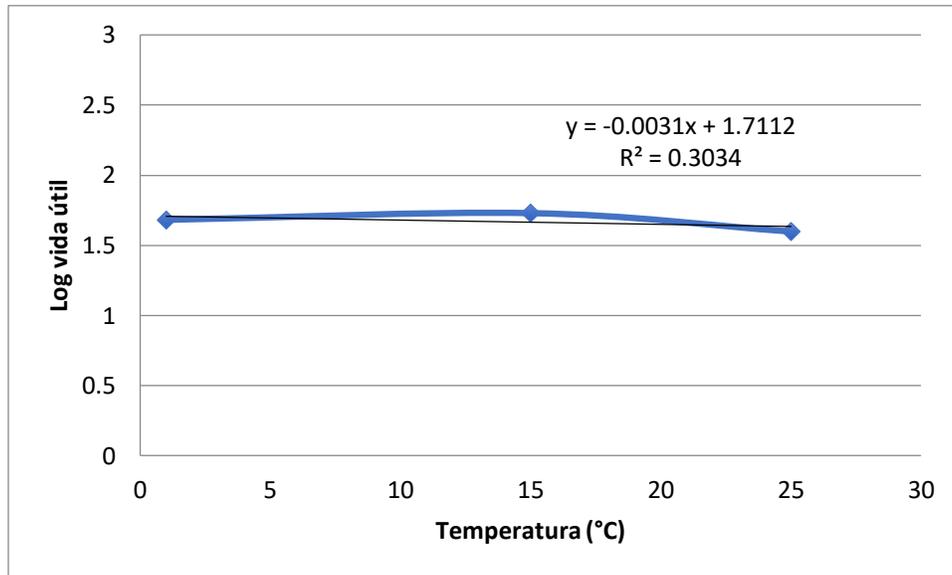
$$\ln k = 4.8768 - 899.25 \left( \frac{1}{T} \right)$$

Esta ecuación será utilizada para realizar el cálculo de la energía de activación ( $E_a$ ) en la bebida carbonatada de garambullo a diferentes temperaturas.

La energía de activación se define como la energía necesaria para producir una reacción química dada (Giraldo, 1999), menciona que un proceso de difusión en alimentos necesita una energía de activación de 0 a 33495 J/mol, una vez realizado el cálculo de la energía de activación de la bebida carbonatada se encontró un valor de 7476.7242 J/mol; por lo que se puede afirmar que es una reacción de difusión en la bebida ya que este valor se encuentra dentro de los parámetros mencionados anteriormente.

Se sabe que al aumentar la temperatura predominan las reacciones de mayor energía de activación, lo cual pudiera ser causante de pérdidas de calidad de un producto (Giraldo, 1999).

Más adelante se realizó el gráfico de Log de vida útil a las diferentes temperaturas de estudio, el cual se puede observar en la figura 29.



**Figura 29.** Log de vida útil de la bebida carbonatada de garambullo en función de las temperaturas.

Gracias a la regresión lineal dada de la figura 33 se obtuvo la ecuación de la vida útil de la bebida carbonatada de garambullo como se muestra a continuación:

$$\text{Log vida útil} = 1.7112 - 0.0031 * T$$

Para obtener la vida útil se despejo la ecuación anterior mostrando la siguiente:

$$\text{Vida útil} = 10^{(1.7112 - 0.0031 * T)}$$

Como resultado en la tabla 9 se encuentran plasmados los valores exactos en días a las tres temperaturas de almacenamiento, donde se observa que conforme aumenta la temperatura de almacenamiento el tiempo de vida útil de la bebida tiende a disminuir. La temperatura es uno de los factores más críticos que afecta las reacciones de cinéticas que

ocurren en los alimentos (Calligaris *et al.*, 2012); una disminución en la temperatura, generalmente, disminuye la tasa de las reacciones químicas responsables del deterioro de los alimentos, por lo que el almacenamiento en frío se utiliza frecuentemente con el fin de extender la vida útil de estos productos (Lim *et al.*, 2004).

**Tabla 9.** Valores de vida útil de la bebida carbonatada.

Temperatura (°C)	Vida útil (días)
1	54
15	48
25	40

El factor de aceleración  $Q_{10}$  es un método usado con el fin de predecir el efecto de la temperatura sobre un alimento, este factor significa el número de veces que la velocidad de las reacciones se modifica cuando la temperatura aumenta 10° C (Rondón *et al.*, 2004).

El  $Q_{10}$  es una constante que se aproxima a 2, pero puede variar en función de una gran variación de temperatura (Espinoza, 2018).

Por último, en la tabla 10 se encuentran los valores obtenidos de  $Q_{10}$  en la bebida carbonatada de garambullo.

**Tabla 10.** Factor  $Q_{10}$  de la bebida carbonatada de garambullo.

Temperatura (°C)	$Q_{10}$
1-15	0.09
15-25	0.6

Como se observa en la tabla anterior el valor más alto para el factor  $Q_{10}$  se encuentra en el intervalo de temperatura de 15-25 °C, mientras que el más bajo en el intervalo de 1-15 °C por lo que se puede afirmar que a temperaturas más bajas las reacciones químicas se lleven

a cabo a una menor velocidad. Cuanto mayor sea el valor de  $Q_{10}$  y/o  $E_a$ , mayor será la dependencia de la transformación en relación a la temperatura (Espinoza, 2018).

Para finalizar, se realizó el monitoreo microbiológico de la bebida en las tres temperaturas de almacenamiento durante los 28 días realizando el muestreo cada 4 días, haciendo el conteo de coliformes totales, mesófilos aerobios, mohos y levaduras. Los resultados se encuentran en la tabla 11.

Todas las bebidas están en riesgo de sufrir deterioro como resultado de la acción microbiana, y esto es probablemente la mayor amenaza para la estabilidad del producto. Como casi todas las bebidas son de naturaleza acida, el riesgo principal es el deterioro microbiano por un organismo patógeno. Los organismos de deterioro de particular preocupación son las levaduras y los mohos. Los principales efectos de la contaminación microbiana son el desarrollo de aromas fuera de sabor y el cambio de apariencia física. Para organismos como algunos tipos de levaduras resistentes, existe la posibilidad de la producción de  $CO_2$  a un nivel que después de añadir la carbonatación causara el estallido de la botella y la posibilidad de lesión. El procesamiento inicial de un producto para reducir o eliminar cualquier contaminación es vital, pero una vez que el producto está dentro de su recipiente, el envase juega un papel esencial tanto de la retención de  $CO_2$  y de protección de una contaminación posterior (Malvais, 2017). En la siguiente tabla se encuentran los datos de los parámetros microbiológicos evaluados durante el tiempo de almacenamiento.

**Tabla 11.** Monitoreo microbiológico de la bebida carbonatada de garambullo a diferentes temperaturas.

T (°C)	1			15			25		
Tiempo (días)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Mohos y levaduras (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Mohos y levaduras (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Mohos y levaduras (UFC/mL)
0	≤10	≤10	740	≤10	270	960	≤10	720	1030
4	≤10	≤10	1020	≤10	790	1300	≤10	890	1490
8	≤10	150	1080	≤10	420	1490	≤10	1050	1450
12	≤10	460	1090	≤10	1380	1240	≤10	1740	*

**Tabla 11.** Monitoreo microbiológico de la bebida carbonatada de garambullo a diferentes temperaturas (Continuación).

Tiempo (días)	1			15			25			
	T (°C)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Mohos y levaduras (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Mohos y levaduras (UFC/mL)	Coliformes totales (UFC/mL)	Mesófilos aerobios (UFC/mL)	Mohos y levaduras (UFC/mL)
16		≤10	710	710	≤10	1800	1280	≤10	1760	*
20		≤10	970	750	≤10	960	1470	≤10	860	*
24		≤10	570	585	≤10	680	*	≤10	450	*
28		≤10	470	562	≤10	870	*	≤10	670	*

\*Incontables; <10 UFC/mL en la dilución de 10<sup>-1</sup>

Analizando los valores obtenidos en la tabla 11, se observa que no hubo crecimiento de coliformes totales a lo largo del periodo de estudio en ninguna de las tres temperaturas, como lo establece la NOM-113-SSA1-1994. En el caso de los mesófilos aerobios se observa su presencia en las tres temperaturas durante el tiempo de almacenamiento, mostrando una tendencia que va desde lo menos, alcanzando un punto máximo y después disminuye, dicho comportamiento se observa en las tres temperaturas de almacenamiento. Sin embargo, a pesar de su presencia los valores se encuentran dentro de lo permitido por la NOM-092-SSA1-1994, la cual establece un límite permisible de 25 a 250 colonias por lo tanto la bebida almacenada.

Por último, los mohos y levaduras tuvieron presencia en las tres temperaturas desde el primer día de almacenamiento, esto debido a que los azúcares presentes en la bebida fueron metabolizados por las levaduras en forma continua y se sabe que la concentración de azúcares es crítica para el desarrollo de las levaduras durante la fermentación, estas se alimentan de la glucosa y la fructosa (Jerjenes, 1990), en este caso los tratamientos alternativos a la pasteurización únicamente lograron inactivar a las levaduras. Los efectos del calor y el envejecimiento en las bebidas parecen estar estrechamente vinculados y en gran medida se producen independientemente del tipo de envase utilizado (Malvais, 2017).



# CONCLUSIONES

## 6. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos, se concluye lo siguiente:

- En la caracterización del fruto de garambullo se obtuvo información valiosa para identificar su uso tecnológico potencial y de esta manera brindar más información a la literatura actual.
- Las bebidas carbonatadas realizadas con el fruto de garambullo presentaron una mayor aceptabilidad por parte del panelista cuando fueron endulzadas con azúcar de caña en 40% comparadas con las de miel de agave. También los atributos de sabor, textura y aceptación general fueron mejor para las bebidas con azúcar de caña. A pesar de que los panelistas prefirieron la bebida endulzada con azúcar, gracias al aporte nutrimental del garambullo la bebida sigue siendo una opción recomendable para el consumo regular, sustituyendo las bebidas carbonatadas regulares.
- Los tratamientos alternativos a la pasteurización (ozonización y sonicación a diferentes tiempos), mostraron que ambos tratamientos lograron disminuir a niveles aceptables la concentración de microorganismos en comparación con la bebida sometida a la pasteurización tradicional (5 minutos a 85° C), obteniendo mejores resultados microbiológicos y de conservación de propiedades nutrimentales la bebida ozonizada durante 9 minutos y la sonicada por 25 minutos; sin embargo, la bebida tratada con ozono durante 9 minutos afectó los parámetros nutrimentales referentes a la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales, por lo cual se considera que la bebida sonicada durante 25 minutos fue mejor opción tecnológica y se acercó a los niveles de la bebida control.
- En cuanto a la vida útil de la bebida carbonatada de garambullo se encontró que las mejores condiciones para conservar y preservar la bebida fueron las temperaturas de refrigeración, observando que la mejor condición fue a temperatura de 1 °C, ya que en estas condiciones se logró conservar los atributos sensoriales (color, olor, sabor y textura) y a su vez los parámetros fisicoquímicos (pH, sólidos solubles, acidez y color) y se obtuvo una disminución del crecimiento microbiano (coliformes totales,

mesófilos aerobios, mohos y levaduras) en comparación con las otras dos bebidas almacenadas a temperatura de 15 y 25 °C durante los 28 días de almacenamiento.

- El garambullo es una excelente opción de consumo, ya sea de manera directa o en un producto ya procesado y la opción de bebida carbonatada podría ser un producto de consumo potencial apto para consumidores de diversas edades, debido a su contenido nutrimental.



# RECOMENDACIONES

## 7. RECOMENDACIONES

- Evaluar la eficacia de otras alternativas como irradiación UVC, altas presiones hidrostáticas, campos eléctricos y campos magnéticos, a los procesos térmicos que garanticen la inocuidad del producto y que no afecten las propiedades sensoriales y nutricionales del producto.
- Desarrollar formulaciones con otros edulcorantes, para sustituir el consumo de azúcar.
- Evaluar otras temperaturas de almacenamiento en el estudio de vida de anaquel y a su vez otros envases para ver el comportamiento durante el estudio.
- Elaborar la etiqueta de la bebida carbonatada de garambullo de acuerdo con la nueva norma de etiquetado. Declarando en ella contenido de proteínas, carbohidratos, grasas y sodio, y así brindar mayor información del producto final.



# REFERENCIAS

## 8. REFERENCIAS

- Aguilar, M. J. (2012). *Métodos de conservación de alimentos*. (p. 16-17). Estado de México: RED TERCER MILENIO S.C.
- Amidor, T. (2012). Healthy tips.. Disponible en: <http://blog.foodnetwork.com/healthyeats/2012/11/01/food-fight-agave-vshoney/>
- A DUE. (2018). Bebidas carbonatadas. Disponible en: <http://www.adue.it/es/soluciones/bebidascarbonatadas.html>
- ANPRAC. (2018). Asociación Nacional de Productores de Refresco y Aguas Carbonatadas Industria Refresquera Mexicana. Disponible en: <http://anprac.org.mx/?s=bebidas+carbonatadas>
- Anzaldúa-Morales, A. (2005). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. (p. 18-19). Zaragoza: ACRIBIA, S. A.
- Anzueto, C. (2012). Vida útil de alimentos. Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2458/VIDA%20ANAQ%20UEL%20CndsSalvador.pdf>
- AOAC (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th ed., Association of Official Analytical Chemists, Arlington VA, pp. 1058-1059.
- Arredondo, B. (2009). Los garambullos una fruta común en el Bajío. Disponible en: <http://vamonosalbable.blogspot.com/2009/08/los-garambullos-una-fruta-comun-en-el.html>
- Arvensis. (2014). ¿Qué importancia tienen los grados Brix en la fruta? Disponible en: <https://www.arvensis.com/blog/que-importancia-tienen-los-grados-brix-en-la-fruta-y-que-son-los-grados-brix/>
- Bembibre. C. (2011). Definición de bebida. Definición ABC. Disponible en: <https://www.definicionabc.com/general/bebida.php>
- Betaller-Venta, M., Santa-Cruz, S., García, M. (2010). *El ozono: una alternativa sustentable en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas*. CENIC, Ciencias Biológicas. 41(3). 155-164.
- Barbosa-Cánovas, G. V. Pothakamury, U. R., Palou. E., Swanson, B. G. (1999). Conservación no térmica de alimentos. Disponible en: <http://www.nib.fmed.edu.uy/Seminario%202006/Trabajos%20estudiantes%202006/Sosa,%20Daniel%20.pdf>
- Barbosa-Cánovas, G. V., Góngora, N. M. M., Swanson, B. G. (2000). Non-thermal electrical methods in food preservation. *Ciencia y Tecnología de Alimentos Internacional* 4 (5) 363-370.
- Cabrera, J. A. (2011). El color: Tono, saturación, brillo e iluminación. Disponible en: <http://tonosatubrilloilu.blogspot.com>
- Calligaris, S., Manzocco, L., Lagazio, C. (2012). Modeling shelf life using chemical, physical and sensory indicators. Ed. Shelf life assessment of food. CRC Press, Florida.
- Casas, A., Valiente-Baruet, A. (2001). Los Recursos Vegetales de Tehuacan-Cuicatlán. *Biodiversitas México* 6. (35)12-14.

- Carrasco, R. R., Encina, Z. C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la Sociedad Química de Perú*, 74(2), 108-124.
- Castaño, J. O. (2019). Los carbohidratos. Disponible en: <http://usbmed.edu.com>
- Castellanos-Santiago, E., Yahia, E. M. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 56, 5758-5764.
- Chandrapala, J., Oliver, C., Kentish, S., Ashokkumar, M. (2012). Ultrasonics in food processing. *Food quality assurance and food safety. Trends in Food Science and Technology* 26(2), 88-98.
- Colorado, P. R., Rivera, J. M. (2019). La química del olor. Universidad Veracruzana. Disponible en: <https://www.uv.mx/cienciuv/blog/quimicadelolor/>
- Corcuera, E. (2019). Tecnologías alternativas en la conservación de alimentos. Disponible en: [http://ctic-cita.es/fileadmin/redactores/cticcita/COMUNICA/congresos-jornadas-ferias/CJF-2011/IV-JITA-CITA/Elena\\_Corcuera.pdf](http://ctic-cita.es/fileadmin/redactores/cticcita/COMUNICA/congresos-jornadas-ferias/CJF-2011/IV-JITA-CITA/Elena_Corcuera.pdf)
- Cordero, B. G. A. (2017). *Análisis Sensorial de los Alimentos*. (p. 129, 139). Madrid: AMV EDICIONES.
- Coronado, H. M. Vega, L. S. (1990). Conservación y Consumo de Recursos Silvestres Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Ciencias Biológicas y de la Salud. UAM-Xochimilco. México. pp. 2-34.
- Coronado, H. M., Vega, L. S., Gutiérrez, T. R., Vázquez, F. M., Radilla, V. C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), 206-212.
- Delgado, O. (2011). Aplicación del ultrasonido en la industria de los alimentos. *Revista especializada en ingeniería de procesos en alimentos y biomateriales*, 6(1), 141-152.
- De la Peña, C. (2010). Artificial sweetener as a historical window to culturally situated health. *Ann N Y Acad Sci.* (1) 159-165. doi 10.1111/j.1749-6632.2009.05253.x
- Domene, R. M., Segura, R. M. (2014). Parámetros de calidad interna de hortalizas y frutas en la industria agroalimentaria. Grupo Cooperativo Cajamar. Disponible en: <http://chilorg.chil.me/download-doc/86426>
- Durán, R. P. (2009). Posibles beneficios del consumo de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) sobre la gastritis tomando como referencia las propiedades curativas del nopal y la sábila. Tesis de ingeniería en ciencia y tecnología de alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila.
- EcoWORLD. (2019). El ozono es el desinfectante y desbacterizante ecológico más potente que existe. Disponible en: <https://www.eco-world.es/ozono>
- Espinoza, A. E. J. (2018). Evaluación de la vida útil de los alimentos (Shelf Life): Efecto de la Temperatura. *Ciencia & Desarrollo*, 1(4), 90-94. doi: <http://doi.org/10.33326/26176033.19996.4.83>

- Food and Agriculture Organization (2000). Key environmental and soil factors influencing productivity and management. *Manual on integrated soil management and conservattion practices*. 5. Roma: IITA.
- Fellows, P. (1994). *Tecnología del procesamiento de los alimentos: principios y prácticas*. p.209. Zaragoza: ACRIBIA.
- Fernández, M. (2012). ¿Cómo influye el color en la percepción de sabor de un producto? AINIA. Disponible en: <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/consumidor/como-influye-el-color-en-la-percepcion-de-sabor-de-un-producto/>
- Franco, T. Y. N., Rojano, B., Alzate, A. A. F., Restrepo, F. C. E., Rivero, B. D. M., Maldonado, C. M. E. (2016). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de productos derivados del fruto agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*). *Alimentos: Ciencia, Ingeniería y Tecnología*, 23(3). doi: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v23n3a04>
- Franco-Vega, A. y López-Malo, P. (2012). Combinación de ultrasonido de baja frecuencia con factores convencionales y/o emergentes como métodos de inactivación de microorganismos en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería en alimentos*. 6(1): 73-83.
- Frazier, W. C., Westhoff, D. C. (1993). *Microbiología de los alimentos* (4ª ed.). Zaragoza: ACRIBIA, S. A.
- Fundación UNAM. (2017). *Bebidas carbonatadas*. Disponible en: <http://www.fundacionunam.org.mx/unam-al-dia/en-mexico-se-consume-163-litros-de-bebidas-carbonatadas-por-persona-al-ano/>.
- Foust, A. S., Wenzel, L. A., Clump, C. W., Maus, L., y Andersen, L. B. (2006). *Principios de operaciones unitarias* (Decima ed.). (F. Torres Roldán, Trad.) México DF: CECSA.
- García, G. A. (2006). Ingesta de nutrientes: Conceptos y recomendaciones internacionales (2a parte). *Nutrición Hospitalaria*, 21(4), 437–447.
- García, B. C., Chacón, V. G., Molina, C. M. (2011). Evaluación de la vida útil de una pasta de tomate mediante pruebas aceleradas por temperatura. *Ingeniería*, 21(2), 31-38. doi:10.15517/RING.V21I2.2683
- García, G. A. S., López, M. G. (2013). Jarabe de agave, alternativa natural. Disponible en: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/68396-jarabe-agave-alternativa-natural>
- García, B.F., Reynoso, C.R. (1998).). Stability of betalains extracted from garmbullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *SAGE journals*. 4(2):115-120. doi: <https://doi.org/10.1177/108201329800400206>
- García, M. E., Fernández, S. I., Fuentes, L. A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. España.
- Giraldo, I. (1999). Métodos de estudio de vida de anaquel en los alimentos. Trabajo de investigación para obtener la categoría de profesor asociado. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ciencias, pp. 96.

- González-Ortiz, A. Guerrero-Beltrán, J. A. (2018). Betalaínas: importancia, presencia en vegetales y sus aplicaciones en la industria alimentaria. Disponible en: <https://tsia.udlap.mx/betalainas-importancia-presencia-en-vegetales-y-sus-aplicaciones-en-la-industria-alimentaria/>
- Guevara, L., Alvarado, D. (2014). Importancia, contribución y estabilidad de antioxidantes en frutos y productos de tomate. *Avances de Investigacion Agropecuaria*, 18(1), 51-66.
- Gutiérrez, D. Avella, O. C., Mendoza, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Memorias del Simposio de Metrología. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Nacional de Querétaro.
- Guzmán, U., Arias, S. y Dávila, P. (2003). *Catálogo de Cactáceas Mexicanas*. Universidad Nacional Autónoma de México y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de Biodiversidad. México, D.F. pp. 315.
- Guzmán-Maldonado, S. H., Herrera-Hernández, G., Hernández-López, D., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Tovar, A., Vaillant, F., Brat, P. (2010). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food Chemistry*, 121(2), 381–386.
- Hernández, A. E. (2005). *Evaluación sensorial*. (1ª ed.). Bogotá: UNAD
- Hernández, M. H. y Godínez, A. H. (1994). Contribución al Conocimiento de las Cactáceas Mexicanas Amenazadas. *Acta Botánica Mexicana* 26:33-52.
- Hernández, M. M. (2017). Receta de tortitas de flor de garambullo. Disponible en: <https://www.recetasgratis.net/receta-de-tortitas-de-flor-de-garambullo-60667.html>
- Hernández, T. D. I. (2018). *Miel de agave como edulcorante en el bizcocho red velvet*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Tenancingo, México.
- Herrera-Hernández, M. G., Guevara-Lara, F., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Maldonado, S. H. (2011). Effects of maturity stage and storage on cactus berr(*Myrtillocactus geometrizans*) phenolics, vitamin C, betalains and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 129(4), 1744–1750. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.06.042
- Herrera, E., Stave, S. (2013). Ecuación de Arrhenius; aplicación de la ecuación de Arrhenius utilizada para la determinación de la vida de los alimentos. Disponible en: [https://www.academia.edu/28030140/Ecuaci%C3%B3n\\_de\\_Arrhenius\\_Aplicaci%C3%B3n\\_de\\_la\\_Ecuaci%C3%B3n\\_de\\_Arrhenius\\_utilizada\\_para\\_la\\_determinaci%C3%B3n\\_de\\_la\\_vida\\_de\\_los\\_alimentos](https://www.academia.edu/28030140/Ecuaci%C3%B3n_de_Arrhenius_Aplicaci%C3%B3n_de_la_Ecuaci%C3%B3n_de_Arrhenius_utilizada_para_la_determinaci%C3%B3n_de_la_vida_de_los_alimentos)
- Herrero, V. (2019). Proteínas vegetales y su importancia en la alimentación de las personas mayores. Disponible en: [https://www.65ymas.com/salud/alimentacion/proteinas-vegetales-importancia-personas-mayores\\_4348\\_102.html](https://www.65ymas.com/salud/alimentacion/proteinas-vegetales-importancia-personas-mayores_4348_102.html)
- ICONTEC (Instituto Colombiano de Normas, Técnicas y Certificación). (2009). Bebidas no alcohólicas. Bebidas gaseosas o carbonatadas. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/50138302/NTC2740>

- Jácome, E. (2019). Bebidas carbonatadas. Disponible en: [https://www.academia.edu/33528926/BEBIDAS\\_carbonatadas](https://www.academia.edu/33528926/BEBIDAS_carbonatadas)
- Jay, J. (2002). *Microbiología moderna de los alimentos* (4ª ed.). Zaragoza: ACRIBIA S. A.
- Jorgensen, A. (1990). *Microbiología de las fermentaciones industriales* (7ª ed.). Zaragoza: Acribia.
- Karel, M., Lund, D. (2003). *Physical Principles of Food Preservation* (2a ed.). USA: Marcel Dekker.
- Konica Minolta. (2019). Como el color afecta su percepción en la comida. Disponible en: <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2013/08/como-el-color-afecta-su-percepcion-en-la-comida/>
- KPMG (2017). Tendencias de la industria refresquera en México-Graficas. Disponible en: [https://home.kpmg/content/dam/kpmg/mx/pdf/2017/01/ANEXO\\_I\\_Gr%C3%A1ficas%20comunicado%20industria%20refresquera%20ene2017.pdf](https://home.kpmg/content/dam/kpmg/mx/pdf/2017/01/ANEXO_I_Gr%C3%A1ficas%20comunicado%20industria%20refresquera%20ene2017.pdf)
- Kuntz, L. (1991). Accelerated Shelf Life Testing. Nueva York: Weeks Publishing Co.
- Lagunas, C. (2019). Correlación y regresión lineal. Disponible en: <http://www.ics-aragon.com/cursos/salud-publica/2014/pdf/M2T04.pdf>
- Lim, M., McFetri, D. J. E., Liesebach, J. (2004). Frozen food components and chemical reactions. Handbook of frozen foods. Marcel Dekker, New York.
- López, S. L. G. (2013). Elaboración, control de calidad y evaluación de la actividad antidiabética de la miel de agave (*Agave americana* L.). Tesis de Bioquímico farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Riobamba.
- López-Palestina, C. U., Aguirre-Mancilla, C. L., Ramírez-Pimentel, J. G., Raya-Pérez, J. R., Santiago-Saenz, Y. O., Gutiérrez-Tlahque, J., Hernández-Fuentes, A. D. (2019). Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en tres estados de madurez de *Myrtillocactus geometrizans* provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4(1), 317-322.
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., Randall. J. (1951). *Biol. Chem.* 193, 265-275.
- Malvais, D. R. E. (2017). Estudio de vida de anaquel en bebidas saborizadas. Tesis de química en alimentos. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca.
- Márquez, B. M. (2014). Refrigeración y congelación de alimentos: terminología, definiciones y explicaciones. Tesis de ingeniería en industrias alimentarias. Universidad de San Agustín. Arequipa.
- McGuire, R.G. (1992). Reporting of objective color measurements, *HortScience*, 27: 1254-1255.
- Monter, C. A. (abril de 2002). Disponible en: [http://redescolar.ilce.edu.mx/redescolar/publicaciones/publi\\_reinos/flora/garambullo/garam.htm](http://redescolar.ilce.edu.mx/redescolar/publicaciones/publi_reinos/flora/garambullo/garam.htm)
- Morata, A. (2010). *Nuevas tecnologías de conservación de alimentos*. 5. Madrid: Cima press

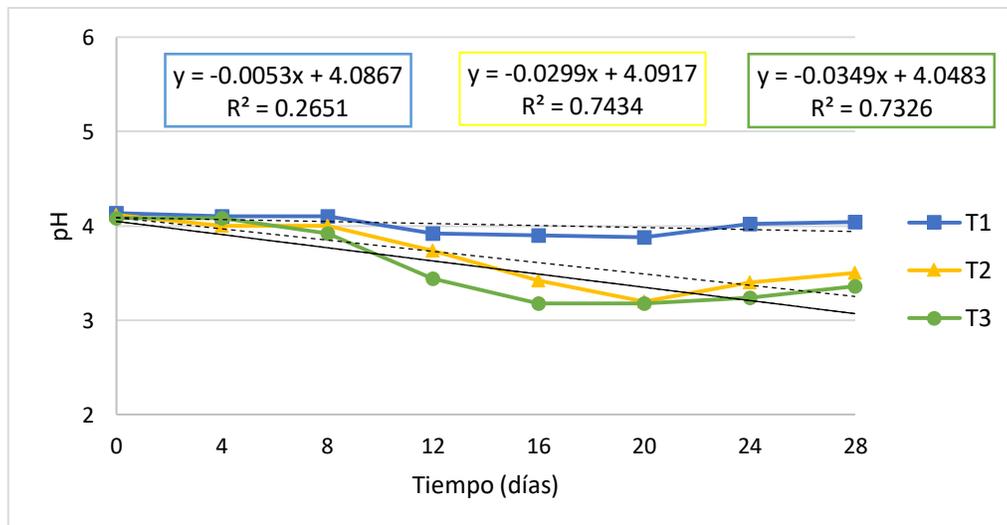
- Moreno, A. M. J., Camacho, B., Douglas, R., Vilorio, M. A. (2002). Degradación de betaínas en remolacha (*Beta vulgaris L.*) estudio cinético. *Científica*, 12(2), 2-10.
- Moreno-Arribas. M. V. (2019). La importancia del color en los alimentos. *Revista alimentaria*. Disponible en: [https://www.revistaalimentaria.es/fotos\\_noticias/PDF4752.pdf](https://www.revistaalimentaria.es/fotos_noticias/PDF4752.pdf)
- National Institutes of Health (2016). Datos sobre la vitamina C <https://ods.od.nih.gov/pdf/factsheets/VitaminC-DatosEnEspanol.pdf>
- Nutrisalud (2018). Delicias mexicanas que vitalizan tu cuerpo. Disponible en: <https://www.ecwid.com/store/tlakuallinutrisalud/Mermelada-de-Garambullo-p115357827>
- Naturalista (2018). Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Disponible en: <https://www.naturalista.mx/taxa/274227-Myrtillocactus-geometrizes>
- NMX-F-066-1978. Determinación de cenizas en alimentos.
- NMX-F-083-1986. Determinación de humedad en productos alimenticios.
- NMX-F-089-S-1978. Determinación de extracto etéreo (método Soxhlet) en alimentos.
- NMX-F-090-S-1978. Determinación de fibra cruda en alimentos.
- NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas.
- NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Determinación de grados Brix.
- NMX-F-312-1978. Determinación de reductores directos y totales en alimentos.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en alimentos.
- NMX-FF-110-SCFI-2008. Productos alimenticios. Jarabe de agave. Especificaciones y métodos de prueba.
- NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
- NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- NOM-218-SSA1-2011, Productos y servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína.
- Norma Técnica de Bebidas Carbonatadas Nicaragua. Disponible en: <http://legislacion.asamblea.gob.ni/Normaweb.nsf/bbe90a5bb646d50906257265005d21f8/3098b5c5a7be1dda0625735d007a87c4?OpenDocument>
- Nuñez de Villavicencio, F. M. (2013). Métodos de estimación de vida útil de los alimentos. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/264933994\\_METODOS\\_DE\\_ESTIMACION\\_DE\\_LA\\_VIDA\\_UTIL\\_DE\\_LOS\\_ALIMENTOS/link/55f08f5208aef559dc46d495/download](https://www.researchgate.net/publication/264933994_METODOS_DE_ESTIMACION_DE_LA_VIDA_UTIL_DE_LOS_ALIMENTOS/link/55f08f5208aef559dc46d495/download)
- Núñez, S. A. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana Salud Pública*, 37(1), 644-660.

- Ochoa, C. E., Guerrero, J. A. (2012). Efecto del Almacenamiento a Diferentes Temperaturas sobre la Calidad de Tuna Roja (*Opuntia ficus indica* L.) Miller. *Información tecnológica*, 23 (1), 117-128. doi: 10.4067/S0718-07642012000100013
- Odar, R. (2008). La importancia del pH en los alimentos. Disponible en: <http://industrias-alimentarias.blogspot.com/2008/03/la-importancia-del-ph-en-los-alimentos.html>
- Pellegrini, N., Re, R., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Me*, 26, 1231–1237.
- Pérez, G. S. (1995). Agroecological Study and Determination of Yield Potential of Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *HortScience*, 11-27.
- Pérez, G. (1999). Estudio etnobotánico, ecológico y de usos potenciales del Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) como base para su domesticación y cultivo. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología; 15-19.
- Pineda, D. (2019). Campos eléctricos pulsados en la preservación de alimentos. Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/2400/Campos%20electricos%20pulsados%20en%20la%20preservacion%20de%20alimentos.pdf>
- Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87, 207-216.
- Polk, C., Postow, E. (1990). Handbook of Biological. Effects electromagnetic fields. Ed. Ademic Press, Florida, EUA.
- Porras, L. P., López, M. A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos*, 3(1), 121-134.
- Red Institucional de Tecnologías Limpias. (2019). *Red Institucional de Tecnologías Limpias*. Disponible en: [http://www.tecnologiaslimpias.org/html/central/313403/313403\\_proc.htm#PROC ESODEPRODUCCION](http://www.tecnologiaslimpias.org/html/central/313403/313403_proc.htm#PROC ESODEPRODUCCION)
- Rivas, S. I. M. (2007). Ultrasonido en los procesos de conservación de alimentos líquidos. Maestría en ciencias de desarrollo sostenible. Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. Estado de México.
- Rojas, R. (2012). Disponible en: <https://cronicasgastronomicas.wordpress.com/tag/grados-brix/>
- Rondón, E., Pacheco, E., Ortega, F. (2004). Estimación de la vida útil de un análogo comercial con mayonesa utilizando el facto de aceleración  $Q_{10}$ . *Revista de facultad de Agronomía*, 21(1). 83.
- Rodríguez-Riera, Z., Robaina-Mesa, M., Jáuregui-Haza, U., Blanco-Gonzalez, A., Rodríguez-Chanfrau, J. E. (2014). Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. Estado actual y perspectivas. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 45(1). 139-147.
- Quetglas, M. (2015). El sabor es más importante que el precio en un alimento. La Rioja. Disponible en: <https://www.degustalarioja.com/noticias/201510/03/sabor-importante-precio-alimento-20151003004935-v.html>

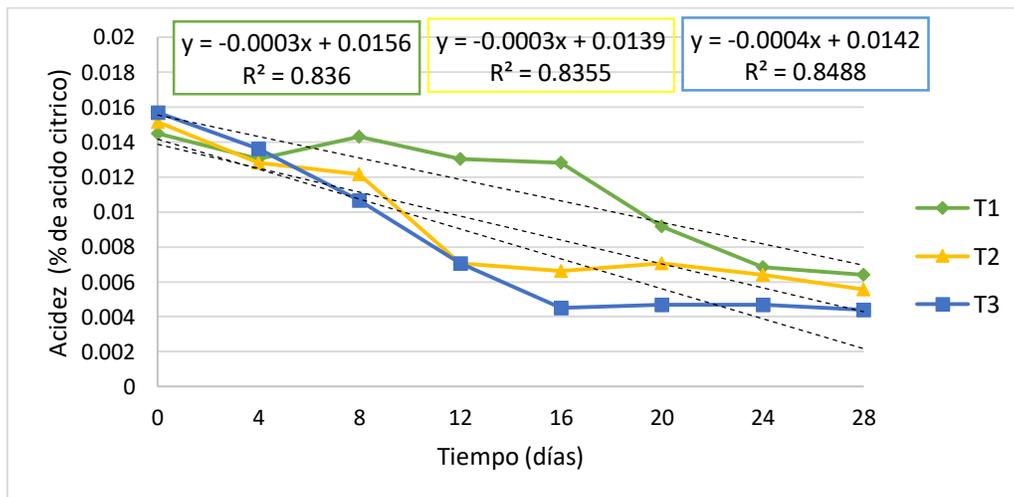
- QuimiNet. (2007). *La importancia de la fibra en la alimentación*. Disponible en: <https://www.quiminet.com/articulos/la-importancia-de-la-fibra-en-la-alimentacion-21122.htm>
- Saavedra, W. (2018). Mejore su marca y evite el deterioro de alimentos con tecnología HPP. Disponible en: <http://www.elempaque.com/temas/Mejore-su-marca-y-evite-el-deterioro-de-alimentos-con-tecnologia-HPP+125807>
- Salinas, L. J. R., (2002). Elaboración de una bebida saborizada con base en agua y sabores artificiales de frutas. Tesis de Ingeniería en Agroindustria. Escuela Agrícola Panamericana. Honduras.
- Sánchez, G. G., Cota, H. J., Flores, E. H., Dorantes, M. C., Romero, D. C., Romo, M. M. y Melgar, B. L. A. (2016). Políticas Publicas Eficaces para Evitar la Extinción de la cactácea *Myrtillocactus geometrizans*-Garambullo- Ciudad de México.
- Sánchez, R. (2018). Tierra Blanca, Guanajuato, México. Tarugos de garambullo de Ademira García. Disponible en: <https://cocinandoconrita.com/tierra-blanca-guanajuato-mexico-tarugos-garambullo-ademira-garcia/>
- Schvab, M. C., Ferreyra, M. M., Gerard, L. M., Davies, C. V. (2013). Parámetros de calidad de jugos de naranja entrerrianas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 14(1), 85-92.
- Secretaria de Economía. (2014). *Industria refresquera en México*. Sitio web: <https://www.gob.mx/se/articulos/industria-refresquera-en-mexico>
- Silva, P., Duran, S. (2014). Bebidas azucaradas, más que un simple refresco. *Revista chilena de nutrición*. 41(1): 90-97.
- Suárez. R. (2001). Conservación de alimentos por irradiación. *INVENIO*. 86-124.
- Téllez, L. S., Ramírez, J.A., Pérez, L. C., Vázquez, M. y Simal, G. J. (2001). Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 3(2), 66-80.
- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M., Fazzari, M., M.A. Livrea, M. A. (2005). Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(1), 1266- 1270.
- Topete, R. (2006). Caracterización química y evaluación del efecto hipoglucemiante y antioxidante del fruto de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Maestro en ciencia y tecnología de los alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro.
- Torres, R., Montes, E. J., Pérez, O. A., Andrade, R. E. (2013). Relación del color y del estado de madurez con las propiedades fisicoquímicas de frutas tropicales. *Información Tecnológica*, 24(3), 51-56, doi: S0718-0764201300030000
- Trejo, M. (2010). Nuevas tecnologías para conservación de productos vegetales. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Usquiano, L. (2017). Efecto fotoeléctrico y espectro de luz visible. Fecha de consulta: agosto de 2019. Disponible en: <http://cienciaensanmiguelseptimo.blogspot.com/2017/08/efecto-fotoelectrico-y-espectro-de-luz.html>

- Valdés, S. E. (2006). Hidratos de Carbono. En: Badui, D. S. *Química de los alimentos*. (p. 29-35). México: PEARSON EDUCACIÓN.
- Vázquez-Cruz, M. A., Jiménez-García, S. N., Miranda-López, R., Guzmán-Maldonado, S. H. (2018). Caracterización de los compuestos responsables del aroma del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Disponible en: <https://studylib.es/doc/6507533/caracterizaci%C3%B3n-de-los-compuestos-responsables-del-aroma-de>
- Villareal, Y., Mejía, D., Osorio, O., Cerón, A. (2013). Efecto de pasteurización sobre características sensoriales y contenido de vitamina C en jugos de frutas. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(2). 66-75.
- Zenteno-Ramírez, G., Juárez-Flores, B. I., Aguirre-Rivera, J. R., Ortiz-Perez, M.D., Zamora-Pedraza, C., Rendon-Huerta, J. A. (2015). Evaluación de azúcares y fibra soluble en el jugo de variantes de tunas (*Opuntia* spp.). *Agrociencia*, 49(2). 141-152.

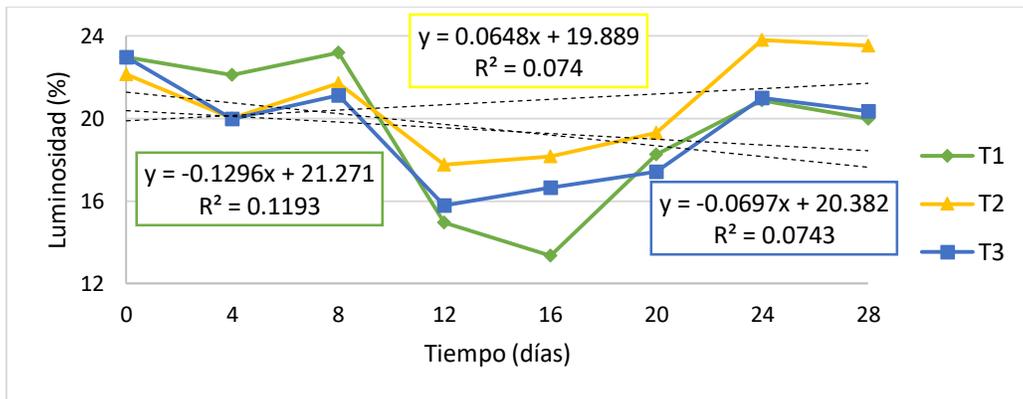
9. ANEXOS



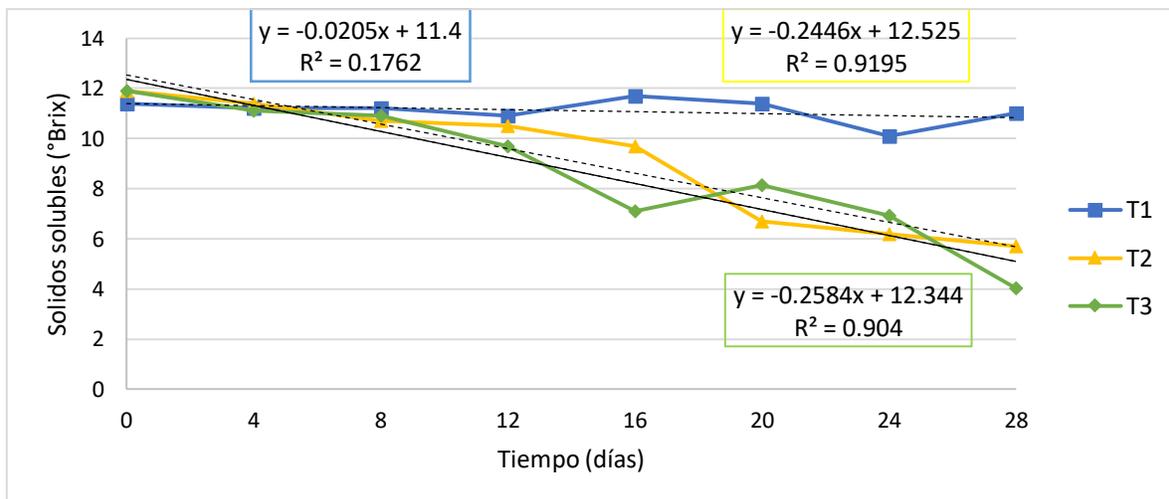
Anexo 1. Comportamiento del deterioro del pH de la bebida carbonatada de garmbullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



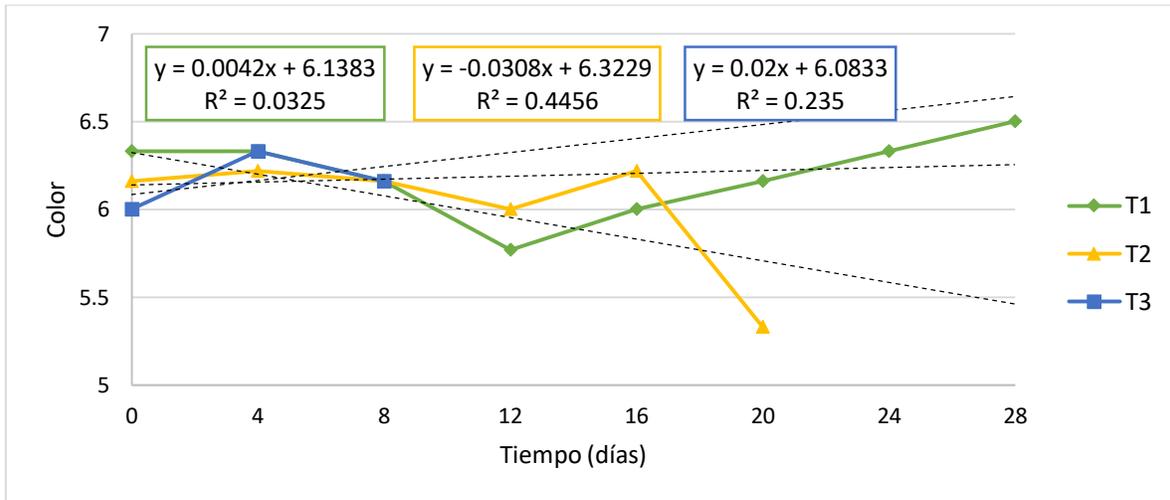
Anexo 2. Comportamiento del deterioro de la acidez de la bebida carbonatada de garmbullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



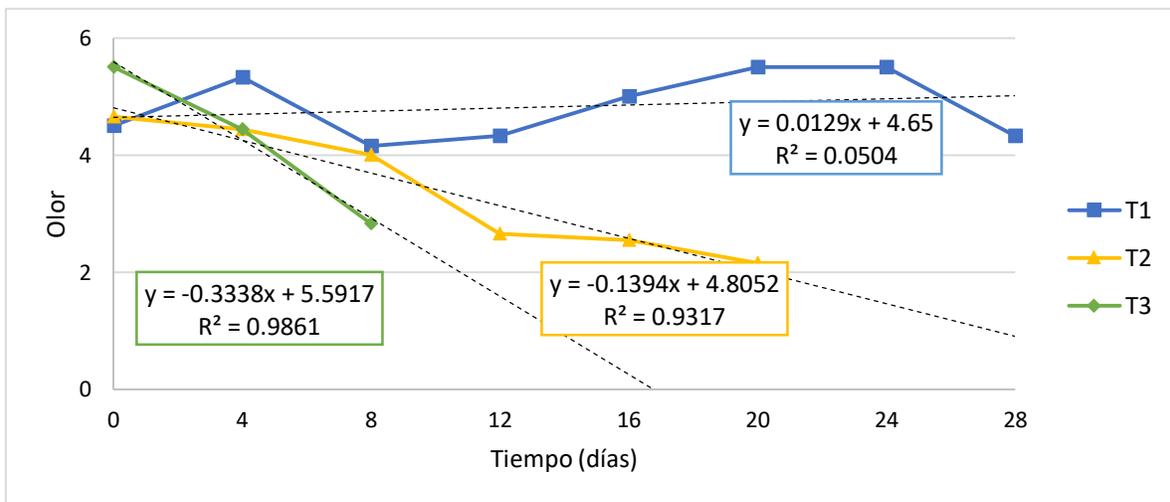
**Anexo 3.** Comportamiento del deterioro de la luminosidad de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



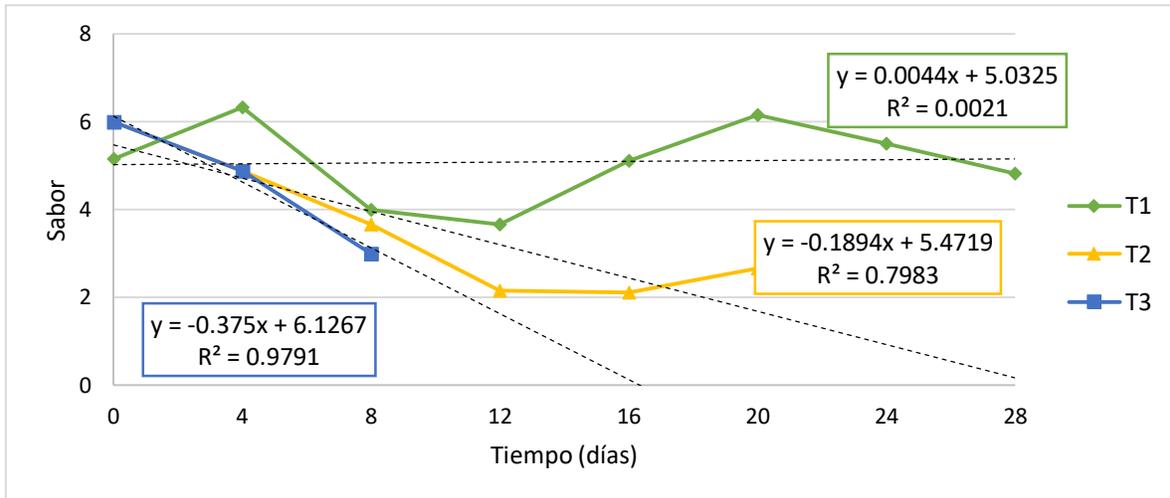
**Anexo 4.** Comportamiento del deterioro de los sólidos solubles de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



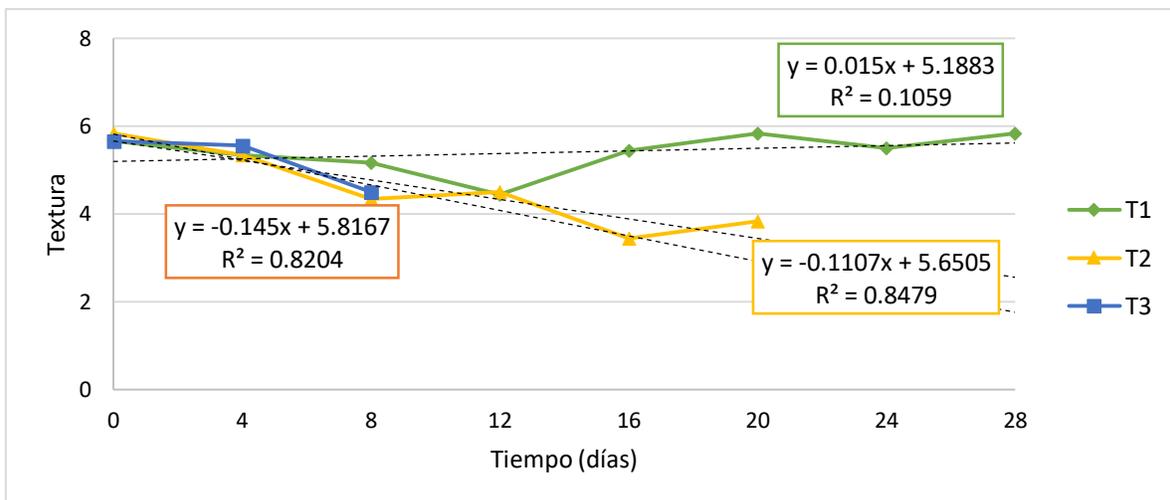
**Anexo 5.** Comportamiento del deterioro del color de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



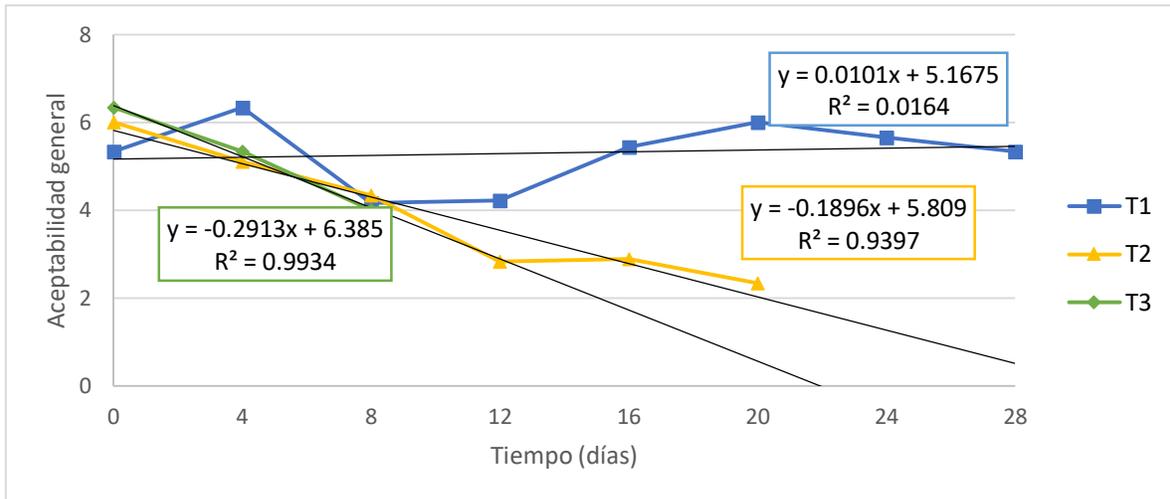
**Anexo 6.** Comportamiento del deterioro del olor de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



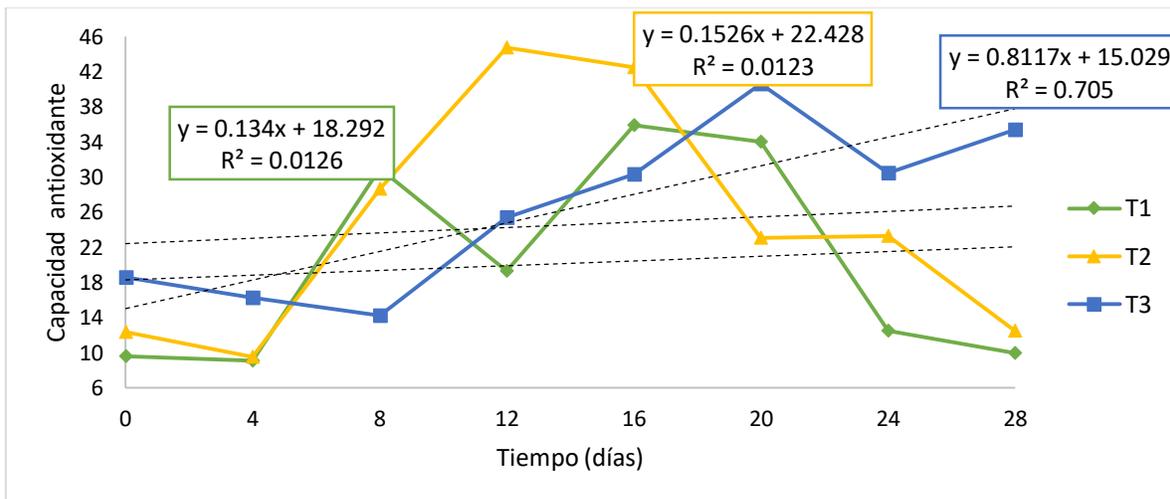
**Anexo 7.** Comportamiento del deterioro del sabor de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



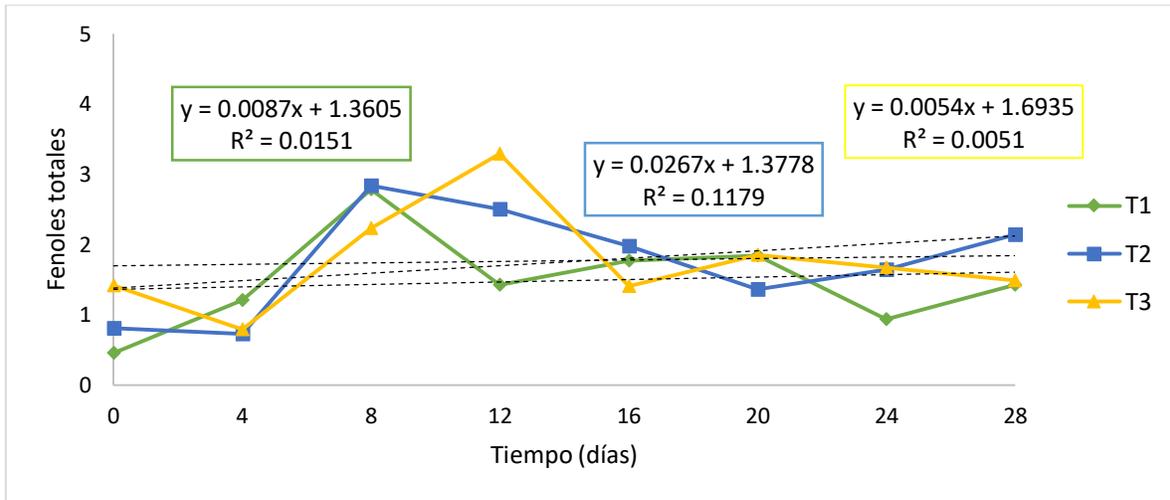
**Anexo 8.** Comportamiento del deterioro de la textura de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



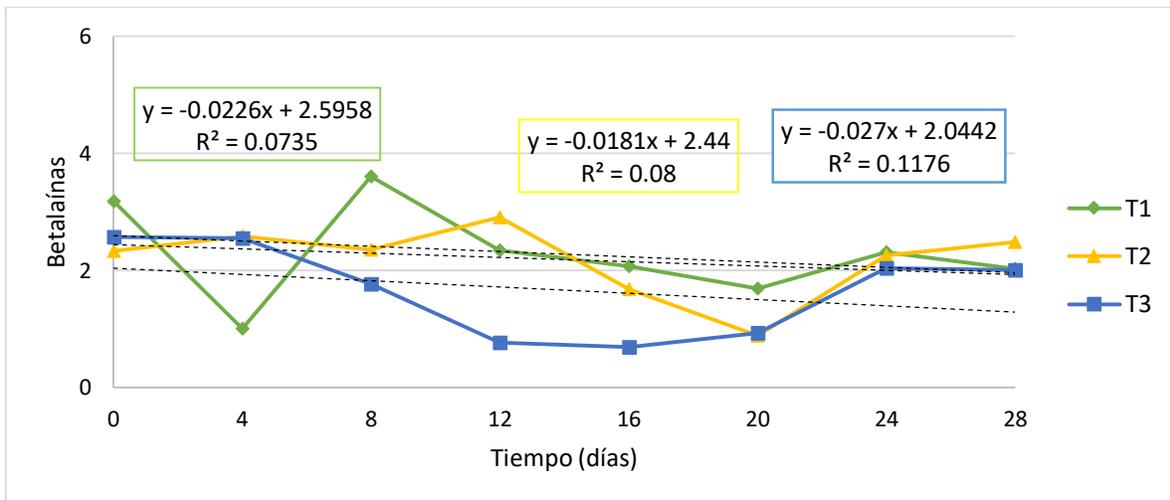
**Anexo 9.** Comportamiento del deterioro de la aceptabilidad general de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



**Anexo 10.** Comportamiento del deterioro de la capacidad antioxidante de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



**Anexo 11.** Comportamiento del deterioro de los fenoles totales de la bebida carbonatada de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.



**Anexo 12.** Comportamiento del deterioro de las betalaínas de la bebida carbonatada de garambullo de primer orden a diferentes temperaturas de almacenamiento.