

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE LA SONICACIÓN SOBRE LOS
MICRONUTRIENTES Y EL COLOR DEL JUGO DE PIÑA (*Ananas
comosus*) PULPOSO

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del
Programa de Posgrado en Ciencia de Alimentos para optar al grado y título
de Maestría Académica en Ciencia de Alimentos

RANDALL CORDERO MADRIGAL

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2023

Dedicatoria

A Dios todopoderoso porque me regala la vida y la oportunidad de ser una mejor persona cada día.

A toda mi familia, especialmente a mis padres y hermanos por su apoyo incondicional y ser un pilar en mi vida.

A mi hermosa esposa Ashly por todo el cariño y el amor que me brinda día con día y por ayudarme e impulsarme a terminar este proyecto, porque es en gran parte a su apoyo y motivación que lo pude culminar.

A cada una de las personas que creen en mí les dejo una vez más una muestra del poder y el amor de Dios en mi vida, quedando una vez más demostrado que él nunca nos abandona.

Agradecimientos

A Jesucristo nuestro salvador por darme las fuerzas, la valentía y ser el guía de mi vida y mi camino.

A mi esposa Ashly por ser mi gran motivación, la que me apoya, me impulsa, me llama la atención y por supuesto por ser mi otra mitad y mi ayuda idónea en todo momento... Te amo con todas las fuerzas de mi corazón.

A mis padres William y Sandra porque siempre me han apoyado y creído en mí, los amo papitos.

A mis hermanos, mi abuelita que en paz descansa ya y el resto de la familia, que compartieron mi lucha y mis esfuerzos día con día, siendo un apoyo incondicional siempre.

A Floribeth por motivarme, ayudarme e impulsarme a estudiar la Maestría cuando era directora del CITA.

A los profes de la Maestría, especialmente a Patricia, Eric, Ana Mercedes y María Lourdes que me enseñaron y ayudaron siempre a crecer como profesional y como persona.

A Ana Mercedes, Fabrice, Carolina Cortés y Eric Wong por creer en mí, por su dedicación, paciencia, comprensión y por ayudarme a alcanzar esta meta y a crecer como profesional y como persona.

Muy especialmente a Carolina Rojas, quien me ayudó, me impulsó y creyó en mí, gracias infinitas hasta el cielo y que de Dios goce la gloria eterna.

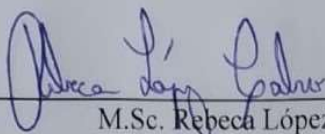
A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Química, Graciela, Carolina, Lizeth, Eduardo, Silvia, Deysi, Jose Pablo, Laura, Irvin, Ale y a doña Marielos, por su invaluable ayuda siempre y su gran disposición en todo momento.

A Vanny Mora del Lab de Micro del CITA y a mi compa Marito por su tiempo y apoyo en la recta final de esta tesis, muchísimas gracias de veras.

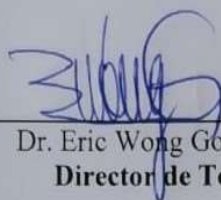
Al resto de mis compañeros del CITA, gracias por todo el apoyo.

A mis amigos y personas especiales que siempre estuvieron ahí presentes de una u otra forma ayudándome o apoyándome cuando los necesitaba, gracias de verdad.

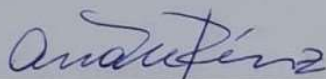
“Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Ciencia de Alimentos de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Académica en Ciencia de Alimentos.”



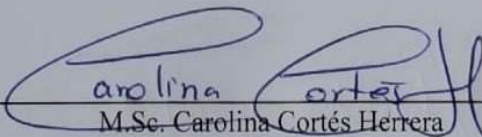
M.Sc. Rebeca López Calvo
**Representante de la Decana
Sistema de Estudios de Posgrado**



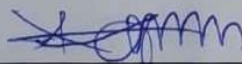
Dr. Eric Wong González
Director de Tesis



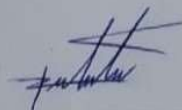
Dra. Ana Mercedes Pérez Carvajal
Asesora



M.Sc. Carolina Cortés Herrera
Asesora



Dr. Marvin Soto Retana
**Representante de la Directora
Programa de Posgrado en Ciencia de Alimentos**



Randall Cordero Madrigal
Sustentante

Tabla de contenido

Dedicatoria	ii
Agradecimientos.....	iii
Hoja de aprobación.....	iiiv
Tabla de contenido.....	v
Resumen.....	ix
Abstract.....	xi
Índice de cuadros	xiii
Índice de figuras.....	xiv
Lista de abreviaturas	xvi
1. JUSTIFICACIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	7
2.1. <i>Objetivo general</i>	<i>7</i>
2.2. <i>Objetivos específicos.....</i>	<i>7</i>
3. MARCO TEÓRICO.....	8
3.1. <i>Características agronómicas de la piña.....</i>	<i>8</i>
3.2. <i>Producción e historia de la piña en Costa Rica.....</i>	<i>8</i>
3.3. <i>Comercialización de la piña.....</i>	<i>11</i>
3.3.1. <i>Exportación.....</i>	<i>11</i>

3.3.2.	<i>Consumo nacional</i>	15
3.4.	<i>Jugos de frutas</i>	15
3.4.1.	<i>Producción de jugos pulposos</i>	17
3.5.	<i>Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante</i>	18
3.5.1.	<i>Alimentos funcionales</i>	18
3.5.2.	<i>Antioxidantes y radicales libres</i>	18
3.5.2.1.	<i>Polifenoles</i>	19
3.5.2.2.	<i>Vitamina C</i>	23
3.5.2.3.	<i>Carotenoides</i>	26
3.5.3.	<i>Desarrollo de radicales libres en el organismo</i>	30
3.5.4.	<i>Mecanismos de acción de los compuestos antioxidantes</i>	31
3.5.4.1.	<i>Capacidad antioxidante</i>	32
3.5.5.	<i>Biodisponibilidad de los antioxidantes</i>	34
3.5.6.	<i>El procesamiento térmico y la actividad antioxidante</i>	36
3.5.6.1.	<i>Pasteurización</i>	37
3.6.	<i>Tecnologías no térmicas</i>	45
3.6.1.	<i>El ultrasonido</i>	45
3.6.1.1.	<i>Aplicaciones de sonicación en la industria de alimentos</i>	47
3.6.1.2.	<i>Efecto de la sonicación sobre la calidad de los alimentos</i>	50
4.	METODOLOGÍA	54
4.1.	<i>Localización</i>	54
4.2.	<i>Obtención y características de la materia prima</i>	54
4.3.	<i>Tratamiento con ultrasonido en jugo pulposo de piña</i>	55

4.4.	<i>Métodos de análisis</i>	57
4.4.1.	<i>Determinación de vitamina C</i>	57
4.4.2.	<i>Determinación de polifenoles totales</i>	58
4.4.3.	<i>Determinación de capacidad antioxidante hidrofílica por el método H-ORAC</i> <i>60</i>	60
4.4.4.	<i>Determinación de carotenoides totales</i>	61
4.4.5.	<i>Determinación de color</i>	62
4.5.	<i>Diseño experimental y análisis estadístico</i>	63
4.5.1.	<i>Efecto del tiempo de sonicación sobre el color, el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante del jugo de piña pulposo</i>	63
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
5.1.	<i>Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C</i>	65
5.1.1.	<i>Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C total</i>	65
5.1.2.	<i>Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de ácido ascórbico</i>	67
5.2.	<i>Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de polifenoles totales</i>	73
5.3.	<i>Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC)</i>	78
5.4.	<i>Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el contenido de carotenoides totales</i>	84
5.5.	<i>Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre los parámetros de color y la diferencia total de color (ΔE)</i>	90

5.5.1. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre los parámetros de color (CIELab).....	90
5.5.2. Efecto del tiempo de sonicación sobre la diferencia total de color (ΔE).	98
6. CONCLUSIONES	101
7. RECOMENDACIONES	104
8. BIBLIOGRAFÍA	107
9. ANEXOS.....	139

Resumen

En este estudio, el jugo pulposo de piña (*Ananas comosus*) se sometió a sonicación a un nivel de amplitud del 40% (24,4 μ), a una intensidad de 39,4 W/cm², con un flujo continuo y una frecuencia constante de 20 kHz para los tiempos efectivos de sonicación elegidos (4, 8, 12, 16 y 20) min y manteniendo la temperatura a 25 (\pm 2) °C.

Con el objetivo de evaluar el efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de compuestos bioactivos del jugo pulposo de piña se determinaron: vitamina C total, ácido ascórbico (AA), carotenoides y polifenoles totales, así como la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC). También se midieron los valores de color en la escala Cielab (L*, a*, b*), además de calcular el Chroma (C*), Hue (H*) y la diferencia total de color (ΔE) para el jugo.

No se observó un efecto significativo del tiempo efectivo de sonicación ($p > 0,05$) sobre las pérdidas promedio del H-ORAC ($p > 0,8378$; $1-\beta = 0,1000$), polifenoles totales ($p > 0,8809$; $1-\beta = 0,1128$), ni tampoco en las variables del color a* ($p > 0,2274$; $1-\beta = 0,22$), el tono (H*) ($p > 0,8171$; $1-\beta = 0,9418$) y L* ($p > 0,4620$; $1-\beta = 1$) en el jugo pulposo de piña.

Para las pérdidas promedio de vitamina C total ($p < 0,0015$), el AA ($p < 0,0003$) y carotenoides totales ($p < 0,0001$) se obtuvo un efecto significativo respecto a los tiempos de sonicación. En general, a medida que se aumenta el tiempo de sonicación (variable continua) las pérdidas promedio de estos compuestos bioactivos son mayores.

Se encontró un efecto significativo ($p < 0,05$) del tiempo efectivo de sonicación sobre los parámetros de color Chroma (C*) ($p < 0,0001$), el valor b* ($p < 0,0001$) y el ΔE ($p < 0,0001$).

Tanto la saturación o pureza (C*), como el valor de b* (azul-amarillo) descienden a medida que se aumentan los tiempos de sonicación del jugo pulposo de piña, por lo que disminuye su intensidad de coloración amarilla. Este comportamiento puede ligarse a las pérdidas en los carotenoides totales mencionadas anteriormente, ya que estos son antioxidantes naturales responsables de la coloración natural amarilla en el jugo de piña.

Los hallazgos del presente estudio sugieren que el tratamiento de sonicación podría emplearse como una técnica adecuada para el procesamiento o conservación (acoplada a otra técnica) del jugo pulposo de piña a diferentes tiempos de sonicación, ya que puede presentar muy buenas retenciones (del 90% o más) en algunos de sus compuestos bioactivos (vitamina C -ácido ascórbico- y polifenoles totales) así como la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC). Los carotenoides totales si presentan pérdidas promedio importantes y las mismas se ven reflejadas en los parámetros de color.

En general, se concluye que la sonicación puede emplearse con éxito como una tecnología no térmica de conservación, con la cual se puede obtener un jugo con una mejor calidad desde el punto de vista sensorial (color) y funcional, lo que favorece la salud del consumidor, ya que el tratamiento puede lograr la inactivación de enzimas y una mejor extracción (compuestos ligados a componentes de la pared celular como los polifenoles, por ejm) y retención de compuestos bioactivos. Es importante mencionar, que además el ultrasonido (US) se puede utilizar como una tecnología para reducir la carga microbiana (5log) del jugo, pero acompañado de otras tecnologías o utilizando tratamientos térmicos más leves.

Abstract

During this study, the pulpy pineapple juice (*Ananas comosus*) was treated under sonification using an amplitude level of 40% (24,4 μ), a intensity of 39,4 W/cm², continuous flow, constant frequency of 20 kHz for the sonification effective times chosen (4, 8, 12, 16 and 20) min and setting the temperature to 25 (\pm 2) C.

With the idea of evaluating the effective sonification time and its effect on average content loss of bioactive compounds of the pulpy pineapple juice, it was determined: total vitamin C, ascorbic acid, carotenoids and total polyphenols, and the hydrophilic antioxidant capacity (H-ORAC). Also values of color using CieLab scale (L*, a*, b*), Chrome (C*), Hue (H*) and the difference for the total color (ΔE) values for the juice.

No significant effect was observed during the effective sonification time ($p > 0,05$) for the average losses of H-ORAC ($p > 0,8378$; $1-\beta = 0,1000$), total polyphenols ($p > 0,8809$; $1-\beta = 0,1128$) or color variables a* ($p > 0,2274$; $1-\beta = 0,22$), tone (H*) ($p > 0,8171$; $1-\beta = 0,9418$) and L* ($p > 0,4620$; $1-\beta = 1,0000$) for pulpy pineapple juice.

Total average losses for vitamin C ($p < 0,0015$), AA ($p < 0,0003$) and total carotenoids ($p < 0,0001$) where it was found a significant effect in regard to the effective sonification times. In general, as the effective sonification time increases (continue variable) the average losses for the bioactive components are higher.

It was found a significative effect ($p < 0,05$) for the effective sonification time over the color parameters, Chroma (C*) ($p < 0,0001$), value b* ($p < 0,0001$) and the ΔE ($p < 0,0001$). Both, saturation (C*) and value b* (blue-yellow) decrease when with the sonification time increases for the pulpy pineapple juice, that is the yellow color intensity decreases. This behavior can be related to the lost in the total amount of carotenoids as it was mentioned previously, since this natural antioxidants are responsible of the yellow coloration on the pineapple juice.

The findings on this study suggest that sonification treatment could be applied as a technique for the adequate processing or preservation (coupled with another preservation

method or technique) of the pulpy pineapple juice using different times of sonication because it was observed good retentions (90% or more) of some bioactive compounds (Vitamin C – Ascorbic acid and total polyphenols) and the hydrophilic antioxidant capacity (H-ORAC). The total carotenoids present important average losses and that is reflected in the color parameters.

In general, it is concluded that the sonification can be successfully applied as a non-thermic technology for preservation, which allows to obtain juice with a better quality to from a sensory and functional point of view, that promotes consumer health sine the treatment can reach the enzymes inactivation and a better extraction (compounds related to cellular wall as polyphenols) and retention of bioactive compounds. It is important to highlight that the ultrasound (US) can be used as a technology to reduce the juice macrobian amount (5log), but in conjunction with other techniques or using or using low heat treatments.

Índice de cuadros

Cuadro 1. Exportaciones de piña a partir del 2013 en millones de dólares y % de variaciones anuales.....	13
Cuadro 2. Propósito de la pasteurización en algunos alimentos.....	38
Cuadro 3. Efecto del procesamiento térmico en el contenido de compuestos bioactivos de algunas frutas exóticas.....	39
Cuadro 4. Cambios en la actividad antioxidante global de los alimentos debido al tratamiento térmico en operaciones de procesamiento y preservación.	44
Cuadro 5. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C total de un jugo pulposo de piña (n=3).	66
Cuadro 6. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de ácido ascórbico de un jugo pulposo de piña (n=3).	67
Cuadro 7. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de polifenoles totales de un jugo pulposo de piña (n=3).	73
Cuadro 8. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio de la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC) de un jugo pulposo de piña (n=3).	80
Cuadro 9. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de carotenoides totales de un jugo pulposo de piña (n=3).....	85
Cuadro 10. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor b* en un jugo pulposo de piña (n=3).....	92
Cuadro 11. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor C* en un jugo pulposo de piña (n=3).....	93
Cuadro 12. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor Hue en un jugo pulposo de piña (n=3).....	93
Cuadro 13. Efecto del tiempo efectivo de sonicación en la diferencia total de color (ΔE) en un jugo pulposo de piña (n=3).....	99

Índice de figuras

Figura 1. Estructura química general de algunos carotenoides (Modificado de Lee <i>et al.</i> , 2004).	26
Figura 2. Efectos de las especies reactivas del oxígeno (ROS) para el organismo (Modificado de Lee <i>et al.</i> , 2004).	31
Figura 3. Cambios en la actividad antioxidante global debido a eventos diferentes y simultáneos en una matriz alimentaria sometida a calentamiento (Modificado de Nicoli <i>et al.</i> , 1999).	44
Figura 4. Mecanismo de daño celular inducido por el US (Modificado de Chemat <i>et al.</i> , 2011).	47
Figura 5. Esquema sobre la obtención del jugo de piña pulposo.....	55
Figura 6. Sistema de sonicación directa con recirculación (Modificado de Wong <i>et al.</i> , 2010).	57
Figura 7. Caída de la intensidad de fluorescencia (FI) para diferentes patrones de trolox (Modificado de Prior <i>et al.</i> , 2005).	61
Figura 8. Coordenadas de color en el sistema Hunter Lab (Mathias-Rettig, & Ah-Hen, 2014).	63
Figura 9. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C total de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).	66
Figura 10. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de ácido ascórbico de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).	68
Figura 11. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de polifenoles totales de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).	74
Figura 12. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio de la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC) de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).	80

Figura 13. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de carotenoides totales de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).	85
Figura 14. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor b* de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).....	92
Figura 15. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor C* de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).....	93
Figura 16. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor Hue de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).....	94
Figura 17. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la diferencia total de color (ΔE) de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).....	99

Lista de abreviaturas

ΔE : diferencia total de color.

AA: Ácido ascórbico.

AAE: Ácido ascórbico equivalente.

AAPH: Cloruro de 2,2'-azobis-2-amidinopropano

ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) -6-sulfónico

ANDEVA: Análisis de Varianza.

AOAC: *Association of Official Analytical Chemists.*

BS: Base seca.

BH: Base Húmeda.

CANAPEP: Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña.

CIPRONA: Centro de Investigaciones en Productos Naturales.

CIRAD: *Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement.*

CITA: Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

CNP: Consejo Nacional de Producción.

DHAA: Ácido dehidroascórbico.

DPPH: 2,2 Difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil) hidrazilo.

ERYCA: *Erythrocyte Cellular Antioxidant Activity.*

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

FDA: *Food and Drug Administration.*

GAE: Ácido Gálico Equivalente.

H-ORAC: *Hydrophilic Oxygen radical absorbance capacity.*

HPLC: *High Performance Liquid Chromatography.*

INCAE: Instituto Centroamericano de Administración de Empresas.

JMP4: Programa estadístico.

kHz: kilohertz.

MD2: piña amarilla o piña dorada.

mM: Milimolar.

MO: Microorganismos.

nm: Nanómetros.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity.

PEF: Campos de pulsos eléctricos.

PROCOMER: Promotora de Comercio Exterior.

REDOX: Reacciones de reducción-oxidación.

ROS: Especies reactivas del oxígeno.

TE: Trolox equivalente.

TEAC: *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*.

Trolox: Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico.

UCR: Universidad de Costa Rica.

US: Ultrasonido.

US\$: Dólares americanos.

USA: Estados Unidos.

UV: Ultravioleta.

β -caroteno E: beta- caroteno equivalente.

μ g: Microgramos.

μ m: Micrómetros.

μ mol: Micromoles.

W: Watts.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Randall Cordero Madrigal, con cédula de identidad 1-11840567, en mi condición de autor del TFG titulado Evaluación del impacto de la sonificación sobre los micronutrientes y el color del jugo de piña (Ananas comosus) pulposo.

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

1. JUSTIFICACIÓN

En los últimos años, un nuevo paradigma “dieta-salud” ha provocado un mayor énfasis en los aspectos positivos de la dieta. En él se ha asumido el estatus de “funcional” para muchos alimentos debido a la presencia de compuestos que pueden ser capaces de proporcionar un beneficio fisiológico adicional al consumidor. Uno de estos beneficios es el de prevenir la aparición de enfermedades crónicas y no solo satisfacer las necesidades nutricionales básicas diarias (Kaur & Kapoor, 2001). En el presente siglo aumentó el interés por explotar el potencial de los alimentos en términos de sus beneficios para la salud por las actividades biológicas y efectos antimicrobianos que pueden mostrar (Ross & Kasum, 2002; Sies & Stahl, 2004; Scalbert *et al.*, 2005a; Wu *et al.*, 2005).

Los fitoquímicos presentes en las frutas y hortalizas han atraído una gran atención, principalmente por el efecto en la prevención de las enfermedades causadas como resultado del estrés oxidativo. El estrés oxidativo libera radicales libres de oxígeno en el cuerpo y ha sido implicado en una serie de trastornos como el mal funcionamiento cardiovascular, cataratas, ciertos tipos de cáncer, reumatismo, diabetes, enfermedades inflamatorias, trastornos del sistema nervioso central y muchas otras enfermedades autoinmunes, además del envejecimiento (Shahidi, 1997; Dillard & German, 2000; Prior & Cao, 2000; Wargovich, 2000; Velázquez *et al.*, 2016, Gonçalves *et al.*, 2018). Además, estos compuestos también contribuyen con la disminución de la resistencia a la insulina, por lo tanto, también tienen funcionalidad en la protección contra la diabetes (Barreca *et al.*, 2017; Barreca *et al.*, 2020). En general estos compuestos fortalecen el sistema inmunológico, lo cual contribuye con un buen estado de salud para hacer frente a cualquier enfermedad (Gonçalves *et al.*, 2018).

Existen diversos tipos de compuestos bioactivos como los carotenoides, polifenoles, vitaminas, betacianinas, entre otros, los cuales contrarrestan este estrés oxidativo y previenen los trastornos mencionados. Además, se les asocia con la prevención de enfermedades como infecciones respiratorias agudas, psoriasis, alergias, asma, artritis, entre otras (Velázquez *et al.*, 2016). Resulta importante destacar que las frutas y los jugos

de fruta juegan un papel importante en la dieta humana ya que contienen compuestos bioactivos naturales que proporcionan protección contra el daño celular causado por la exposición a altos niveles de radicales libres (Prior & Cao, 2000, Gonçalves *et al.*, 2018).

Día a día aumenta la evidencia científica y epidemiológica que asocia la dieta rica en frutas y jugos de fruta con la reducción del riesgo de padecer enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Moyer *et al.*, 2002; Donaldson, 2004; Wu *et al.*, 2004; Gonçalves *et al.*, 2004; Kuskoski *et al.*, 2005).

Por todos los beneficios mencionados, la demanda de los consumidores por productos alimenticios frescos o mínimamente procesados ha aumentado de forma acelerada (Noci *et al.*, 2008; Tiwari *et al.*, 2009a). Sin embargo, debido a la limitada vida útil de los frutos, surge la necesidad del desarrollo de tecnologías de procesamiento que permitan la inactivación de enzimas y microorganismos patógenos o de deterioro, pero que a la vez conserven los compuestos bioactivos presentes naturalmente en la fruta, además de sus características sensoriales. Los procesos de conservación de jugos deben diseñarse para preservar la calidad nutricional y sensorial. Por este motivo esta industria no puede quedarse atrás y ha tenido que desarrollarse y tecnificarse para atender las necesidades del mercado a nivel mundial (Noci *et al.*, 2008; Chemat *et al.*, 2011, Barreca *et al.*, 2020).

Se ha determinado que el procesamiento de los alimentos, en especial la aplicación de tratamientos térmicos, pueden causar efectos no deseados en su calidad nutricional, tales como la pérdida de vitaminas, propiedades sensoriales como el color, sabor o aromas y la degradación de los polifenoles y carotenoides u otros compuestos con capacidad antioxidante (Choi & Nielsen, 2005; Dhuique-Mayer *et al.*, 2007; Cisse *et al.*, 2009; Chemat *et al.*, 2011). La pasteurización o esterilización son tratamientos térmicos que tienen la importante ventaja de garantizar la inocuidad de los alimentos y su conservación prolongada, debido a su efecto destructivo sobre las enzimas y los microorganismos. Sin embargo, el efecto inespecífico del calor puede afectar la calidad nutritiva y sensorial de los alimentos y cambiar sus propiedades funcionales (Barba *et al.*, 2012; Zinoviadou *et al.*, 2015).

El calor sigue siendo la técnica más utilizada para la inactivación de microorganismos y de enzimas como la polifenoloxidasa, la cual es responsable del pardeamiento enzimático

y puede producir cambios en el sabor o pérdidas de vitamina C. Debido a ello, existe un interés creciente en el desarrollo de tecnologías alternativas con el fin de disminuir los efectos del procesamiento sobre la calidad sensorial y nutricional y que los alimentos sean a la vez menos dependientes de los aditivos (Gould, 2001; Tiwari *et al.*, 2009b).

Un ejemplo del efecto negativo del uso del calor para el procesamiento se refleja en la investigación llevada a cabo por Chutintrasri & Noomhorm (2007), donde debido al aumento en la temperatura entre los 70 °C y 110 °C (rango utilizado para cubrir el precalentamiento y la esterilización del puré de piña comercial aséptico) se presentaron cambios en el color del puré, más específicamente en la luminosidad (la cual puede deberse también al oscurecimiento por oxidación de vitamina C) y la diferencia total de color (ΔE), los cuales se asocian con una pérdida de carotenoides.

En el estudio realizado por Rattanathanalerk *et al.* (2005), se reporta que el procesamiento térmico provoca pérdidas en la calidad de un jugo de piña en un rango de temperatura de 55 °C a 95 °C, obteniéndose cambios significativos en los parámetros a^* y b^* (coloración de verde a rojo y de azul a amarillo, respectivamente). Estos cambios responden a una cinética de primer orden y el ΔE se ajusta a un modelo que se describe por el efecto pardeamiento no enzimático y la destrucción de los pigmentos carotenoides.

La ciencia y la tecnología de alimentos juegan un papel destacado en importantes campos como el de la preservación de las características funcionales y sensoriales de jugos, uso de técnicas no térmicas para pasteurización, tecnologías de empaque, entre otras, para llevar estos productos con una excelente calidad al mercado (Tiwari *et al.*, 2009b). Los nuevos enfoques, en su mayoría, implican las tecnologías de conservación no térmicas de los alimentos que ofrecen alternativas al calor, totales o parciales (reducción de tiempos de tratamiento y/o temperaturas). En este aspecto, procesos de tratamiento en jugos de fruta, tales como la sonicación acompañada de otras técnicas como las altas presiones osmóticas permiten tener jugos con una mayor vida útil, reduciendo su carga microbiológica, debido al potencial de estos procesos en conjunto para inactivar microorganismos patógenos, de deterioro (Wong *et al.*, 2010) y enzimas. A la vez estas alternativas tecnológicas permiten mantener sus características sensoriales, minimizando la pérdida de calidad en términos de sabor, color o aromas (Mertens & Knorr, 1992; Tran

& Farid, 2004), o los importantes fitoquímicos que incluyen los antioxidantes naturales (Keyser, 2008; Noci *et al.*, 2008; Tiwari *et al.*, 2009b; Zhang *et al.*, 2011).

El uso del ultrasonido (US), en combinación con otros métodos de conservación se ha incrementado (Guerrero *et al.*, 2001; Kuldiloke, 2002; Rodrigues & Narciso, 2012; Vercet *et al.*, 2002). Esto se debe a diversos factores como que el ultrasonido aumenta la homogeneidad del producto, ahorra energía en comparación a otras técnicas como las térmicas (Chemat *et al.*, 2011), además gracias a su simplicidad, portabilidad y costo se convierte en una técnica accesible a los laboratorios de investigación y a las industrias (Islam *et al.*, 2014).

Este tratamiento en combinación con otras alternativas de procesamiento (ya que por sí sola no provee las reducciones microbianas requeridas) se ha identificado como una tecnología potencial por la Food and Drug Administration (FDA) para satisfacer la exigencia de una reducción de microorganismos en 5 log en los jugos de fruta y así alcanzar su inocuidad (FDA, 2000; FDA, 2001; Ulusoy *et al.*, 2007; Rodrigues & Narciso, 2012; Salleh & Roberts, 2007).

El uso de US ha demostrado ser efectivo en reducir la carga de microorganismos en productos líquidos cuando ha sido combinado con calor (termosonicación), presión dinámica (manosonicación) o ambas (manotermosonicación) (Guerrero *et al.*, 2001; Kuldiloke, 2002; Vercet *et al.*, 2002; Chemat *et al.*, 2011; Rodrigues & Narciso, 2012).

En la presente investigación se decidió trabajar con la piña (*Ananas comosus*), por ser un producto importante para la economía de Costa Rica, primer exportador de piña fresca a nivel mundial y un importante exportador de jugo de piña (CANAPEP, 2021).

La piña es originaria de Sudamérica, crece a temperaturas de (24 a 30) °C y es una de las frutas más apreciadas por sus cualidades de sabor, textura y aroma sin dejar de mencionar sus valiosas propiedades nutritivas y curativas que proveen grandes beneficios a la salud (Rattanathanalerk *et al.*, 2005). Es uno de los cultivos con mayor potencial de mercado tanto nacional como internacional, debido a que es un fruto muy versátil que puede ser consumido de diversas formas, cuenta con aromas exquisitos, pero además constituye una fuente natural de antioxidantes como vitaminas B y C, minerales (sodio, hierro,

manganeso, magnesio, potasio, zinc y yodo), polifenoles (Wen *et al.*, 1999) y carotenoides como el β -caroteno, los cuales contrarrestan la acción de radicales libres. Además, cuando el fruto empieza a madurar, se da un aumento en el contenido de azúcares reductores debido a la hidrólisis del almidón y se acelera la producción de carotenoides, ya que estos son colorantes naturales que le brindan una coloración muy amarilla a la piña (Torres *et al.*, 2013; Hodgson & Hodgson, 1993).

Esta bromelia es fuente de fibra y además contiene una enzima, la bromelina o bromelaína, la cual es similar a las enzimas digestivas que ayudan a digerir las proteínas, contiene un 85% de agua y además hidratos de carbono. Por otro lado, los ácidos cítrico y málico son los responsables de su sabor ácido y como ocurre en los alimentos cítricos, el primero potencia la acción de la vitamina C (Taussig & Batkin., 1988; Quijandría *et al.*, 1997).

Entre sus muchos aportes a la salud, la piña está recomendada en el tratamiento de padecimientos tales como la retención de líquidos (actúa como diurético), problemas de tránsito intestinal y estreñimiento (por su gran poder laxante), hipertensión, colesterol y anemia, intoxicaciones (funciona como depurador), trastornos del sistema inmunológico (refuerza en la disminución de defensas y ayuda a la formación de glóbulos rojos y blancos), problemas degenerativos y cardiovasculares, la obesidad y los problemas en el crecimiento óseo, tejidos y sistema nervioso en los niños. También, la piña impide la agregación plaquetaria, con lo cual evita que la sangre se coagule y, de esta manera, prevenir las embolias y los infartos (CANAPEP, 2015; Rattanathanalerk *et al.*, 2005).

Esta investigación tiene gran relevancia al evaluar el efecto que causa la aplicación de ultrasonido sobre las propiedades sensoriales (color) y bioactivas en el jugo de piña pulposo que son beneficiosas para la salud de los consumidores. Los tiempos efectivos de sonicación (0, 4, 8, 12, 16 y 20 min) se calcularon con el equipo de US utilizado por Wong (2010) en su investigación, de igual manera se utilizaron las mismas condiciones de sonicación (una velocidad de la bomba de 1,5 rpm, amplitud del 40%, un flujo continuo de la bomba y una frecuencia de 20 kHz).

Todo lo anteriormente mencionado, impulsa la presente investigación para obtener y desarrollar una alternativa no térmica de procesamiento al jugo de piña pulposo, que, además de aumentar su vida útil (al ser combinado con otros tratamientos en anteriores y

futuras investigaciones), cause la menor alteración de sus propiedades sensoriales como el color y que conserven sus compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante, los cuales son beneficiosos para la salud de los consumidores.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del tratamiento con ultrasonido sobre el color y los compuestos bioactivos del jugo de piña pulposo.

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del tiempo de sonicación sobre el contenido de compuestos antioxidantes (polifenoles totales, carotenoides totales, vitamina C total y el ácido ascórbico) y la capacidad antioxidante hidrofílica del jugo de piña pulposo.
- Determinar el efecto del tiempo de sonicación sobre los parámetros de color en el jugo de piña pulposo.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Características agronómicas de la piña

La planta de la piña crece de 60 cm a 90 cm de alto, sus hojas son largas, de color verde y en forma de espadas, crecen alrededor de un tallo grueso y en sus puntas posee espinas. El fruto llega a pesar entre 2 y 4 kg y la parte exterior del mismo cambia de color verde a amarillo dependiendo del grado de madurez. La parte comestible de la fruta es de textura firme y de color amarillo pálido o dorado, aunque podría ser blanca (López *et al.*, s.f).

La variedad que produjo la expansión en los mercados internacionales de frutas tropicales fue la variedad MD2, también conocida como “piña amarilla” o “piña dorada”, introducida por la Compañía Pineapple Development Company (PINDECO), una subsidiaria de la transnacional norteamericana Del Monte (CANAPEP, 2012). El híbrido MD2 es parte del Grupo Cayenne de la piña, este se destaca por poseer un alto contenido de vitamina C: 500% más que cualquier otra variedad de piña. Aproximadamente, con dos rodajas de la fruta (unos 112 gramos) se consume el 150% del total de vitamina C requerido en un día con base a una dieta de 2000 calorías diarias. Como ya se mencionó, este tipo de piña es el más comercializado en el mundo y el que recibe el mejor precio. Los diferentes productores y exportadores le han puesto nombres distintos: Del Monte Gold Extra Sweet Pineapple, Dole Premium Select Pineapple, Fyffes Supersweet Pineapple y localmente la Exportadora Bananera Noboa la llama Sun Ripe (CANAPEP, 2012).

3.2. Producción e historia de la piña en Costa Rica

La industria de producción de piña se ha desarrollado ampliamente a nivel mundial desde el año 1997, motivada por el aumento sostenido de la demanda de frutas tropicales frescas, en conservas, en jugos o secas en los mercados de los Estados Unidos y Europa principalmente (Quijandría *et al.*, 1997).

El comercio mundial de piña se transformó y creció expansivamente a partir de la llegada de la variedad MD2 o piña amarilla, la cual provocó una multiplicación de la demanda de este fruto en el mundo (SIIM, 2010). El crecimiento en la demanda de piña en los mercados internacionales ha atraído la inversión tanto nacional como internacional a Costa Rica, debido a que el país ofrece buenas condiciones climáticas para la producción de este fruto (CANAPEP, 2015).

La piña es actualmente uno de los cultivos con mayor potencial de mercado internacional y de alta rentabilidad financiera. La piña se convirtió en el segundo producto de exportación en importancia en Costa Rica, detrás del banano y le generaba importantes ingresos al país (CANAPEP, 2015; PROCOMER, 2015), inclusive en el 2017 se convirtió en el primer producto, sacando al banano de este puesto después de muchísimos años (CANAPEP, 2018). Adicionalmente, el procesamiento de la piña es una actividad con una alta demanda de mano de obra, con capacidad de ofrecer salarios y empleos permanentes en zonas rurales (Valverde *et al.*, 2006).

La piña es un producto que tradicionalmente se produce en Costa Rica desde tiempos de la colonia. En sus inicios, la producción se destinaba para consumo local y en menor proporción a la industrialización de pulpas, mermeladas y enlatados. Fue a partir de 1986, cuando se inició la exportación de la fruta con la variedad Cayenna Lisa, posteriormente se continuó con Champaca y a partir del 2001, con la variedad Golden (Quijandría *et al.*, 1997; Aráuz, 2005). La producción de esta fruta estaba uniformemente distribuida por todo el territorio nacional, pues el proceso productivo era muy natural y no requería de ningún paquete tecnológico ni de condiciones especiales para apresurar la producción de la fruta. Sin embargo, la producción tipo monocultivo de alta intensidad y alta demanda tecnológica fue desarrollada a finales de la década de los setenta, cuando la compañía PINDECO inició sus operaciones en el sur del país (Acuña, 2006).

En 1995 la estructura de la industria en cada región productiva era muy diferente. Mientras en la zona norte (Región Huetar Norte) algunas empresas grandes dominaban la producción, la cual era vendida casi en su totalidad a las empresas Standard Fruit y Banacool y en cuanto a productores independientes, se estimaba que existían unos 630 entre medianos y pequeños productores, en la zona sur (Región Brunca) la producción era

dominada totalmente por PINDECO y existían sólo 17 productores pequeños (SEPSA, 1995).

La producción de piña se concentraba en las zonas de Buenos Aires de Puntarenas, San Carlos y Grecia de Alajuela, Sarapiquí de Heredia (zona Huetar Norte) y en menor medida en la provincia de Limón (zona Huetar Atlántica). El esquema inicial de producción daba prioridad a la producción por parte de PINDECO, la cual producía alrededor de 65% de la piña del país en 1989. Luego se cambió a un esquema en el cual PINDECO compra una buena parte de la piña que exporta a productores independientes (Acuña, 2006).

PINDECO impactó la producción nacional ampliando el área de siembra que se tenía hasta ese momento e introduciendo diferentes tecnologías y estilos de producción. PINDECO se convirtió en un actor fundamental debido al carácter expansivo de la producción piñera, pues reorientó el cultivo para la exportación, introdujo paquetes tecnológicos para poder acceder a otros mercados, provocó una expansión horizontal de la producción e introdujo una nueva variedad de piña para la exportación, generando una interacción entre las variedades que se expresa incluso en una diferenciación geográfica (Acuña, 2006).

De acuerdo con COMEX, el sector piñero generó para el 2005 alrededor de 7 000 empleos directos y la producción fue de 1,6 millones de toneladas métricas, mientras que las exportaciones en ese año fueron de 260 millones de euros (Acuña, 2009). Para el 2020 los empleos existentes por región fueron Huetar Norte con 13 720, Huetar Atlántica con 8 120 y Pacífico con 6 160, para un total de 28 000 empleos directos y además 105 000 del tipo indirecto (CANAPEP, 2021)

En el 2002, Costa Rica tenía 15 500 hectáreas dedicadas a esta actividad y en el 2007 ya se utilizaban 35 200 hectáreas (Acuña, 2009). Para el 2020 ya hay 40 000 hectáreas de nuestro suelo dedicadas al cultivo, en el país, divididos en: Región Huetar Norte con 19 600 hectáreas, lo equivalente al 49% del área cultivada; la Región Huetar Atlántica dispone de 11 600 hectáreas y representa el 29%, a su vez, la Región Pacífico destina 8 800 hectáreas, lo cual constituye el 22% del área cultivada. Todo en manos de unos 170 productores de piña, en todo el país (CANAPEP, 2021).

3.3. Comercialización de la piña

3.3.1. Exportación

El consumo de piña tanto en Estados Unidos como en Europa, se ha visto beneficiado por una creciente tendencia hacia una alimentación saludable que ha incrementado el consumo de frutas y vegetales frescos.

En la década de los ochenta, el volumen del mercado internacional de la piña costarricense creció en más del 5 000%. En 1994, los niveles de exportación alcanzaron los US\$ 58 millones y se distribuyeron de la siguiente manera: un 43% hacia la Unión Europea (UE) (16% de participación del mercado de importación), un 56% hacia USA (64% de participación del mercado de importación) y el restante 1% hacia Sudamérica principalmente. En 1995, el valor de las exportaciones totales como piña representaron US\$ 61 millones, lo que constituyó el 16% de las exportaciones agrícolas no tradicionales (Quijandría *et al.*, 1997).

Costa Rica vendió en el año 2000 US\$ 121 millones, el 29,2% del total de las exportaciones mundiales. Incrementó el volumen de sus exportaciones totales en un 80% en el periodo comprendido entre los años 1996 y 2000. La razón de dicho crecimiento es el desarrollo del híbrido MD2 por parte de la empresa *Del Monte Fresh Produce*, principal exportador del país en aquel momento, que creó tanto en el mercado estadounidense como en el europeo una demanda hacia la nueva variedad (FAO, 2002).

Para el año 2005, la variedad MD2 se desarrolló en Costa Rica en conjunto con un experimento en Hawai (dirigido por el programa de Research Institute de Hawai), favorecido por las condiciones climáticas de ambos lugares, tales como: suelos, precipitación, días luz y temperatura. Los resultados fueron una fruta dorada, brillante, más dulce, con pulpa amarilla, con poco contenido de fibra de un buen sabor y presentación.

Según la Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña (CANAPEP), esta variedad logró alcanzar las características esperadas por la empresa como: dulzor, color, grados Brix y sabor. Además de estas características, ciclos cortos de producción de 9 meses, que favorecen la producción, ya que asegura fruta durante todo el año. El sector,

por tal razón, ha dividido el año productivo de piña en dos semestres, estos abarcan de enero a septiembre y de septiembre a enero para de esta forma contar con producción en todo el año (CANAPEP, 2012).

Para el año 2011 ya la industria de la piña exportaba US\$ 717,0 millones y siguió creciendo y expandiéndose (PROCOMER, 2014).

Según PROCOMER (2015) los jugos y concentrados de fruta son el principal producto de exportación de la industria alimentaria a USA y la UE y en los años 2014-2015 se exportaron US\$ 146 millones que representa un 40% y US\$ 173 millones que significaron 42% respectivamente.

En nuestro país las exportaciones de jugos y concentrados de frutas tuvieron un repunte, aumentando sus mercados y exportando más al año 2015, convirtiéndose en la segunda fruta tropical en importancia después del banano (PROCOMER, 2015).

Para el año 2015 en nuestro país la piña ocupó el tercer lugar entre los productos de exportación con un 8%, tan solo por detrás de los dispositivos médicos y del banano; lo mismo sucedió en el 2018, sólo que en ese momento igualado con el banano con un 9% del total de las exportaciones. Además, fue el segundo producto en importancia en el sector agrícola con un 33% en el 2015, mismo puesto que alcanzó en el 2018 y 2019, pero con un 34% (PROCOMER, 2021).

La producción total de piña en Costa Rica alcanzó la cantidad de 2,3 millones de toneladas durante el año 2015, de esta cantidad se exportaron 2 millones de toneladas como fruta fresca, 42 mil toneladas como piña congelada, además 425 toneladas como piña seca y 180 mil toneladas se destinaron para la producción de jugos. Para el año 2014 las exportaciones de piña alcanzaron los US\$ 865 millones, mientras que para el año 2015 hubo una pequeña reducción alcanzando US\$ 806 millones (Cuadro 1). Para el año 2016 las exportaciones de piña fresca generaron la cifra de US\$ 873 millones y se llegó a una cifra de US\$ 989 millones, alcanzando el pico más alto en el 2018, luego hubo una reducción de US\$ 100 millones para el 2020 (Cuadro 1), debido a la pandemia por el virus que produce la COVID-19 (PROCOMER, 2021).

Cuadro 1. Exportaciones de piña a partir del 2013 en millones de dólares y % de variaciones anuales

Año	2020	2019	2018	2017	2016	2015	2014	2013
Millones \$	889,64	930,49	989,56	941,95	873,11	806,68	865,11	816,11
Variación %	-4,39	-5,96	5,06	7,88	8,23	-6,75	5,99	5,64

Para el 2015 los destinos principales para la exportación de piña fueron América del Norte, principalmente USA (53%) y la UE (44%) (PROCOMER, 2015), mientras que para el 2020 América del Norte ocupó el primer lugar con un 52%, seguido de la UE con un 43% y al resto de Europa se destinó un 4,2% (CANAPEP, 2021).

En los años 2015 y 2019 de todos los productos que se exportaron en nuestro país, la piña fue el segundo producto en importancia que se exportó hacia América del Norte (USA mayormente y Canadá), obteniendo US\$ 418 millones (9,9%) y US\$ 465 millones (9%) respectivamente del total que se genera de productos que exportamos a esa zona del continente, sólo siendo superado por los dispositivos médicos. Pero en cuanto a exportaciones de productos agrícolas se refiere, la piña fue el principal producto agrícola que se exportó a USA alcanzando un total de US\$ 446 millones en el año 2014 para un 36%, mientras que en el 2015 se obtuvo un 36,4% (US\$ 418 millones) del total exportado y en el 2019 un 49% (US\$ 465 millones) (PROCOMER, 2021).

USA pasó a ser el segundo mercado en importancia en las exportaciones de jugos y concentrados de fruta de Costa Rica y aunque entre el 2014 y el 2015 hubo un descenso de aproximadamente un 17%, en el 2015 se exportó la suma nada despreciable de US\$ 49 millones gracias a la venta de más de 42 mil toneladas de producto (PROCOMER, 2015).

La UE ha sido, a través de los años, el mayor mercado del mundo para la piña orgánica. Para el año 2009, el 50% de las exportaciones de piña de Costa Rica se dirigieron al mercado de la UE, logrando así convertir al país en el proveedor principal de piña de la UE (mercado que se conquistó gracias a la variedad MD2). Costa Rica exportaba en el

2009 el 52% de la piña fresca a países como: Francia, Bélgica, Holanda, Italia, Reino Unido, Alemania, Portugal y España (El País, 2009).

En el 2014 y en el 2015 la piña ha ocupado el segundo lugar como producto agrícola exportado y también a nivel general de todas las exportaciones a la UE, detrás del banano, alcanzando para el año 2014 un total de US\$ 389 millones para un 37% del total de las exportaciones agrícolas, mientras que en el 2015 se obtuvieron US\$ 360 millones que representa el 34% del total exportado. En el 2019 ocupa el mismo lugar, pero con 18% equivalente a US\$ 431 millones (PROCOMER, 2021).

Durante el 2015 Holanda fue el principal destino europeo para exportar piña, llegando a los US\$ 118 millones a través de poco más de 258 mil toneladas del producto, seguido por Bélgica e Italia (PROCOMER, 2015). Para el 2019, Holanda sigue siendo el principal destino europeo para exportar piña (298 mil toneladas y US\$ 130 millones), seguido ahora de Italia y España (PROCOMER, 2021).

En cuanto a las exportaciones de jugos y concentrados de fruta el panorama de exportaciones toma un rumbo interesante, ya que creció en los principales destinos europeos entre el 2014 y el 2015; sólo en Holanda que es el principal destino de este producto, el jugo de piña pasó de US\$ 50 millones (75 mil toneladas aproximadamente) a US\$ 72 millones (90 mil toneladas aproximadamente) para alcanzar un aumento del 43% durante este periodo, lo que nos muestra como el mercado de los jugos de fruta ha tenido un auge y un repunte en los últimos años, lo mismo sucede con otros países como España, Bélgica y Francia, alcanzando un aumento de 51%, 46% y 38% respectivamente. Para el 2015 este tipo de exportación ocupó el cuarto lugar entre los productos que se envían a la UE alcanzando los US\$ 125 millones, sólo superado por el banano, la piña fresca y las prótesis médicas (PROCOMER, 2014; PROCOMER, 2015).

Por otro lado, los jugos y concentrados de frutas fueron el segundo producto de exportación de la industria alimentaria en nuestro país, alcanzando los US\$ 163 millones que representan el 11%, durante el 2014 y US\$ 193 millones para un 13% en el 2015 (PROCOMER, 2014; PROCOMER, 2015), para el 2019 se pasó a US\$ 130 millones en ventas a América del Norte y la UE (PROCOMER, 2021).

Aún quedan retos importantes como expandir las exportaciones de piña al mercado asiático, por ejemplo, el cual ha tenido un mayor auge en nuestro país en los últimos años. En el 2015 en este mercado tan sólo se ha logrado posicionar la exportación de jugos y concentrados de frutas con US\$ 6 millones, siendo Japón el mayor socio comercial (PROCOMER, 2015), pero ya para el 2017 se iniciaron las primeras exportaciones de piña al mercado chino, logrando exportar piña por US\$ 3,8 millones para el 2019 en Asia y US\$ 7,9 millones en jugos y concentrados de fruta (PROCOMER, 2021). A pesar de esto, en este mercado hay que buscar ampliar las exportaciones de piña y sus derivados, ya que podría ser de grandes beneficios para el sector piñero.

3.3.2. *Consumo nacional*

La industria de la piña en Costa Rica tiene un muy bajo nivel de integración vertical, dándose casos de empresas específicamente dedicadas a la producción de piña y otras que únicamente se dedican al procesamiento de la fruta. Esto hace que mucha de la llamada piña de segunda, que se podría aprovechar si las plantas procesadoras estuvieran cerca de las zonas productoras, se tenga que orientar al mercado local o incluso tenga que ser desechada completamente por problemas con el transporte del producto (INCAE, 1989). Para el año 2015 aproximadamente 208 mil toneladas de piña se dirigieron al mercado nacional para su comercialización como fruta fresca (CANAPEP, 2016).

3.4. Jugos de frutas

La demanda de los consumidores por alimentos más seguros, funcionales (por ejemplo, que contengan vitaminas, minerales, antioxidantes y/o fibra) y frescos ha ido aumentando continuamente, lo que ha contribuido a un desarrollo del consumo de jugos de frutas y bebidas a base de jugos de frutas (Carvalho *et al.*, 2002; Gonçalves *et al.*, 2018). Los jugos de frutas son productos que se pueden ofrecer refrigerados, congelados o en anaquel a temperatura ambiente y en una variedad de tipos de empaques (Hodgson & Hodgson, 1993; Bogue & Troy, 2016). Por esta razón la elaboración de jugos a partir de frutas encuentra un espacio interesante en el mercado de alimentos, siendo su producción una actividad altamente competitiva (Vaillant *et al.*, 2004).

La elaboración de jugos es una de las formas más comunes e importantes de procesar y conservar frutas. Esto se debe a que se considera una manera práctica de consumir este alimento y aprovechar sus nutrientes. Además, es una forma de consumir frutas estacionales durante todo el año, disminuyen las pérdidas de frutas y vegetales, pues se pueden usar productos que no son aptos para vender frescos, al no calificar como producto conforme y permite alargar la vida útil de la fruta en forma de jugo procesado. Por otra parte, al transformar la fruta en un producto líquido es mucho más fácil su manejo (Rajauria & Tiwari, 2017).

La producción de jugos pulposos es muy común en la industria alimentaria donde no se utilizan procesos muy sofisticados, ya que, luego del procesado inicial de la materia prima simplemente se utilizan mallas para obtener un jugo pulposo con una cantidad de sólidos dependiente de lo que requiere el consumidor. En el caso de los jugos clarificados, estos se caracterizan principalmente por su transparencia y homogeneidad, lo cual se logra por una remoción complementaria de los sólidos en suspensión donde se pueden utilizar distintos tipos de tecnologías y tratamientos enzimáticos (Vaillant *et al.*, 2000).

Según el reglamento técnico de jugos y néctares de frutas (CODEX, 2005), el jugo de fruta es el líquido sin fermentar, que se obtiene de la parte comestible de frutas frescas en buen estado y debidamente maduras por medio de procedimientos apropiados (MEIC, 2005).

Algunos jugos podrán elaborarse junto con sus vesículas (“botellitas”), semillas y cáscara, que normalmente no se incorporan al jugo, cuando no puedan eliminarse mediante las diferentes etapas de fabricación. Los jugos se preparan utilizando procedimientos adecuados que mantienen las características físicas, químicas, sensoriales y nutricionales esenciales de la fruta originaria (MEIC, 2005). La FDA (2018) también ha dado la definición de jugo y explica que se trata de un líquido acuoso exprimido o extraído de una o más frutas o vegetales, purés o porciones comestibles de una o más frutas o vegetales o cualquier otro concentrado de tal líquido o puré.

Otros documentos expresan que el jugo es el líquido contenido naturalmente en el tejido de una fruta o un vegetal y agregan que se prepara mecánicamente por exprimir o macerar frutas frescas o tejido vegetal sin aplicar calor o utilizar solventes (NPCS, 2012).

Definiciones más estrictas y detalladas dicen que los jugos de frutas naturales deben ser elaborados en su totalidad (es decir el 100%), de fruta fresca, no pueden contener aditivos (conservantes, edulcorantes, aromas y/o colorantes). Por lo tanto, se consumen en forma fresca poco después de su producción o se conservan mediante tratamientos térmicos o no térmicos como lo es el tratamiento ultrasonido (MEIC, 2005).

3.4.1. Producción de jugos pulposos

Para obtener un jugo pulposo se realizan una serie de pasos. Inicialmente se da la recepción de la materia prima donde se escogen los frutos (separando aquellos que no cumplan con algún requerimiento previamente dispuesto), se procede a realizar un lavado y desinfección, seguido de un pelado y troceado. Para finalmente obtener el jugo pulposo, puede utilizarse por ejemplo un prensado mecánico, el cual puede realizarse en dos o más etapas utilizando mallas de distinto número de mesh, según el jugo que se desee obtener (Hui, 2006).

El equipo utilizado para el prensado retiene la fase sólida mientras que la líquida se recoge en un recipiente. Un parámetro importante por obtener es el rendimiento del prensado, que es el porcentaje de jugo extraído, en comparación con el material crudo al principio del proceso. El rendimiento de jugo es determinado básicamente por el tipo de dispositivo de presión, la calidad y preparación (tipo de corte) de la materia prima (Hui, 2006).

El jugo extraído es un jugo pulposo que suele ser turbio debido a las partículas vegetales que son insolubles en agua (fibras, celulosa, hemicelulosa, protopectina, almidón y lípidos), macromoléculas coloidales (pectina, proteínas, solubles en fracciones de almidón), polifenoles y sus derivados oxidados o condensados (Hui, 2006).

Dependiendo del producto final requerido, estas sustancias mencionadas pueden ser parcial o totalmente eliminadas para evitar la turbidez, las precipitaciones y para mejorar los atributos sensoriales (sabor, olor y color). De esta manera se alcanza la clarificación de jugos, la cual se puede realizar por métodos fisicoquímicos, mecánicos o sus combinaciones (Hui, 2006).

Algunos métodos fisicoquímicos comunes son el uso de agentes clarificantes y los tratamientos enzimáticos, mientras que ejemplos de los mecánicos pueden ser la

eliminación mecánica de fibras suspendidas y la precipitación, los cuáles se pueden llevar a cabo utilizando centrífugas o mediante la filtración. La filtración se realiza utilizando aditivos de filtración (como sílice o diatomita) que se añaden al líquido por filtrar (Hui, 2006). Para la clarificación de jugos filtrados, pueden utilizarse técnicas de membrana como la microfiltración o la ultrafiltración tangencial, entre otras (Hui, 2006).

3.5. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante

3.5.1. Alimentos funcionales

Un alimento funcional puede ser un alimento convencional que es consumido como parte de la dieta normal, para el cual se ha demostrado que tiene efectos fisiológicos beneficiosos como por ejemplo la reducción del riesgo de una enfermedad crónica, además de las funciones nutricionales básicas (Shahidi, 2004). Es decir, la dieta no sólo contribuye a que la persona logre un estado de salud y desarrollo óptimo, sino que también juega un papel importante en la reducción del riesgo de enfermedades (Diplock *et al.*, 1999).

El diseño de productos alimenticios con efectos beneficiosos para la salud responde al mayor reconocimiento del papel de la dieta en la prevención y tratamiento de enfermedades (Mazza, 2000). Un alimento funcional puede ser un alimento natural, un alimento al que se le ha agregado un compuesto o uno al que se le ha removido un componente utilizando biotecnología o medios tecnológicos (Diplock *et al.*, 1999).

En el caso de las frutas, estas siempre se han considerado excelentes fuentes de azúcares y vitaminas, pero recientemente han adquirido un mayor protagonismo desde el punto de vista funcional dado su contenido de componentes biológicamente activos como los antioxidantes. Estos compuestos son capaces de neutralizar radicales libres que se forman durante la preparación de los alimentos o en procesos biológicos del organismo, además por causa de factores externos y ambientales (Mazza, 2000).

3.5.2. Antioxidantes y radicales libres

Los antioxidantes son un grupo de vitaminas, minerales, colorantes naturales, enzimas y otros compuestos vegetales que tienen la capacidad de retardar o prevenir la oxidación de

las moléculas orgánicas al disminuir las reacciones químicas que involucran oxígeno. Es decir, son capaces de neutralizar la acción oxidante de moléculas inestables o radicales libres, causantes de los procesos de envejecimiento y de muchas enfermedades (Prior *et al.*, 2005, Khoo & Falk, 2014).

Además, estos compuestos también contribuyen en la disminución de la resistencia a la insulina, por lo tanto, también tienen funcionalidad en la protección contra la diabetes (Barreca *et al.*, 2017; Barreca *et al.*, 2020).

Las defensas antioxidantes de los organismos son de tipo enzimático y no enzimático. La primera defensa antioxidante es intracelular y es principalmente de tipo enzimático (incluyendo el superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa) (Nelson & Cox, 2004). La segunda barrera antioxidante es de tipo no enzimática y está dada por compuestos antioxidantes que actúan tanto a nivel celular como extracelular, donde destaca la participación de la vitamina E, los carotenoides, la vitamina C y los compuestos fenólicos (Lee *et al.*, 2004; Honzel *et al.*, 2008). El ácido ascórbico y los compuestos fenólicos son de naturaleza hidrofílica mientras que los carotenoides son antioxidantes lipofílicos (Thaipong *et al.*, 2006).

Las sustancias antioxidantes se modifican al reaccionar con los radicales libres, por tanto, necesitan ser reemplazados a través de la dieta. A estos compuestos se les conoce como “antioxidantes dietarios” (Urquiaga *et al.*, 1999; Liu & Finley, 2005; Wolfe & Liu, 2007; Barreira *et al.*, 2008; Honzel *et al.*, 2008; Jensen *et al.*, 2008).

Un “antioxidante dietario” es una sustancia presente en los alimentos que disminuye significativamente los efectos adversos de las especies reactivas, tales como especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno, sobre la función fisiológica normal en humanos. Este es capaz de atrapar esas especies reactivas para detener reacciones en cadena o puede prevenir la formación de oxidantes reactivos formados en los primeros pasos de la reacción en cadena (Huang *et al.*, 2005).

3.5.2.1. Polifenoles

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, encontrados comúnmente en frutas y vegetales. Son derivados biológicos de aminoácidos

aromáticos y tienen propiedades beneficiosas tales como actividades antioxidantes y antimicrobianas (Kaur & Kapoor, 2001; Lee *et al.*, 2002; Puupponen *et al.*, 2003).

Los polifenoles son moléculas que se encuentran en los tejidos vegetales de prácticamente todas las plantas. El grupo de los compuestos fenólicos abarca diversas categorías de moléculas con diferentes estructuras químicas. Es una clase de compuestos tan variable, que algunos polifenoles son de bajo peso molecular, menor a 100 Da, mientras que otros pueden superar los 30 000 Da. Esto ejemplifica la heterogeneidad química de estos metabolitos secundarios (Díaz *et al.*, 2013).

Poseen funciones fisiológicas como la pigmentación, polinización, resistencia contra depredadores y protección contra UV, ROS y estrés fotosintético (Kondratyuk & Pezzuto, 2004). Estos compuestos fenólicos son componentes hidrofílicos que están sujetos a la degradación durante el procesamiento, por lo que pueden perderse en el agua de cocción y también ser degradados por la acción de enzimas. Además, durante el procesamiento y el almacenamiento, están propensos a degradarse por acción de la temperatura, el oxígeno y la luz, siendo más sensibles que los carotenoides y la vitamina C (Kalt, 2005).

La composición fenólica de una planta depende de su información genética y de los factores ambientales durante el crecimiento y el periodo poscosecha. Los tejidos de las frutas son capaces de sintetizar compuestos fenólicos y los cambios en su contenido pueden ser inducidos por condiciones de estrés, disponibilidad de agua y composición del suelo (Gonçalves *et al.*, 2004). Específicamente en bebidas, el perfil de polifenoles y su concentración dependen del tipo de fruta, el cultivo, su madurez, las condiciones ambientales, condiciones post cosecha y las técnicas de procesamiento y preservación (Kulak & Cetinkaya, 2018).

La distribución de polifenoles en frutas y en los jugos de frutas se regula, en gran parte, genéticamente y por lo tanto se ha utilizado el perfil de polifenoles como marcadores taxonómicos para clasificar los cultivos. De esta forma, el perfil de polifenoles se utiliza a manera de huella digital a la hora de analizar jugos de frutas. La ausencia o presencia de un compuesto fenólico y/o la proporción entre estos compuestos en el producto se pueden utilizar como indicadores de la autenticidad de un jugo de frutas o de que contiene adulterantes. Cada fruta o jugo de fruta se asocia con la presencia de distintos polifenoles.

Por ejemplo, la naringina se asocia con jugos cítricos, el ácido clorogénico con jugo de manzana y las antocianinas con jugo de frutos rojos o bayas (Macheix *et al.*, 2018).

Se ha establecido que la síntesis de polifenoles en las plantas se da principalmente cuando se encuentran expuestas a condiciones ambientales no favorables o adversas para su desarrollo, como por ejemplo, temperaturas extremas, salinidad, sequías, infecciones patogénicas, ataques de herbívoros y deficiencias nutricionales. La presencia de polifenoles le confiere protección a las plantas del estrés que provocan esas condiciones adversas y que llevan al daño en los tejidos vegetales (Santana & Jacobo, 2018; Quiñones *et al.*, 2012).

El factor común que une a estas moléculas, de acuerdo con Kammerer *et al.* (2013), es la presencia de uno o varios anillos fenólicos y las clases y subclases se establecen dependiendo del número de anillos fenólicos y los grupos funcionales que presentan. Las principales categorías de polifenoles son: ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes, alcoholes fenólicos y flavonoides. Estos últimos se subdividen en: flavanoles, flavanonas, flavonas, isoflavonas, flavonoles y antocianidinas. Adicionalmente, con frecuencia, los compuestos fenólicos se encuentran unidos a uno o más mono o disacáridos por medio de enlaces glicosídicos en los grupos hidroxilo.

Los polifenoles (especialmente los flavonoides), muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Karadeniz *et al.*, 2000; Sies & Stahl, 2004; Scalbert *et al.*, 2005b; Waterhouse, 2005; Tzulker *et al.*, 2007) y neurodegenerativas (Kuskoski *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2006; Dai *et al.*, 2006; Singh *et al.*, 2008), reducen los niveles de colesterol sanguíneo (Vidavalur *et al.*, 2006; Jalili *et al.*, 2007), disminuyen los efectos de padecimientos como diabetes, osteoporosis y arterosclerosis (Scalbert *et al.*, 2005a; Hendrich & Murphy, 2007), retrasan la aparición de numerosos efectos relacionados con el envejecimiento (Joseph *et al.*, 2005; Wilson *et al.*, 2006), también poseen actividad antibacteriana (Akai *et al.*, 2007). Asimismo, se han asociado con una importante actividad anticancerígena (Lee *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2005; Monteiro *et al.*, 2006; Nichenametla *et al.*, 2006; Dubick & Omaye, 2007).

Las antocianinas son responsables del color atractivo de algunas flores, frutas y vegetales. Durante los últimos años, se han reportado investigaciones donde se relacionan las antocianinas como compuestos que ayudan a reducir el riesgo de enfermedades coronarias y prevenir ciertas enfermedades crónicas. Además de su potencial como antioxidante, las antocianinas tienen un alto potencial de ser empleadas como colorantes naturales debido a sus colores como naranja, rojo, morado y azul (Wang & Xu, 2007).

En la piña el contenido de polifenoles no es tan alto en comparación con otros frutos (mora, arándano, entre otros). Por ejemplo, Hassimotto *et al.* (2005) reportaron para la piña fresca un valor de $(67,2 \pm 0,6)$ mg GAE /100g de fruta fresca, mientras que Beserra *et al.*, (2001) reportaron $(38,1 \pm 0,7)$ mg GAE/100g BH.

Wen *et al.* (1999), encontraron e identificaron en el jugo de piña compuestos fenólicos como el S-sinapil-L-cisteína, N-L- γ -glutamyl-S-sinapil-L-cisteína y S-sinapilglutination.

Algunos ejemplos del contenido de polifenoles en algunos alimentos tanto en base seca como húmeda son los guisantes ((30-60) mg GAE/100 g BS) y las papas ((50-60) mg GAE/100 g BS), la zanahoria ((120-130) mg GAE/100 g BS), la coliflor (560 mg GAE/100 g BS), el brócoli (320 mg GAE/100 g BS), los nabos (320 mg GAE/100 g BS) las espinacas (720 mg GAE/100 g BS), las nectarinas ((107 \pm 26) mg GAE/100 g BH), la lechuga (100 \pm 57 mg GAE/100 g BH) y los tomates ((100 \pm 11) mg GAE/100 g BH), la fresa (1480 mg GAE/100g BH). Con un contenido similar a los mencionados anteriormente para la piña se encuentra la papaya (53 mg GAE/100 g BH) (Muñoz & Ramos, 2007; Puupponen *et al.*, 2003; Wu *et al.*, 2004).

Un ejemplo de que el uso de tratamientos no térmicos puede ser importante para preservar el contenido de compuestos antioxidantes de la piña es el mostrado en la investigación de Alothman *et al.* (2009), en el cual el aumento del contenido de fenoles totales en la piña no fue significativo, pero el contenido de flavonoides aumentó significativamente después de 10 minutos de tratamiento con ultravioleta. La capacidad antioxidante medida como FRAP (*ferric reducing antioxidant power*) y DPPH (*2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo*) se mantuvo estable durante todo el experimento para piña recién cortada.

Otros estudios muestran la necesidad de la utilización de tecnologías no térmicas en vez de las térmicas tradicionales para conservar de mayor manera propiedades como los polifenoles en frutas. Por ejemplo, un estudio realizado por Puupponen *et al.* (2003), menciona que las pérdidas de polifenoles oscilan entre un 20% y un 30%, después de una operación de escaldado y del almacenamiento en congelación lenta aplicada a zanahorias, papas y espinacas. También al tratar un jugo de manzana con US se dio un aumento significativo en los polifenoles (Abid *et al.*, 2013) y lo mismo sucedió al utilizar US con un jugo de uva (Aadil *et al.*, 2013).

3.5.2.2. *Vitamina C*

La vitamina C está compuesta por la suma de dos vitámeros, el ácido L-ascórbico (AA) y el ácido dehidroascórbico (DHA) y es un antioxidante hidrosoluble de gran importancia para el organismo (Donaldson, 2004). El DHA se estima que tiene entre el 80% y el 100% de la actividad biológica del AA, por lo tanto, cuando se quiere determinar la cantidad de la vitamina, también se debe cuantificar el DHA. En los alimentos, es común que estos vitámeros se encuentren ligados a proteínas (Kochhar & Rossell, 2012).

Debido a que se deben tomar en cuenta tanto el AA como el DHA para determinar la cantidad total de vitamina C, la detección de este compuesto no es sencilla. Aunque los vitámeros comparten similitudes, no se comportan de la misma manera químicamente. Por ejemplo, ambos absorben en el rango UV, pero a distintas longitudes de onda, AA absorbe a (245-265) nm y el DHA a (210-230) nm, además el DHA es más susceptible a interferencias presentes en los alimentos. Esta característica limita los solventes y reactivos que se pueden utilizar cuando se trata de analizar este compuesto (Russell, 2013).

En todas las células animales y vegetales se encuentra esta vitamina y es necesaria para producir colágeno, reparación de tejidos, metabolización de grasas y el fortalecimiento general del organismo, también se ha relacionado con la prevención del resfriado común, el envejecimiento, algunos tipos de cáncer y enfermedades del corazón (Kaur & Kapoor, 2001, Russell, 2004).

El farmacóforo de la vitamina C es el ion ascorbato. En organismos vivos, el ascorbato es un antioxidante, pues protege el cuerpo contra la oxidación y es un cofactor en varias reacciones enzimáticas vitales. El mecanismo de acción del ácido ascórbico está basado en la donación de un átomo de hidrógeno a radicales lipídicos, aceptor de oxígeno singulete y removedor de oxígeno molecular (Lee *et al.*, 2004).

El ácido ascórbico puede reaccionar fácilmente con radicales libres actuando como antioxidante y pasando a ser un radical ascorbilo que rápidamente se descompone para producir AA y DHA, además regenera el tocoferol a partir de los radicales tocoferilo. Por otro lado, el DHA es la forma oxidada de la vitamina C y sólo contiene función vitamínica y no antioxidante. Es importante mencionar además que la vitamina C es altamente biodisponible y es por lo tanto uno de los antioxidantes solubles en agua más importantes en las células. La Vitamina C puede proteger biomembranas y lipoproteínas de baja densidad del daño peroxidativo (Lee *et al.*, 2004).

La estabilidad de la vitamina C en frutas y derivados es atribuida al gran contenido de ácidos orgánicos y al efecto protector de los antioxidantes fenólicos, presentes en la fruta (Miller & Rice-Evans, 1997). Este efecto protector se debe a que los flavonoides fenólicos que están localizados en las vacuolas celulares, con ambientes de bajo pH y que comparten un espacio con la vitamina C en esta organela. Sin embargo, hay otra gran parte de la vitamina C en el citosol de todas las células de las plantas, así como también en otros compartimientos celulares (por ejemplo, cloroplastos), los cuales no gozan del efecto protector de los fenoles, ni del efecto ácido de las vacuolas. Todo esto deriva en una disminución de la vitamina C, debida a la disrupción celular y a las pérdidas extravacuolares de la misma durante el almacenamiento (Kalt *et al.*, 1999). Además, una de las características químicas más representativas de la vitamina C es su poca estabilidad. Al ser la vitamina más lábil, es utilizada como referencia o indicador de la estabilidad de las vitaminas hidrosolubles en un alimento (Herrera *et al.*, 2015).

Por otro lado, de acuerdo con Taylor (2016), la vitamina C en los alimentos es muy útil como antioxidante y por lo tanto evita la degradación de compuestos que dan sabor y olor, contribuyendo con la conservación de la calidad del producto. Este autor indica también que, en la formulación de bebidas y jugos es un componente de gran importancia y uno

de los factores a considerar durante la elaboración de jugos concentrados es que se debe agregar el ácido ascórbico luego de la etapa de concentración, pues de no ser así, el compuesto se degradaría por la exposición a las altas temperaturas.

La vitamina C representa del 65% al 100% del potencial antioxidante de las bebidas derivadas de cítricos, pero menos del 5% en jugo de manzana y piña (Gardner *et al.*, 2000).

Es importante el hecho de que las pérdidas de vitamina C en algunas frutas o jugos, no afecta de gran manera su capacidad antioxidante. Por ejemplo, Prior *et al.* (1998) y Kalt *et al.* (1999), en sus investigaciones, muestran que a pesar de las pérdidas de vitamina C en el arándano azul durante el almacenamiento, la capacidad antioxidante no se ve afectada.

En otra investigación, se concluyó que la vitamina C contribuye con menos de un 0,4% a la actividad antioxidante de la manzana (Eberhardt *et al.*, 2000), mientras que en otro artículo el aporte de la vitamina C a la actividad antioxidante es de entre un 0,4% y un 9,4% para frutas pequeñas como la fresa o la frambuesa (Kalt *et al.*, 1999).

Según Belitz & Grosch (1997), la concentración de ácido ascórbico en piña es de aproximadamente 25 mg/100 g de porción comestible, presentando mayores valores que frutas como la pera, la manzana, el melocotón o la ciruela. Hassimotto *et al.* (2005) reportaron para la piña una concentración de $(22,4 \pm 0,9)$ mg/100 g BH. Mozarina *et al.* (2011), mostraron una concentración de ácido ascórbico en la piña de $(13,0 \pm 0,9)$ mg/100 g BH, presentando un valor mayor que la papaya ($(8,6 \pm 0,0)$ mg/100 g BH), pero menor que para la ciruela ($(29,6 \pm 0,9)$ mg/100 g BH).

Se han desarrollado múltiples métodos para cuantificar la vitamina C, algunos son enzimáticos, químicos, electroquímicos, espectroscópicos y cromatográficos. Actualmente, los más utilizados son estos últimos, específicamente, la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) con detectores UV. Su uso se ha popularizado debido a que es de fácil acceso y es más rápida que otras técnicas, es sensible y selectiva (Russell, 2004; Devaki & Raveedran, 2017). Generalmente, en estudios para detectar y cuantificar vitamina C que involucran HPLC, se ha popularizado el uso de columnas cromatográficas C18 empaquetadas con partículas internas de diámetros menores a 5 μm , pues mejoran la

resolución de la columna y detección de absorbancia UV. Se han desarrollado además otras innovaciones en el análisis de este compuesto como el uso de columnas monolíticas, Cromatografía Líquida de Interacción Hidrofílica y Espectrometría de Masas (Russell, 2013; Eitenmiller *et al.*, 2008).

3.5.2.3. Carotenoides

Los carotenoides son un grupo de pigmentos orgánicos en su mayoría liposolubles que se encuentran de forma natural en plantas y otros organismos fotosintéticos como algas, algunas clases de hongos y bacterias y les proveen coloraciones brillantes. Pertenecen al grupo de los tetraterpenoides (40 átomos de carbono) y su esqueleto estructural consiste en unidades de isopreno formadas mediante biosíntesis (Wrolstad *et al.*, 2005; Damodaran *et al.*, 2008). Existen dos clases primarias de estos compuestos (figura 1), los carotenos, que son carotenoides hidrocarbonados como el caso del licopeno (carotenoide principal del tomate) y el β -caroteno (en la zanahoria) (Damodaran *et al.*, 2008) y las xantófilas, que contienen oxígeno en la forma de grupos hidroxilo, metoxilo o carboxilo, como ocurre en la luteína (encontrada en hojas verdes de varios vegetales) y la zeaxantina (en el maíz) (Damodaran *et al.*, 2008).

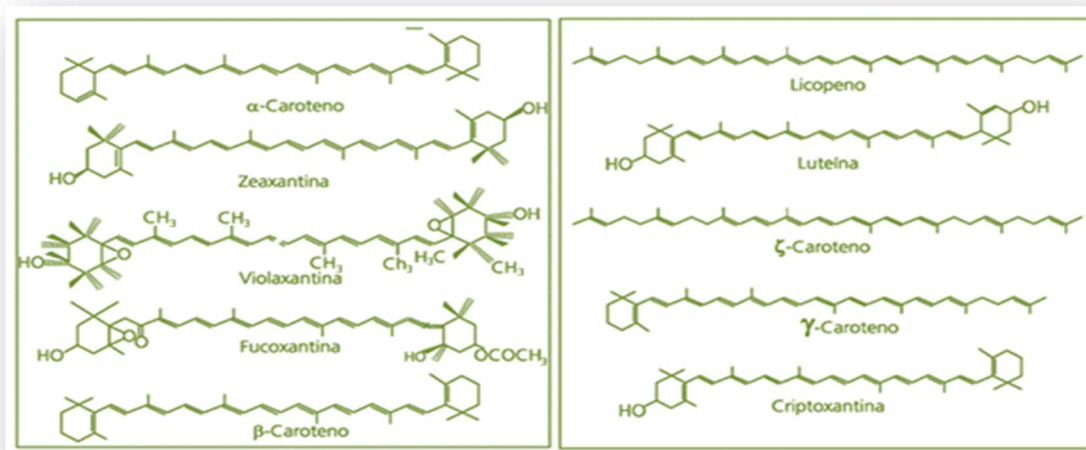


Figura 1. Estructura química general de algunos carotenoides (Modificado de Lee *et al.*, 2004).

Sliwka & Partali (2012) catalogaron la astaxantina como el mejor antioxidante, la crocina y la astaxantin-lisina como los más solubles en agua; mientras que los ésteres de carotenoides y los asociados con fosfolípidos fueron descritos como los más lipofílicos (Sliwka & Partali, 2012).

Otra de las clasificaciones que a menudo reciben los carotenoides se refiere a su actividad biológica como provitamina A que corresponden a aquellos que poseen grupos terminales con β -ionona, entre los que se encuentran el β -caroteno, α -caroteno y la β -criptoxantina (Namitha & Negi, 2010). En muchos países en desarrollo se presentan deficiencias de vitamina A y la contribución principal en la ingesta proviene de la provitamina A de los carotenoides presentes en los alimentos vegetales, lo cual puede equivaler a un 82% de la ingesta total de vitamina A (Kidmose *et al.*, 2006).

Durante muchos años, la importancia nutricional de los carotenoides se atribuyó a esa actividad provitamina A, siendo de mayor relevancia el β -caroteno (Souza *et al.*, 2008; Tarko *et al.*, 2009). Sin embargo, el interés por estos isoprenoides se ha multiplicado en los últimos años a raíz de una gran variedad de estudios que indican que en su función como antioxidantes podrían ser beneficiosos para la prevención de diversas enfermedades crónicas humanas (Meléndez *et al.*, 2007).

Debido a la presencia en su molécula de un cromóforo consistente total o principalmente en una cadena de dobles enlaces conjugados, los carotenoides proporcionan, a frutos y verduras, colores amarillos, anaranjados y rojizos (Meléndez *et al.*, 2004a). Los carotenoides son pigmentos estables en su ambiente natural, pero cuando los alimentos se calientan se vuelven mucho más lábiles. Se ha comprobado que los procesos de oxidación son más importantes cuando se pierde la integridad celular, de forma que en los vegetales triturados la pérdida de compartimentación celular pone en contacto sustancias que pueden modificar estructuralmente e incluso destruir los pigmentos (Meléndez *et al.*, 2004b).

Para el ser humano, estos pigmentos tienen aplicaciones importantes en la industria alimentaria y a nivel de salud. Estos son ampliamente utilizados como colorantes para alimentos, obteniéndose colores amarillo, anaranjado y rojo. Entre las actividades biológicas que se les atribuyen a los carotenoides se encuentran su acción antioxidante,

diferenciación celular, comunicación intercelular, inhibición de mutagénesis e intervención en la respuesta inmune (Deming *et al.*, 2002).

Los carotenoides, con algunas excepciones, son insolubles en agua y, por lo tanto, las pérdidas por lixiviación durante el lavado y procesamiento de frutos son mínimas en comparación con los antioxidantes hidrofílicos. Por otro lado, al ser altamente insaturados, estos compuestos son susceptibles a la isomerización y oxidación durante el procesamiento de los alimentos (Rodríguez, 1999). La congelación, la adición de antioxidantes y la exclusión del oxígeno disminuyen las pérdidas durante el procesado y almacenamiento de los alimentos (Meléndez *et al.*, 2004b). Se han reportado efectos negativos de los tratamientos térmicos (debido a la oxidación) y efectos positivos (incremento de la biodisponibilidad) sobre el contenido de carotenoides. Los procesos térmicos provocan un aparente incremento de su concentración, posiblemente debido a que hay una mayor extracción, a la degradación o inactivación enzimática y a las pérdidas de humedad y sólidos solubles que concentran la muestra por unidad de peso. Sin embargo, el calor siempre induce la isomerización *cis/trans* que se traduce en la formación de subproductos de los carotenoides. Por lo general, los carotenos con mayor actividad biológica son aquellos que tienen todos sus dobles enlaces en forma del isómero *trans*, el cual se transforma parcialmente en la forma *cis* durante tratamientos térmicos en ausencia de oxígeno. Diversos estudios revelan que la degradación del β -caroteno debida a diferentes condiciones de calentamiento sigue una cinética de primer orden (Meléndez *et al.*, 2004b).

El grado de cambio en los carotenoides depende del tipo de vegetal, el método de cocción y las condiciones de tiempo y temperatura. Por otro lado, el calor provoca la inactivación de enzimas y la ruptura de estructuras del alimento, generando un incremento en la biodisponibilidad de este tipo de compuesto (Puupponen *et al.*, 2003).

El ser humano no tiene la capacidad de sintetizar carotenoides, por tanto, la presencia de ellos en el organismo depende de la ingesta de alimentos con alto contenido de éstos (Rodríguez-Amaya & Kimura, 2004).

En la dieta humana los carotenoides son aportados fundamentalmente por frutas y hortalizas y en pequeña proporción a partir de fuentes animales y a través de los aditivos

alimentarios (colorantes). De los casi cincuenta carotenoides disponibles en la dieta humana, que pueden ser absorbidos y metabolizados, sólo seis representan más del 95% de los carotenoides totales en sangre y son los habitualmente estudiados en el contexto de la dieta y salud humana. La mitad de estos compuestos tienen actividad provitamínica A, son el β -caroteno, el α -caroteno y la β -criptoxantina, los otros tres no tienen dicha capacidad, son el licopeno, la luteína y la zeaxantina (Maiani *et al.*, 2009).

En la piña se puede encontrar β -caroteno y luteína (figura 1) en los cromoplastos principalmente. Estos son dos de los carotenoides más relevantes, el primero por ser un precursor de vitamina A y la luteína por utilizarse como aditivo, antioxidante y por su acción protectora de los ojos y de la piel (Belitz & Grosch, 1997; Gross, 1987). También se han encontrado cantidades bajas de α -caroteno (Ordoñez *et al.*, 2014).

Estudios basados en el β -caroteno, han mostrado que este compuesto puede reducir las probabilidades de ataques cardíacos, funciona como un antioxidante liposoluble y aumenta la eficiencia del sistema inmunitario (Meléndez *et al.*, 2007). En la farmacopea de numerosos países se utiliza como protector de la radiación ultravioleta tomado por vía oral. Su dosis diaria definida es de 0,1 g. Ello se debe a que se ha demostrado que puede reducir la probabilidad de incidencia de algunos tipos de cáncer de piel (Meléndez *et al.*, 2007). En muchos países en desarrollo, la contribución principal en la ingesta de vitamina A proviene de los carotenoides con actividad provitamina A presentes en los alimentos vegetales (Kidmose *et al.*, 2006).

Otro carotenoide de interés es la luteína, compuesto químico derivado del dihidroxilado del α -caroteno y perteneciente al grupo de las xantófilas. Es un pigmento amarillo-anaranjado encontrado en plantas yema de huevo, algas y bacterias fotosintéticas entre otros. Este carotenoide se utiliza como aditivo en los alimentos (Meléndez *et al.*, 2007).

Cada uno de los grupos hidroxilo sustituyentes crean un nuevo carbono quiral, por lo que pueden existir 8 estereoisómeros diferentes de la luteína, siendo el (3R, 3'R, 6'R) el que ocurre con mayor frecuencia (Rodríguez-Amaya, 2001). Debido a que los animales no producen luteína, este compuesto se incluye dentro de los complementos alimentarios como antioxidante. Junto con la zeaxantina se encuentran en la mácula ocular. A la luteína se le relaciona con la reducción de la degeneración de la mácula ocular, teniendo como

efecto una mejor visión y evita la progresión de las cataratas. También se le considera como un filtro de la piel para la luz de mayor frecuencia o menor longitud de onda (azul o violeta) (Meléndez *et al.*, 2007).

Ordoñez *et al.* (2014) reportaron para residuos del procesado de la piña (cáscara, semillas restos de pulpa y fibra) un contenido de carotenoides de $1,29 \pm 0,13$ mg β -caroteno E /100g BH, el cual no mostró diferencias significativas con los residuos de naranja ($0,70 \pm 0,17$), pero obtuvo valores menores que los residuos de papaya ($5,88 \pm 0,35$) y guayaba ($4,20 \pm 2,33$). Los residuos de piña evaluados por Silva *et al.* (2014) no superaron los valores indicados anteriormente para este fruto, ya que se obtuvo entre 0,13-0,156 mg β -caroteno/100g BH.

3.5.3. Desarrollo de radicales libres en el organismo

Aproximadamente del 1% al 5% del oxígeno consumido por un organismo, va a la formación de especies reactivas del oxígeno, de las cuales varias son radicales libres (Souza *et al.*, 2008). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se encuentran ampliamente implicadas en el desarrollo de padecimientos, pues en exceso pueden degradar o modificar moléculas como lípidos, proteínas, enzimas e incluso el ácido desoxirribonucleico (Silva *et al.*, 2005; Barreira *et al.*, 2008). Estos compuestos son subproductos naturales del metabolismo humano y, a pesar de que el cuerpo mantiene un balance por medio de los sistemas de defensa naturales, se debe de proveer al organismo de compuestos antioxidantes adicionales a través de la dieta con el fin de reforzar el sistema inmune (Barreira *et al.*, 2008; Chirinos *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2008).

Cuando la generación de estas especies sobrepasa las barreras de defensa antioxidantes del organismo se produce un gran aumento del daño por lesión química de las estructuras biológicas y este proceso se conoce como “estrés oxidativo”, dando lugar a diversos tipos de lesiones o enfermedades (figura 2) que podrían llevar inclusive a la muerte (Urquiaga, *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2004). En organismos aerobios, la mitocondria consume más del 90% del oxígeno, siendo la principal fuente de ROS y radicales libres. El oxígeno en la mitocondria es reducido a agua por cuatro pasos secuenciales (Lee *et al.*, 2004). Estas especies con oxígenos activos incluyen el radical perhidroxilo ($\text{HO}_2\bullet$), el anión superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo ($\text{OH}\bullet$) (Lee *et al.*, 2004).



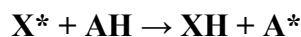
Figura 2. Efectos de las especies reactivas del oxígeno (ROS) para el organismo (Modificado de Lee *et al.*, 2004).

3.5.4. Mecanismos de acción de los compuestos antioxidantes

La actividad de los compuestos antioxidantes se relaciona con diferentes mecanismos tales como la “captación” de radicales libres, la donación de átomos de hidrógeno, la neutralización de oxígeno singulete, la quelación de iones metálicos y su capacidad como agentes reductores (Barreira *et al.*, 2008; Chirinos *et al.*, 2008; Magalhães *et al.*, 2009).

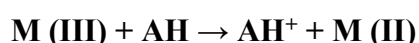
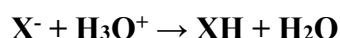
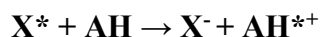
Los mecanismos de acción de los antioxidantes ante los radicales libres o fuentes de oxidación se explican en términos generales mediante dos métodos: transferencia de átomos de hidrógeno (HAT por sus siglas en inglés) y transferencia simple de electrones (SET por sus siglas en inglés). Ambos mecanismos pueden ocurrir en forma paralela y el mecanismo dominante en un sistema dado estará determinado por la estructura y propiedades del antioxidante, solubilidad, coeficiente de partición y el sistema solvente. La energía de disociación del enlace (BDE) y el potencial de ionización (IP) son los factores más importantes para determinar los mecanismos y la eficacia de los antioxidantes (Wright, *et al.*, 2001, citado por Prior *et al.*, 2005).

Los métodos basados en HAT, muestran la habilidad de un antioxidante de atrapar radicales libres por donación de hidrógeno (AH = cualquier donador de hidrógeno).



[donde “X” = molécula oxidante, “A” = compuesto con potencial actividad antioxidante]

Los métodos basados en SET detectan la habilidad de un antioxidante en transferir un electrón para reducir cualquier compuesto, incluyendo metales, carbonilos y radicales:



3.5.4.1. Capacidad antioxidante

Las frutas, vegetales, especias, hierbas y bebidas como el té y el vino son alimentos típicos que contienen varios compuestos nutracéuticos antioxidantes (Huang *et al.*, 2005; Barreira *et al.*, 2008; Chirinos *et al.*, 2008; Bhat *et al.*, 2011). La actividad antioxidante de jugos y frutas está correlacionada con su contenido de vitaminas antioxidantes, incluyendo el ácido ascórbico (vitamina C), el α -tocoferol (vitamina E) y el β -caroteno (Souza *et al.*, 2008; Tarko *et al.*, 2009). Sin embargo, varios estudios indican que los compuestos polifenólicos son los principales fitoquímicos con propiedades antioxidantes en las plantas superiores (Magalhães *et al.*, 2009). Algunos autores encontraron una alta correlación entre el contenido fenólico y la actividad antioxidante (Kuskoski *et al.*, 2005; Mahattanatawee *et al.*, 2006; Reddy *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2014; Thaipong *et al.*, 2006), mientras que otros no encontraron ninguna relación (Imeh & Khokhar, 2002; Ismail *et al.*, 2004). En general, es un hecho bien aceptado que a medida que aumenta el contenido fenólico total en un producto vegetal después del procesamiento (o cualquier tipo de tratamiento), se produce un aumento correspondiente en la capacidad antioxidante. Además, el potencial antioxidante aumenta en productos que contienen altas concentraciones de ácido ascórbico (Bhat *et al.*, 2011; Mozarina *et al.*, 2011).

Se ha determinado que el consumo de una dieta pobre en antioxidantes resulta en un descenso en la capacidad antioxidante en el plasma sanguíneo, mientras que, al adicionar frutas a la misma dieta, no solo se previene dicho descenso, sino que se observa un

aumento en dicha capacidad (Jensen *et al.*, 2008). Al respecto, numerosos estudios epidemiológicos han demostrado una clara asociación entre el consumo regular de frutas y vegetales y la reducción en la incidencia de males cardíacos, cáncer y enfermedades degenerativas, así como en la reducción de los efectos deletéreos del envejecimiento (Huang *et al.*, 2005; Wolfe & Liu, 2007; Honzel *et al.*, 2008; Magalhães *et al.*, 2009; Schaich *et al.*, 2015).

Existen diversos métodos, ya sea *in vitro* o *in vivo*, para evaluar la capacidad antioxidante en los alimentos, incluyendo suplementos vitamínicos, extractos de varios productos naturales de plantas, animales, hongos y bacterias e incluso plasma sanguíneo (Huang *et al.*, 2005; Prior *et al.*, 2005; Honzel *et al.*, 2008).

Una de las estrategias más aplicables en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias cromógenas de naturaleza radical. La pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración de antioxidantes. No obstante, generalmente las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* brindan solamente una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo* (Kuskoski *et al.*, 2005).

La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes. Debido a la complejidad de la composición de los alimentos, separar cada compuesto antioxidante y estudiarlo individualmente resulta costoso e ineficiente. Además, la capacidad antioxidante también depende del microambiente en que se encuentra el compuesto. Los compuestos interactúan entre sí produciendo efectos sinérgicos o inhibitorios (Kuskoski *et al.*, 2005, Huang *et al.*, 2005).

Entre los métodos para determinar la capacidad antioxidante de frutas y vegetales y sus productos, se pueden mencionar **ABTS** (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico), **DPPH** (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo), **FRAP** (*ferric reducing antioxidant power*), **ORAC** (*oxygen radical absorption capacity*) y **TEAC** (*Trolox equivalent antioxidant capacity*). Estos métodos difieren unos de otros en el sustrato utilizado, las condiciones de reacción y el método de cuantificación (Huang *et al.*, 2005).

Se han realizado diversas investigaciones para determinar la capacidad antioxidante con varios de los métodos anteriormente mencionados. La capacidad antioxidante que se cuantifique para determinada fruta depende enormemente de la variedad, de las condiciones ambientales, del manejo postcosecha y las condiciones de procesamiento. Sin embargo, se han realizado estudios para poder determinar cuáles son los valores de HORAC de diferentes frutas y poder categorizarlas (Vicente *et al.*, 2011).

El método ORAC es el de mayor relevancia debido a que utiliza una fuente de radicales biológica (AAPH) y como solución patrón de antioxidante el Trolox que es el análogo soluble en agua de la vitamina E y es el que vamos a utilizar en esta investigación para ver el efecto que causa el US sobre la capacidad antioxidante del jugo de piña pulposo (Thaipong *et al.*, 2006; Schaich *et al.*, 2015).

En nuestro organismo los radicales libres ($\cdot O_2^-$, $HO\cdot$, $NO\cdot$, $ONOO^-$, $HOCl$, $ROO\cdot$) recorren nuestro cuerpo intentando captar un electrón de las moléculas estables, con potenciales reacciones destructoras de nuestras células alterando el ADN, las proteínas y los lípidos o grasas. Estos radicales libres reaccionan con los antioxidantes (dismutasa, peroxidasa, catalasa, albúmina, ferritina, ácido ascórbico, ácido úrico, tocoferoles, carotenoides, polifenoles, entre otros) que se oxidan más fácilmente y neutralizan las acciones dañinas (Sáenz, 1999; Prior *et al.*, 2005).

3.5.5. Biodisponibilidad de los antioxidantes

Es indispensable considerar la biodisponibilidad de los antioxidantes, pues la forma que se encuentran en los alimentos no necesariamente es la misma en la que se encuentra en la sangre o en los tejidos una vez que estos compuestos han sido metabolizados y absorbidos (Liu & Finley, 2005; Wolfe & Liu, 2007; Honzel *et al.*, 2008; Noguer *et al.*, 2008).

La biodisponibilidad de los antioxidantes de un alimento puede ser influenciada por varios factores, entre ellos su estado en la matriz alimentaria, la digestión, el procesamiento del alimento y el grado de madurez de los productos vegetales (Wang & Lin, 2000; Lee *et al.*, 2004; Liu & Finley, 2005; Bermúdez-Soto *et al.*, 2007). Además, para ejercer su actividad biológica, el metabolismo de los antioxidantes debe ser tomado en cuenta, ya que solo

podrán ser disponibles aquellos compuestos liberados por la matriz alimentaria por acción de enzimas digestivas y la fermentación bacteriana en el colon (Cilla *et al.*, 2009).

Con base en Tarko *et al.* (2009), la digestión de los polifenoles en el organismo puede conllevar transformaciones en dichos compuestos en tres niveles principales:

- a. Los productos absorbidos por el metabolismo intestinal son transportados en la sangre hasta el hígado, donde son modificados enzimáticamente.
- b. Algunos polifenoles y sus derivados son transportados desde el hígado a diferentes tejidos y a los riñones, donde ocurre una transformación subsecuente o son excretados en la bilis.
- c. Metabolitos polifenólicos que no son digeridos y absorbidos en el intestino delgado son metabolizados activamente por la microbiota del intestino grueso (Bermúdez-Soto *et al.*, 2007).

A manera de ejemplo se tienen los elagitaninos y el ácido elálgico, compuestos fenólicos que han recibido mucha atención por su alta actividad antioxidante *in vitro* (Wang & Lin, 2000). Estos compuestos no son absorbidos como tales, sino que son metabolizados por la flora intestinal produciendo urolitinas, las cuales son detectadas en concentraciones importantes en el plasma, la orina y las heces. Esto explica la razón de que en numerosos estudios no se encuentren trazas de elagitaninos después del consumo de productos ricos en dichos compuestos (Cerdá *et al.*, 2005; Espín *et al.*, 2007).

De manera similar, se ha observado que la absorción de licopeno de tomates frescos y de β -caroteno de zanahorias crudas es significativamente menor que la observada a partir de jugo de tomate o zanahorias cocidas. Esto es debido a que este tipo de compuestos se absorben de mejor manera en su forma *cis* que *trans* (a diferencia de otros carotenoides). Aunque en los alimentos el licopeno se ingiere en su forma *trans*, *in vivo* se presenta una isomerización que lo convierte en su forma *cis* y así son encontrados en el plasma, tejidos y en el suero sanguíneo (Lee *et al.*, 2004).

Para el caso de la vitamina C, se ha sugerido que el ácido ascórbico se absorbe mejor en el intestino humano que su forma oxidada, el ácido dehidroascórbico, el cual también posee función vitamínica (Kim & Lee, 2004).

Por otra parte, la interacción con otros componentes dentro del alimento frecuentemente va a afectar de manera compleja la biodisponibilidad de los antioxidantes, ya que pueden darse múltiples tipos de efectos como adición, sinergismo, mejoramiento, inhibición, enmascaramiento, neutralización o incluso oposición, causando un antagonismo competitivo en algún receptor, o bien “secuestrando” algún compuesto antioxidante (Jeffery, 2005).

Como referencia, se han identificado como compuestos no biodisponibles, polifenoles de alto peso molecular asociados a fibra dietaria y compuestos indigeribles de los alimentos (Noguer *et al.*, 2008). De esta manera, con el estudio de componentes individuales usualmente no se obtienen los mismos resultados de biodisponibilidad que con el estudio del alimento completo.

3.5.6. *El procesamiento térmico y la actividad antioxidante*

Considerando los numerosos beneficios para la salud con el consumo de antioxidantes naturales, la calidad nutricional de los alimentos procesados es de gran interés para la industria alimentaria. En este sentido, el procesamiento térmico es una de las tecnologías más utilizadas para garantizar la inocuidad microbiológica de los productos (Christen & Smith, 2000; Damodaran *et al.*, 2008), pero, además, el tratamiento térmico es una operación de procesamiento de los alimentos que se considera responsable de la degradación de sus propiedades nutricionales naturales (Nicoli *et al.*, 1999; Christen & Smith, 2000; Damodaran *et al.*, 2008).

Particularmente, las frutas son productos altamente perecederos que son tratados térmicamente para ayudar a su preservación, además de ser ampliamente procesados en jugos, batidos o concentrados, además de ser comercializados deshidratados o enlatados, sea enteros o en trozos (Rawson *et al.*, 2011).

El procesamiento térmico puede ser alcanzado con una variedad de técnicas: a) empleando agua caliente o vapor, como en la cocción, escaldado, pasteurización, esterilización, evaporación o extrusión; b) con aire caliente, por ejemplo, en el horneado, asado o secado; c) por medio de aceite caliente, en el caso de la fritura; d) aplicando energía irradiada, que

incluye microondas, radiación infrarroja o radiación ionizante (Ramaswamy & Marcotte, 2006).

3.5.6.1. *Pasteurización*

La pasteurización es un tratamiento térmico moderado, en el que los alimentos son calentados a temperaturas menores a 100 °C (Christen & Smith, 2000; Damodaran *et al.*, 2008). En alimentos de baja acidez ($\text{pH} > 4,5$ como la leche), este proceso se aplica para destruir especies microbianas vegetativas seleccionadas (principalmente patógenos) y extender la vida útil del producto; mientras que en alimentos ácidos ($\text{pH} < 4,5$ por ejemplo frutas como la piña), la pasteurización se utiliza para extender la vida útil del producto por destrucción de microorganismos de deterioro (mohos y levaduras) y/o por inactivación de enzimas (Fellows, 2000). Debido a que este proceso no elimina todas las bacterias vegetativas, sobre todo las formadoras de esporas, los alimentos pasteurizados deben ser contenidos y almacenados bajo condiciones de refrigeración, con o sin aditivos químicos o en empaques con atmósfera modificada, de manera que se minimice el crecimiento microbiano (Ramaswamy & Marcotte, 2006). La severidad del tratamiento térmico y la duración del almacenamiento, dependen de la naturaleza del producto, las condiciones de pH, la resistencia térmica de los microorganismos o enzimas objetivo, la sensibilidad del producto y la forma de aplicación del calor (Fellows, 2000). Algunas de estas condiciones son resumidas en el cuadro 2. La mayoría de las operaciones industriales de pasteurización que involucran líquidos (leche, productos lácteos, cerveza, jugos de fruta, huevo líquido, entre otros), son llevadas a cabo en intercambiadores de calor continuos, en los cuales la temperatura del producto es elevada rápidamente al nivel de pasteurización en un primer intercambiador de calor, luego se mantiene por el período de tiempo requerido en tubos contenedores y finalmente es enfriado rápidamente en un segundo intercambiador de calor. En el caso de fluidos viscosos, usualmente se emplea un intercambiador de calor de barrido de superficie (SSHE por sus siglas en inglés), para promover la rápida transferencia de calor y también prevenir problemas por acumulación de producto (Ramaswamy y Marcotte, 2006).

Cuadro 2. Propósito de la pasteurización en algunos alimentos.

Alimento	Objetivo principal	Objetivo secundario	Condiciones mínimas de proceso
Jugo de fruta	Inactivación de enzimas (pectinesterasa y poligalacturonasa)	Dstrucción de MO de deterioro (levaduras y hongos).	65 °C x 30 min 77 °C x 1 min 88 °C x 15 s
Cerveza	Dstrucción de MO de deterioro (levaduras nativas – Lactobacillus- y levaduras residuales – <i>Saccharomyces</i> -).	(65-68) °C x 20 min
Leche	Dstrucción de patógenos (<i>Brucella abortis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Coxiella burnettii</i>).	Dstrucción de MO y enzimas de deterioro.	63 °C x 30 min 71,5 °C x 15 s
Huevo (líquido)	Dstrucción de patógenos (<i>Salmonella</i> Seftenburg).	Dstrucción de MO de deterioro	64,4 °C x 2,5 min 60 °C x 3,5 min
Helados	Dstrucción de patógenos.	Dstrucción de MO de deterioro.	65 °C x 30 min 71 °C x 10 min 80 °C x 15 s

Modificado de: Ramaswamy & Marcotte (2006).

3.5.6.2. Efecto del tratamiento térmico sobre los compuestos funcionales de los alimentos

Las operaciones de procesamiento de los alimentos, particularmente el tratamiento térmico, se consideran responsables de la degradación de las propiedades nutricionales naturales de los alimentos (Nicoli *et al.*, 1999; Christen & Smith, 2000; Damodaran *et al.*, 2008). El cuadro 3 resume los efectos del tratamiento térmico reportados en distintas investigaciones con frutas, en el cual se puede apreciar una reducción de los niveles de compuestos bioactivos en la mayoría de los casos.

Cuadro 3. Efecto del procesamiento térmico en el contenido de compuestos bioactivos de algunas frutas exóticas.

Fruta	Tipo	Condiciones	Parámetros afectados
Piña	Cubos	Escaldado a (70, 85 o 100) °C x (2, 4, 6, 8, 10 o 12) min. Secado a 65 °C x (5-6) h.	↓ Carotenoides ↓ Antocianinas
	Jugo	Tratamiento a (55-85) °C x 80 min.	↑ Hidroximetilfurfural ↓ Carotenoides
Papaya	Cubos	Secado a 65 °C x (5-6) h.	↓ Carotenoides ↓ Antocianinas
	Fruto	Enlatado a 95 °C x 45 min	↓ Ácido ascórbico ↓ Caroteno
Mango	Fruto	Tratamiento con agua a 46,1 °C x 75 min.	↔ Ácido gálico ↔ Capacidad antioxidante
	Fruto	Inmersión en agua a (46 o 50) °C x (30 o 75) min.	↔ Carotenoides totales ↔ Ácido ascórbico
	Fruto	Escaldado a 80 °C x 5 min. Enlatado a 95 °C x 35 min.	↓ Ácido ascórbico ↓ Caroteno
	Puré	Tratamiento a (85 o 93) °C x 16 min	↓ Vitamina A ↓ Polifenol oxidas
	Trozos	Secado con aire caliente a 60 °C x 20 h.	↓ Carotenoides totales
Mora	Extracto del fruto	Almacenado a 70 °C x 10 h.	↓ Antocianinas totales ↓ Ácido ascórbico
Tomate de árbol	Néctar	Pasteurizado a (80, 90 o 95) °C x 10 min.	↓ Ácido ascórbico ↔ Carotenoides totales
Acerola	Jugo/pulpa	Pasteurizado industrial.	↓ Quercetina ↓ Kaempferol
Marañón	Jugo	Tratado a 90 °C x (1, 2 o 4) h.	↓ Xantófilas ↑ Isómeros cis carotenoides

	Jugo/pulpa	Pasteurizado industrial.	↓ Quercetina ↓ Kaempferol ↓ Miricetina
Pitanga	Jugo/pulpa	Pasteurizado industrial.	↓ Quercetina ↓ Kaempferol ↓ Miricetina

Simbología: ↓=decrecimiento, ↑=aumento, ↔=sin cambios.

Modificado de: Rawson *et al.* (2011).

Uno de los cambios más importantes que puede producirse con el tratamiento térmico es el movimiento de agua y sólidos en el alimento, por lo que, en productos acuosos mayoritariamente, como resultado de un tratamiento con calor puede ocurrir dilución, deshidratación o pérdida de sólidos totales, lo cual puede relacionarse directamente con la disminución de nutrientes (Christen & Smith, 2000; Damodaran *et al.*, 2008).

A nivel molecular pueden ocurrir diversas reacciones durante el tratamiento térmico de los alimentos, tales como desnaturalización de proteínas, oxidación lipídica, transformación de compuestos menores (como las vitaminas) y reacciones que involucran aminoácidos libres o asociados a proteínas como la reacción de Maillard (Arnoldi, 2002).

Las vitaminas constituyen uno de los componentes de los alimentos más sensibles al deterioro por el calor (Fellows, 2000; Arnoldi, 2002; Ramaswamy & Marcotte, 2006). Los mecanismos de degradación de vitamina C en los alimentos pueden seguir una vía aeróbica (reacciones dependientes de oxígeno) o una vía anaeróbica (Fellows, 2000). Estas dos vías presentan productos intermedios de degradación difíciles de distinguir por análisis químicos, pero ambas conducen a la formación de ácido dehidroascórbico, el cual por degradación posterior (reacción irreversible) forma el ácido 2,3-diketogulónico, el cual es carente de actividad de vitamina C (Rawson *et al.*, 2011).

La estabilidad de las vitaminas varía según la matriz en la que se encuentra o de acuerdo con el tipo de operación de procesamiento. La vitamina C y la tiamina son los compuestos más susceptibles a la degradación por acción del calor (Damodaran *et al.*, 2008). Por su parte, las vitaminas liposolubles son las más estables, aunque pueden ser degradadas mediante oxidación, en especial cuando son calentadas. Por tanto, las pérdidas de vitaminas y, por ende, el valor nutritivo y posible actividad antioxidante de los alimentos, pueden ser considerablemente menores durante un tratamiento térmico prolongado (Christen & Smith, 2000).

Los carotenoides son compuestos bioactivos sensibles al oxígeno, calor y luz (Damodaran *et al.*, 2008). Por ejemplo, el calentamiento de un jugo de marañón condujo a pérdidas significativas de luteína y violaxantina (Zepka & Mercadante, 2009).

Por otro lado, la exposición al tratamiento térmico puede inducir isomerización de los carotenoides, lo cual adquiere relevancia, por el hecho de que se ha reportado que las configuraciones *cis* presentan mayor capacidad antioxidante que las formas originales de dichos compuestos (Rawson *et al.*, 2011).

En un estudio sobre el efecto del calentamiento sobre los carotenoides del jugo de marañón, se registró un descenso en los niveles de los carotenoides *trans*, acompañado de un incremento de los isómeros *cis* y de productos de oxidación, conforme aumentaba la temperatura y el tiempo de tratamiento (Zepka & Mercadante, 2009).

Además de la pérdida de color, al aplicar tratamientos térmicos los compuestos originados por la oxidación de los carotenoides pueden presentar efectos perjudiciales *in vivo*, a través de la generación de estrés oxidativo, inducción de citotoxicidad e inhibición de los mecanismos de comunicación intercelular (Rawson *et al.*, 2011).

En resumen, los principales efectos sobre las propiedades antioxidantes intrínsecas de los alimentos, debido al tratamiento térmico en operaciones de procesamiento y preservación son:

- a. Pérdida de antioxidantes naturales: algunas vitaminas hidrosolubles como el ácido ascórbico son susceptibles a pérdidas considerables por el tratamiento térmico (Damodaran *et al.*, 2008). Los polifenoles también son particularmente sensibles a la degradación por tratamientos térmicos (Dhuique-Mayer *et al.*, 2007; Cisse *et al.*, 2009), puede darse pérdida de polifenoles en alimentos tratados con calor, por su consumo como reactantes en la reacción de Maillard (Nicoli *et al.*, 1999). Esta pérdida produce una caída en la capacidad antioxidante relativa a medida que se aumenta el tiempo de calentamiento como se observa en la Figura 3.
- b. Mejoramiento de las propiedades antioxidantes: algunos polifenoles exhiben mayores propiedades de “captación” de radicales libres en estados intermedios de oxidación, como el caso de la catequina (Nicoli *et al.*, 1999). Asimismo, gracias a la inactivación térmica de la polifenol oxidasa, en jugo de arándano se reporta un incremento en la actividad antioxidante (Rossi *et al.*, 2003). Por otra parte, se ha demostrado que el procesamiento térmico aumenta la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad del

licopeno en pastas de tomate, principalmente debido a una mayor liberación de licopeno de la matriz celular (Dewanto *et al.*, 2002).

- c. Formación de compuestos nuevos con actividad antioxidante: los productos de la reacción de Maillard, que pueden formarse como consecuencia de los tratamientos térmicos, pueden exhibir propiedades antioxidantes fuertes, como ocurre en el caso del té o el tostado del café (Nicoli *et al.*, 1999). En el caso del café, se ha demostrado que los productos de la reacción de Maillard son los principales contribuyentes a la capacidad antioxidante de las infusiones de café, sobrepasando a la cafeína y los ácidos clorogénicos (Liu & Kitts, 2011). Estos antioxidantes neoformados aumentan la actividad antioxidante relativa o ayudan después de un lapso de calentamiento a mantener o inclusive aumentar la actividad antioxidante total de la matriz (Figura 3).
- d. Formación de compuestos nuevos con actividad pro-oxidante: además de las destacadas propiedades antioxidantes reportadas en la literatura, los productos de la reacción de Maillard también pueden exhibir propiedades pro-oxidantes, principalmente en las etapas iniciales de la reacción, donde se forman radicales altamente reactivos relacionados con el desarrollo de pardeamiento del alimento (Nicoli *et al.*, 1999).

Como conclusión hay que considerar que las reacciones mencionadas anteriormente podrían ocurrir de manera simultánea en una matriz alimentaria. Por lo que al someter una matriz a un tratamiento térmico por un tiempo determinado se ve modificada su actividad antioxidante relativa (Figura 3).

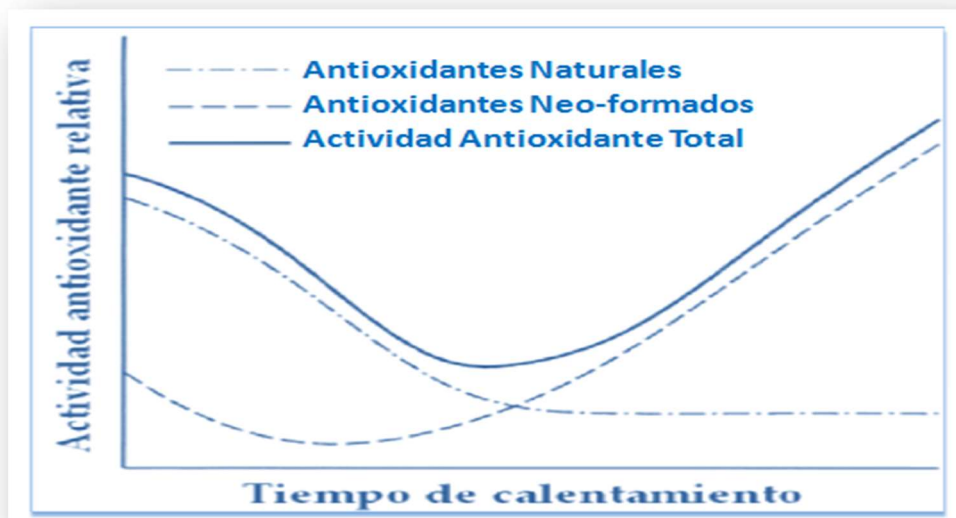


Figura 3. Cambios en la actividad antioxidante global debido a eventos diferentes y simultáneos en una matriz alimentaria sometida a calentamiento (Modificado de Nicoli et al., 1999).

En resumen, los principales efectos sobre las propiedades antioxidantes intrínsecas de los alimentos debido al tratamiento térmico se pueden agrupar en tres clases principales (cuadro 4), dichos efectos se detallan seguidamente.

Cuadro 4. Cambios en la actividad antioxidante global de los alimentos debido al tratamiento térmico en operaciones de procesamiento y preservación.

Efecto	Posibles fenómenos asociados
Sin cambios	<ul style="list-style-type: none"> • La concentración de los antioxidantes naturales del alimento se mantiene inalterada. • La pérdida de antioxidantes naturales es balanceada por la formación simultánea de compuestos con propiedades antioxidantes nuevas o mejoradas.
Aumento	<ul style="list-style-type: none"> • Mejoramiento de las propiedades antioxidantes de los compuestos naturales del alimento. • Formación de compuestos nuevos con actividad antioxidante.
Disminución	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdida de los antioxidantes naturales del alimento. • Formación de compuestos nuevos con actividad pro-oxidante.

3.6. Tecnologías no térmicas

Los tratamientos no térmicos de conservación son los que no utilizan el calor como fuente primordial para preservar la vida útil de los alimentos. La cada vez mayor demanda de alimentos mínimamente procesados por parte del consumidor ha impulsado, entre muchas otras cosas, el desarrollo de nuevos métodos de conservación. Los procesos no térmicos, como la alta presión hidrostática, las atmósferas modificadas, la luz ultravioleta, los campos magnéticos, pulsos eléctricos, los campos oscilantes, la osmosonificación y el ultrasonido, son algunos ejemplos de ello. Estos mecanismos pueden utilizarse para procesar el alimento sin que se vea muy afectada su calidad nutricional y funcional y, por tanto, manteniendo sus características sensoriales.

Algunas de las ventajas que brindan son:

- Bajo consumo de energía y coste competitivo.
- Respeto al medio ambiente.
- Mayor vida útil (inactivación de microorganismos y enzimas, disminuye la carga microbiológica).
- Minimizan impacto sobre características sensoriales y antioxidantes o vitaminas (valor nutricional).

En la presente investigación se trabajó con la tecnología no térmica de conservación, el US.

3.6.1. *El ultrasonido*

El ultrasonido también conocido como sonicación, es un proceso mediante el cual se generan ondas de presión con una frecuencia igual o mayor a 20 kHz (Gallo *et al.*, 2018). De acuerdo con Patist & Bates (2008) y Knorr *et al.* (2004), para generar ondas de ultrasonido se utiliza el principio de transformación electrostrictiva basado en la deformación ferroeléctrica de materiales en un campo de alta frecuencia eléctrica. Para lograr la polarización de las moléculas, se transmite una corriente alterna al material a través de dos electrodos, luego se da una conversión de la energía en oscilación mecánica

y las ondas se transmiten al medio a través de un amplificador y una sonda (Gallo *et al.*, 2018; Knorr *et al.*, 2004; Patist & Bates, 2008).

Las ondas US son caracterizadas con base en su frecuencia, sin embargo, también son importantes características la longitud de onda, energía, potencia o intensidad. La longitud de onda dependerá del medio en el que se está transmitiendo la onda, por lo que en el caso de aplicación en alimentos es variable. Por otra parte, los equipos que se utilizan para generar ondas de ultrasonido (transductor), proveerán ondas con una cantidad de energía dada por la potencia (W). Sin embargo, la cualidad que se utiliza para indicar la energía que se aplica en determinada situación es la intensidad, calculada a partir de la potencia y del área de superficie del haz expresada en W/cm^2 (Knorr *et al.*, 2011; Patist & Bates, 2008).

Con base en lo anterior, las aplicaciones se clasifican en alta o baja energía (alta o baja potencia), o sus sinónimos: baja frecuencia-baja amplitud, alta frecuencia-baja amplitud o baja frecuencia-alta amplitud. Las aplicaciones de baja energía usualmente se realizan a intensidades menores a $1 W/cm^2$ y a frecuencias mayores a 100 kHz. Algunos ejemplos de aplicaciones de baja energía son: estimulación de la actividad de células, limpieza de superficies, extracción de componentes, emulsificación y filtración (Knorr *et al.*, 2004; Gallo *et al.*, 2018).

Las aplicaciones de alta energía se realizan a intensidades mayores a $1 W/cm^2$ y a frecuencias entre 18 y 100 kHz. Este tipo de aplicaciones se han utilizado en la desgasificación de líquidos, inducción de reacciones de reducción/oxidación, extracción de enzimas y proteínas e inactivación de enzimas y microorganismos. A altas energías (mayores a $10 W/cm^2$) por tiempos prolongados, la aplicación de ultrasonido logra la ruptura total de todas las células biológicas (Knorr *et al.*, 2011; Ulusoy *et al.*, 2007; Patist & Bates, 2008; Gallo *et al.*, 2018).

Cuando la alta potencia del US en forma de ondas sonoras entra en contacto con un medio líquido produce microchoques mecánicos que generan regiones de compresión y expansión. Esas regiones causan una diferencia de presión que produce cavitación (burbujas de gas). Las burbujas formadas aumentan su área de superficie durante el ciclo de expansión. Se alcanza un punto en el que la energía ultrasónica proporcionada no es

suficiente para retener la fase de vapor en la burbuja; por lo tanto, se produce una rápida condensación (Pingret *et al.*, 2003). Las moléculas condensadas chocan violentamente, produciendo una implosión, la cual crea regiones de temperatura y presión muy altas a nivel microscópico, alcanzando hasta 5500 °C y 50 MPa respectivamente (Piyasena *et al.*, 2003; Patist & Bates 2008; Suslick *et al.*, 2011). Esos cambios de presión resultantes de las implosiones son el principal efecto bactericida en el ultrasonido, ya que causa la ruptura de estructuras y de componentes funcionales de la célula hasta lograr su lisis (Figura 4) (USDA, 2000; Patist & Bates, 2008; Chemat *et al.*, 2011). Por ejemplo, causa cizallamiento de las paredes celulares, el adelgazamiento de las membranas celulares y produce también radicales libres que afectan el ADN (Manvell, 1997; Butz & Tauscher, 2002; Rodrigues & Narciso, 2012).

El calor generado puede matar algunas bacterias, pero es localizado a nivel microscópico, por lo que no tiene un efecto significativo sobre la reducción microbiana al no afectar un volumen importante del medio sonificado (Piyasena *et al.*, 2003; Patist & Bates, 2008).

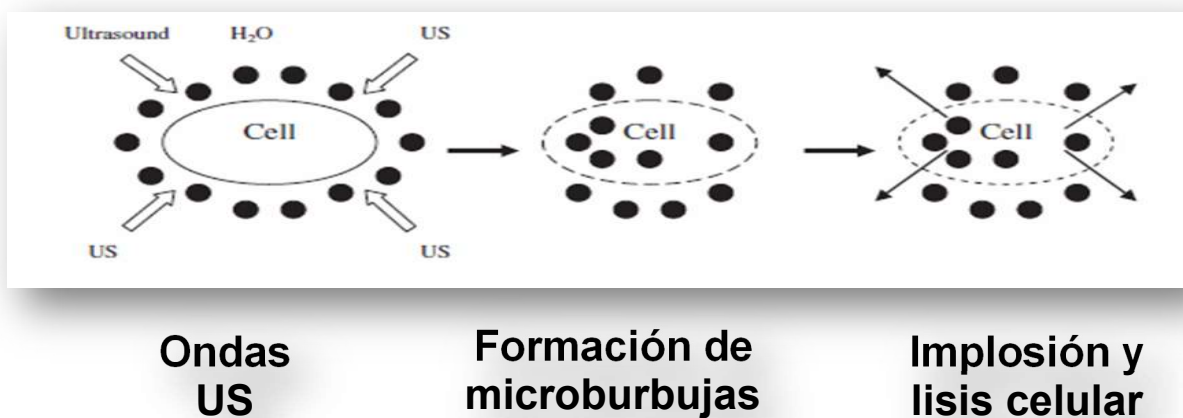


Figura 4. Mecanismo de daño celular inducido por el US (Modificado de Chemat *et al.*, 2011).

3.6.1.1. Aplicaciones de sonicación en la industria de alimentos

El uso del ultrasonido en la industria de alimentos está aumentando y en los últimos años la investigación se ha llevado a cabo para entender y determinar la eficiencia de la aplicación de ultrasonido en varias áreas de la industria alimentaria (Gallo *et al.*, 2018).

La sonicación ha sido utilizada ampliamente en diversos sectores de la industria de alimentos como en el secado, lavado, eliminación de pesticidas, la desinfección, desgasificación, remoción de espuma, extrusión, cortado, filtración, congelación, extracción y escaldado y también para mantener el valor nutricional y la vida útil de los alimentos (Chemat *et al.*, 2011; Rodrigues & Narciso, 2012; Gallo *et al.*, 2018).

A pesar de estos usos su implementación a nivel industrial es escasa y la aplicación de la sonicación en la industria de alimentos es limitada. Existen otras aplicaciones indirectas en las que el uso del US ha alcanzado mayor auge, más que todo en la parte química y de investigación como las técnicas para el análisis de alimentos, la extracción de componentes y la homogenización de muestras (Rodrigues & Narciso, 2012).

El uso al que más importancia o relevancia se le da al US en los últimos años en la industria alimentaria es como una tecnología no térmica para la inactivación enzimática y microbiana (Ulusoy *et al.*, 2007; Rodrigues & Narciso, 2012; Islam *et al.*, 2014; Gallo *et al.*, 2018).

Para obtener productos terminados inocuos se debe lograr una reducción de 5 logaritmos en el número de los patógenos más resistentes según la Food and Drug Administration (FDA) de USA (FDA, 2001). El ultrasonido sólo no es muy eficaz para cumplir esos requerimientos, ya que necesitaría tiempos de tratamiento muy largos, los cuáles podrían modificar negativamente las propiedades nutricionales y sensoriales de los alimentos. Esta limitación ha sugerido que el ultrasonido podría ser más eficaz cuando se utiliza en combinación con otras técnicas como calor (termosonicación), presión dinámica (manosonicación) o una combinación de ambas (manotermosonicación) o altas presiones osmóticas, entre otras, para la inactivación de enzimas y de microorganismos patógenos y de deterioro, satisfaciendo así el requisito de la FDA (Lewandowsky, 1981; FDA, 2001; Ulusoy *et al.*, 2007; Wong *et al.*, 2010; Gallo *et al.*, 2018).

Los tratamientos no térmicos combinados pueden causar que las estructuras de las membranas de las bacterias dañadas no tengan la capacidad de la auto-reparación, lo que produce una inactivación completa en comparación a los tratamientos de aplicación individual (Ukuku & Geveke, 2010).

La eficacia de un tratamiento de US depende del tipo de bacteria que se esté tratando. Los microorganismos (especialmente las esporas) son relativamente resistentes a sus efectos, por lo que se requerirían períodos prolongados de sonicación para hacer un producto seguro (Piyasena *et al.*, 2003).

Ha sido estudiado que el US en combinación con otras técnicas es efectivo para la reducción de *E. coli*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Salmonella*, *Shigella boydii*, y *Streptococcus mutans* (Rodrigues & Narciso, 2012).

Varias bacterias Gram-negativas tienen una mayor susceptibilidad hacia el US en comparación con las bacterias Gram-positivas. Las bacterias gram-positivas son menos sensibles, ya que por lo general tienen una pared más gruesa y una capa de peptidoglicanos más fuertemente adherida que las bacterias Gram-negativas. Se ha demostrado que el principal sitio de acción del ultrasonido en la inducción de efectos letales sobre las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas no era necesariamente la membrana citoplasmática y la muerte celular podría ocurrir sin ningún daño grave de las membranas (Ananta *et al.*, 2005).

En la ausencia de efecto térmico, la muerte celular parecía ser el resultado de una degradación no relacionada con la membrana. Por ejemplo, *Listeria rhamnosus* fue inactivado por la aplicación de ultrasonidos a pesar de que la integridad de la membrana citoplasmática de estas células no se vio gravemente afectada por el US (Rodrigues & Narciso, 2012).

Microorganismos esporulados parecen ser más resistentes a los ultrasonidos que los vegetativos y los hongos son más resistentes en general que las bacterias vegetativas (Piyasena *et al.*, 2003; Rodrigues & Narciso, 2012).

La inactivación microbiana por ultrasonidos depende de muchos factores que son críticos para el resultado del proceso. Estos factores son los parámetros de diseño (potencia ultrasónica y amplitud de la onda, la temperatura, el volumen de los alimentos a procesar), parámetros del producto (composición y las propiedades físicas de los alimentos) y características microbianas. También es importante notar que existe heterogeneidad

dentro de la población microbiana con respecto a su capacidad de resistir el impacto de deterioro de ultrasonido (Guerrero *et al.*, 2005).

El ultrasonido se ha estudiado para la inactivación microbiana en sidra de manzana (Ugarte *et al.*, 2006) y jugos de frutas como el jugo de naranja (Valero *et al.*, 2007), guayaba (Cheng *et al.*, 2007), sandía (Rawson *et al.*, 2011), mora (Wong *et al.*, 2010), piña, arándano rojo y uva (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012); además del jugo de tomate (Raviyan *et al.*, 2005) y aunque la inactivación microbiana no es nuestro objetivo en esta tesis, al ser el US una técnica de procesamiento no térmico para los alimentos, va de la mano o ligado a este tema, por lo que es importante su mención aunque el tema en sí es abordado en varias investigaciones científicas existentes, en nuestro caso su importancia es el efecto que el US genera sobre los parámetros sensoriales como el color y los compuestos bioactivos.

3.6.1.2. *Efecto de la sonicación sobre la calidad de los alimentos*

Entre las ventajas que muestra la aplicación de ultrasonido como una metodología no térmica de pasteurización en alimentos líquidos, es que el ultrasonido no produce olores, sabores o subproductos tóxicos (Gallo *et al.*, 2018). Además, el tratamiento requiere muy poca energía en comparación con los procesos de tratamiento térmico. Por otro lado, los jugos de frutas que se someten a pasteurización o la esterilización térmica tienden a cambiar de color y perder parte de sus aromas y vitaminas durante el proceso de calentamiento (Choi & Nielsen, 2005; Noci *et al.*, 2008), mientras que los jugos que son tratados con ultrasonido tienden a mantener su calidad en muchas de las propiedades sensoriales o al menos estas son afectadas con una menor incidencia (Piyasena *et al.*, 2003).

A continuación, se muestran algunos ejemplos de cómo se puede ver afectada negativamente la calidad sensorial y funcional de los jugos al aplicar US:

- a. En el estudio realizado por Gomez-Lopez *et al.* (2010) se determinó que la sonicación afectó significativamente la calidad sensorial del jugo de naranja, principalmente por la producción de sabores y aromas secundarios indeseables. Además, el estudio

también mostró cambios en el color y en el contenido de ácido ascórbico debido a los tratamientos.

- b. Tanto Valdramidis *et al.* (2010) como Tiwari *et al.* (2008b) trataron jugo de naranja sonicado obteniendo efectos negativos sobre el color. Wong *et al.* (2010) sonicaron el jugo de mora entre 5,9 min y 34,1 min y un sabor no agradable se detectó después de 8 min de sonicación.
- c. Tiwari *et al.* (2008c), aplicaron sonicación al jugo de fresa para tiempos de tratamiento de 2 min a 10 min y pulsaciones de 5 s y al mayor tiempo el contenido de ácido ascórbico se redujo hasta en un 40%.

Sin embargo, otros autores han demostrado en sus investigaciones como el ultrasonido ayuda a conservar las propiedades sensoriales y/o funcionales en los jugos de fruta. Wong *et al.* (2010) sonicaron el jugo de mora entre 5,9 min y 34,1 min. El color, la capacidad antioxidante, las antocianinas y los elagitaninos no cambiaron significativamente durante el tratamiento hasta 32 min.

En otro estudio sobre el jugo de naranja evaluado por Valero *et al.* (2007), al aplicar un tratamiento de sonicación se conservaron la mayoría de los parámetros de calidad evaluados (limonina, índice de oscurecimiento y color). Sin embargo, en la investigación se concluye que la sonicación a estas condiciones debe de combinarse con otras tecnologías para mejorar las reducciones microbianas.

En el caso de compuestos bioactivos (antioxidantes), Tiwari *et al.* (2009a) aplicaron sonicación al jugo de mora y para el tratamiento más drástico (100 % amplitud por 10 min), la retención de antocianinas fue del 94%, mientras el color permaneció estable. En otro estudio desarrollado por Tiwari *et al.* (2009b), se evaluó el efecto de la sonicación sobre las antocianinas del jugo de uva obteniendo una retención del 80,9% al 98,0%.

Tiwari *et al.* (2008c), aplicaron sonicación al jugo de fresa y para el tratamiento más drástico (100% amplitud por 10 min) se encontró una reducción de antocianinas del 3,2%, mientras que el contenido de ácido ascórbico se redujo en un 11%; valores realmente bajos si los comparamos con el uso de tratamientos térmicos de pasteurización o esterilización, por ejemplo.

Una comparación entre el jugo de naranja sonicado y el jugo pasteurizado térmicamente fue realizado por Tiwari *et al.* (2009c, d), encontrando que el jugo sonicado ayuda a preservar de mejor manera el ácido ascórbico. La vida útil pronosticada para el jugo de naranja sonicado osciló entre 27 y 33 días en comparación con 19 días para el jugo pasteurizado térmicamente durante el almacenamiento a 10 °C. Estos resultados indican que la sonicación trae consigo una mayor retención del ácido ascórbico en el jugo de naranja durante el almacenamiento en comparación con el tratamiento térmico.

Cao *et al.* (2010) investigaron el efecto del US en fresas, encontrando un óptimo a 250 W y 9,8 min de tratamiento, estas condiciones fueron efectivas en la reducción de la flora microbiana de deterioro y en la preservación de los parámetros de calidad de la fruta.

Por otro lado, Tiwari *et al.* (2009b) evaluaron la sonicación al jugo de mora y para el tratamiento más drástico (100% amplitud por 10 min), la retención de antocianinas fue del 94%, mientras el color permaneció estable.

Por último, el uso de US en la producción de extractos de mora para la mejora de la extracción de algunos compuestos fue investigado por Ivanovic *et al.* (2014) y como resultado se incrementó la cantidad de antocianinas (principalmente la cianidina) cuantificadas, además de que se alcanzaron valores más altos de capacidad antioxidante que en otros tipos de extracción.

Estos fenómenos donde se retienen o se dan pérdidas bajas en los compuestos bioactivos al utilizar US podrían atribuirse directamente a que en el proceso no se suministra calor y además se elimina el oxígeno disuelto ocluido en el jugo debido a las cavitaciones, ya que la presencia de este elemento contribuye con la degradación de compuestos antioxidantes (Knorr *et al.*, 2004, Cheng *et al.*, 2007).

El aumento en los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante de los jugos de fruta como resultado de los tratamientos ultrasónicos podrían atribuirse directamente a las cavitaciones inducidas por el ultrasonido, que podrían haber causado una mayor extracción de compuestos antioxidantes (ácidos ascórbico y compuestos fenólicos, etc) en el producto debido a los efectos mecánicos de las cavitaciones y las implosiones de burbujas durante la sonicación, ya que provocan la ruptura de las paredes celulares

facilitando la liberación de estos compuestos (Bhat *et al.*, 2011; Abid *et al.*, 2013; Zafra-Rojas *et al.*, 2013; Jabbar *et al.*, 2014).

Por tanto, basado en todo lo mencionado es que se decide evaluar cómo el tiempo efectivo de sonicación puede afectar los compuestos bioactivos, la capacidad antioxidante y el color del jugo pulposo de piña.

4. METODOLOGÍA

4.1. Localización

La presente investigación se desarrolló en la Planta Piloto y el Laboratorio de Química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA), ubicados en la Ciudad Universitaria Rodrigo Facio de la Universidad de Costa Rica (UCR).

4.2. Obtención y características de la materia prima

La materia prima que se utilizó fue piña dorada variedad híbrido “MD2”, la cual se compró en Automercado (supermercado) ubicado en el centro comercial Plaza del Sol, Carretera Interamericana, San José, Curridabat, 11801, Costa Rica.

Para obtener el jugo pulposo de piña se realizó un lavado de la materia prima por inmersión en una tina de acero inoxidable con agua y posteriormente una desinfección con ácido peracético (nombre comercial: Vortexx) a una concentración de 256 ppm por un tiempo de 4 minutos, seguido de un pelado y troceado manual del total de la piña sin cáscara. Finalmente se obtuvo el jugo pulposo utilizando una despulpadora marca Indiana laboratory, modelo 185-SC con mallas de 0,060 plg y 0,033 plg, luego se realizó un prensado utilizando la hidroprensa a 25 psi de presión por 5min. Finalmente se obtuvo un jugo de piña pulposo, el cual se analizó inmediatamente, además se guardó muestra de respaldo en bolsas metalizadas, las cuales fueron almacenadas en congelación a -20 °C (Figura 5).



Figura 5. Esquema sobre la obtención del jugo de piña pulposo.

4.3. Tratamiento con ultrasonido en jugo pulposo de piña

Las muestras de jugo pulposo de piña obtenidas fueron sometidas inmediatamente a un tratamiento con ondas de ultrasonido, en un cuarto provisto de luz amarilla, para evitar afectaciones en los compuestos bioactivos y el color debidos a la luz blanca.

Se utilizó el equipo de US (Figura 6) provisto de un procesador o controlador ultrasónico marca Cole Parmer Instruments, modelo CP 750, Vernon Hills, Illinois, U.S.A, con un poder de 750 Watts, una frecuencia de hasta 20 kHz, un voltaje de 120 V y un fusible de 15 Amperios.

El equipo consta además de una cámara o sonda ultrasónica (H) que se encarga de transmitir las ondas ultrasónicas a la muestra y un convertidor ultrasónico (F) modelo CV 33, el cual está conectado a un controlador (G), a través del cual se hace recircular por medio de una manguera (E) Masterflex 96400-25 el jugo de piña pulposo (B) colocado en un beaker dentro de un baño con hielo (A) y un termómetro (C) para controlar y mantener la temperatura del jugo a (25 ± 2) °C (Figura 6).

Para realizar este proceso se utilizó una bomba peristáltica (D) (Figura 6) marca Masterflex L/S, Cole-Parmer Instrument Co, modelo 7518-10, Vernon Hills, Illinois, USA, que trabaja a 1,5 rpm y libera una energía de $(50 \pm 0,2)$ W, lo que corresponde a una densidad de potencia (fuerza de tratamiento) de 0,83 W/mL sobre los 60 mL de muestra dentro de la celda de flujo continuo (50 W/60 mL). La intensidad del equipo es de 39,4 W/cm².

La cámara es capaz de contener 60 mL y con el cálculo del volumen dispensado por la bomba en 1 min se obtiene un flujo de 182 mL/min del jugo de piña pulposo. Con este flujo se obtiene el tiempo efectivo de sonicación por ciclo (0,330 min); luego, según el volumen de jugo total a tratar (150 mL) se obtiene el tiempo que toma ese volumen total en completar un ciclo (0,82 min). Así se calcula el tiempo de operación de la bomba (en este caso: (10, 20, 30, 40 y 50) min y se obtienen los tiempos efectivos de sonicación o periodos de sonicación (0, 4, 8, 12, 16 y 20) min a utilizar en la presente investigación.

El equipo de US y algunos parámetros son los mismos y otros muy similares a los utilizados por Wong *et al.* (2010) en sus investigaciones. Adicionalmente, se aplicó una amplitud del 40% (24,4 μ m) y un flujo continuo, donde el jugo se recirculó de forma constante a una frecuencia de 20 kHz (Wong *et al.* 2010). Después del tratamiento, los jugos fueron empacados en bolsas metalizadas de 500 g para proteger sus propiedades antioxidantes y analizarlos posteriormente. Se congelaron algunas de esas bolsas

metalizadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ como custodia en caso de necesitar algún otro dato o repetición del análisis.

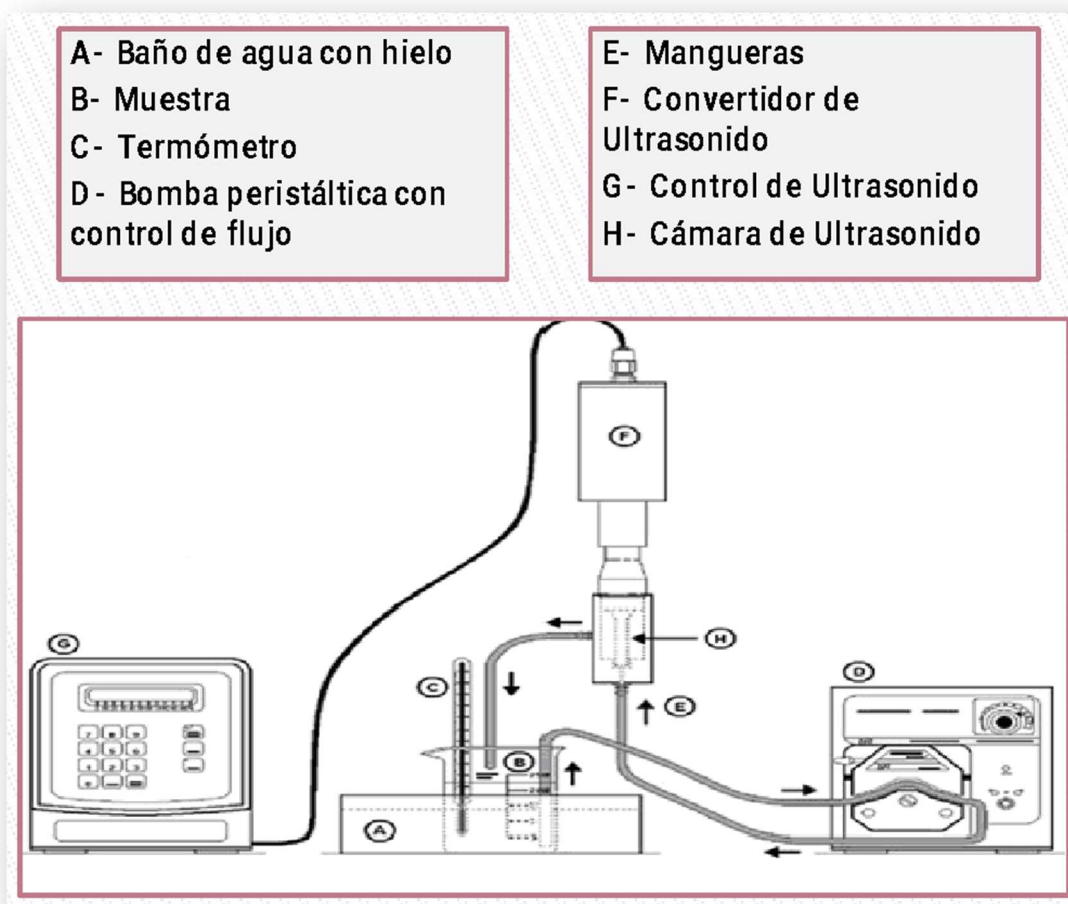


Figura 6. Sistema de sonicación directa con recirculación (Modificado de Wong et al., 2010).

4.4. Métodos de análisis

4.4.1. Determinación de vitamina C

La determinación de vitamina C de las muestras fue realizada según un método del laboratorio de química del CITA, método de análisis P-SA-MQ-024 Vitamina C por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) basado en las metodologías descritas por

Hernandez *et al.* (2006), Lykkesfeldt (2000) y Wechtersbach & Cigic (2007), con algunas modificaciones.

El método de extracción consiste en la identificación y cuantificación del ácido ascórbico (AA) así como la reducción del ácido dehidroascórbico (DHA) con reactivos y condiciones que eviten al máximo su deterioro. Esto se logra utilizando una disolución extractora de ácido metafosfórico, la cual protege al ácido ascórbico de la oxidación por el aire y la luz, además de una solución de fosfina (clorhidrato de Tris [2-carboxietil] fosfina (40 mmol/L)) que reduce el DHA a AA.

La submuestra del jugo se pesó (5-10) g y se mezcló con (15-20) mL de la solución extractora (0,04% de ácido metafosfórico). La mezcla se homogenizó en vortex durante 1 min, luego se centrifugó a 4 500 rpm (4 °C) durante 10 min. Este procedimiento se repitió dos veces y los dos sobrenadantes resultantes se mezclaron juntos en un balón de 50 mL y se aforó con la solución extractora. Luego se tomó una alícuota de extracto, se colocó en una jeringa con un filtro de microporo de celulosa regenerada (0,45 o 0,20) μm , y se filtró en un vial de 2 mL. Para reducir el DHA a AA, se tomó 500 μL de extracto y se le añadió 500 μL de clorhidrato de Tris [2-carboxietil] fosfina (40 mmol / L), se calentó a 30 °C durante 40 min. Tanto el extracto inicial como el de AA producto de la reducción del DHA fueron analizados por HPLC en una columna C18 (Phenomenex Luna 5 μm , 100 Å, 250 mm x 4,60 mm). Las condiciones analíticas usadas fueron las siguientes: 30 C, flujo 0,8 mL/min; eluyente H_2SO_4 (1,8 mM, pH 2,60) condición isocrática en 20 min a 245 nm. La identificación del AA se obtuvo mediante el uso de patrones y la comparación de los tiempos de retención, mientras que la cuantificación se realizó por medio de curvas de calibración externas con un rango de linealidad de (10-125) mg/L y un $R^2=0,9996$. La concentración de vitamina C total y de AA se expresan como mg/100 g de muestra BS.

4.4.2. *Determinación de polifenoles totales*

En cuanto a la cuantificación de polifenoles totales, se aplicó el método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu, el cual consiste en el uso de una mezcla de tungstato de sodio y molibdato de sodio, para formar complejos con los compuestos fenólicos en la muestra, por medio de una reacción redox. El producto de la reducción es un compuesto de color azul cuya absorbancia máxima se obtiene a 760 nm, aunque tienen un amplio

rango de absorbancia. De acuerdo con múltiples autores (Jayaprakasha *et al.*, 2012; Macheix *et al.*, 2018; Domínguez *et al.*, 2018), el método debe su popularidad a que se considera un procedimiento simple. Sin embargo, es poco selectivo, esto se debe a que el reactivo Folin-Ciocalteu puede reaccionar con otros compuestos presentes en la matriz como: ácido ascórbico, azúcares y ácidos orgánicos. Resultado de esto es que se puede sobreestimar la cantidad total de polifenoles, por lo que es necesario utilizar cartuchos fase sólida SFC, para contemplar el aporte de este tipo de compuestos. El contenido de polifenoles totales se determinó siguiendo el método descrito por Georgé *et al.* (2005) y se eliminó la interferencia de ácido ascórbico y azúcares reductores por diferencia mediante el uso de cartuchos OASIS® (Waters).

Inicialmente se preparó un extracto acuoso del jugo pulposo de piña, utilizando acetona:agua (70:30) y luego de extraer con pastilla magnética y filtrar a través de microporo de 0,2 µm, se evaporó la acetona en rotavapor y se llevó a un volumen conocido. Se utilizó ácido gálico como estándar. La absorbancia se midió usando un espectrofotómetro de UV-visible Shimadzu PharmaSpec UV-1700 (Kyoto, Japón) a 760 nm contra un blanco. El contenido de polifenoles es expresado como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) / 100g de muestra a partir de la curva de calibración de ácido gálico en un rango de (10-80) mg/L ($R^2=0.9996$) (Ballesteros, 2015; Gonzalez *et al.*, 2018).

La absorbancia de las muestras fue interpolada en la curva y la concentración de polifenoles totales será determinada como:

$$C_n \text{ polifenoles totales} = C_n \text{ Parte A} - C_n \text{ Parte B}$$

Donde:

C_n Parte A: es la concentración de polifenoles, ácido ascórbico y azúcares reductores presentes en la muestra.

C_n Parte B: es la concentración de ácido ascórbico y azúcares reductores presentes en la muestra.

4.4.3. *Determinación de capacidad antioxidante hidrofílica por el método H-ORAC*

La determinación de la capacidad antioxidante hidrofílica mediante H-ORAC del inglés “Hydrophilic-Oxygen Radical Absorbance Capacity” o en español la capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno se llevó a cabo utilizando el método descrito por Ou *et al.* (2001) y Huang *et al.* (2002). Este es un análisis químico usado para determinar el potencial antioxidante de diversas sustancias nutraceuticas, farmaceuticas y alimenticias, como lo es el jugo de piña pulposo (Roy *et al.*, 2010).

Los análisis de H-ORAC fueron realizados siguiendo la cinética de una reacción por medio de espectrofotometría de fluorescencia empleando un espectrofluorómetro automático (Synergy™ HT, BioTek Instruments Inc.). En principio, se tiene una disolución de fluoresceína que es atacada por los radicales libres que, al oxidarla, causan una disminución de la fluorescencia de dicha disolución. La muestra con poder antioxidante contrarresta el ataque del radical libre protegiendo así la disolución de fluoresceína (Fox & Whitesell, 2000; Huang *et al.*, 2002; Wu *et al.*, 2004; Prior *et al.*, 2005). Este método utiliza una disolución de Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8 tetramethylcroman-2carboxylic acid) como solución patrón de antioxidante y como fuente de radicales libres utiliza una sustancia con doble enlace de nitrógeno llamada AAPH (2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride) como oxidante (Wu *et al.*, 2004; Prior *et al.*, 2005, Brescia, 2012).

Como se muestra en la figura 7, el blanco representa a la disolución de fluoresceína sin sustancias antioxidantes. Se nota una rápida caída de la intensidad de fluorescencia, caso contrario cuando se protege con las diferentes concentraciones de Trolox. El Trolox con poder antioxidante contrarresta el ataque del radical libre y conforme aumenta su concentración la disminución de la intensidad de fluorescencia ocurre a mayor tiempo, lo que demuestra que el Trolox cumple con su función, proteger a la fluoresceína. Esto ocurre porque el Trolox (AH) se oxida más fácilmente que la fluoresceína, donando el protón fenólico (Wu *et al.*, 2004).

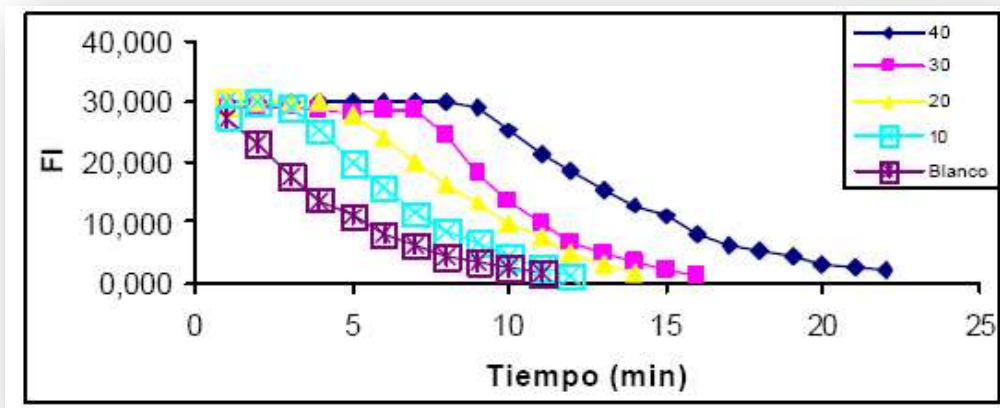


Figura 7. Caída de la intensidad de fluorescencia (FI) para diferentes patrones de Trolox (Modificado de Prior *et al.*, 2005).

En cuanto a las muestras de análisis (jugo de piña), se mide su poder antioxidante siguiendo la cinética de la reacción de radicales a partir de la disminución de la intensidad de fluorescencia. Como el área bajo la curva de la caída de fluorescencia es proporcional a la concentración de Trolox o sustancia antioxidante, se construye otra curva de área bajo la curva respecto a la concentración de Trolox y se interpola la concentración de la muestra incógnita. El resultado se expresa en micromol de Trolox equivalente por gramo de muestra ($\mu\text{mol TE/g}$ muestra). Otros estudios utilizan vitamina C como patrón de antioxidante, pero se prefiere al Trolox por ser más estable (Wu *et al.*, 2004; Prior *et al.*, 2005). Se realiza una curva de calibración de Trolox con concentraciones de (0, 4, 8, 16 y 24) $\mu\text{mol/L}$ con un R^2 aceptable de 0,99.

4.4.4. Determinación de carotenoides totales

A la muestra de jugo de fruta homogenizada se le extraen los carotenoides presentes con ayuda de metanol y una mezcla de acetona:éter de petróleo (60:40), luego se separa la fase orgánica, que es la que va a contener los carotenoides, de la fase acuosa con la ayuda de agua y NaCl en un embudo separador y al final se lleva esa fase a un volumen conocido con ayuda de éter de petróleo, según el método empleado por Philip & Chen (1988) con algunas modificaciones. Luego se cuantifican los carotenoides en éter de petróleo a 450 nm por medio de espectrofotometría UV-Visible, utilizando la absorptividad molar del β -

caroteno (Rodríguez-Amaya & Kimura, 2004). Los resultados finales se expresan como $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno/g muestra}$.

4.4.5. Determinación de color

Los colorímetros están basados en la visión del ojo humano, son dispositivos triestimulares (tres filtros) para cada longitud de onda: filtros rojo, verde y azul. De esta forma se emula la respuesta del ojo humano al color y la luz. En algunas aplicaciones de control de calidad, estas herramientas representan la respuesta de menor costo. Existe una serie de equipos, tales como los colorímetros Hunter Lab, Gardner, Color Eye, Color Master, Momcolor, Dr. Lange y Minolta (Figura & Teixeira, 2007).

El ojo humano captura la luz visible en el rango de longitud de onda entre (380-700) nm. Además de la percepción de brillo y oscuridad, el ojo humano es capaz de capturar 3 diferentes estímulos: azul, verde y rojo, debido a que tiene 3 tipos de receptores en la retina (conos). La impresión de color se logra mediante la adición de estos estímulos en el cerebro, ya que difieren en su sensibilidad espectral, uno reacciona al rojo-naranja (X), otro al verde (Y) y el otro al azul (Z), por lo que pueden ser colocados en un sistema de coordenadas (XYZ). El sistema CIE (L^* , a^* , b^*) se basa en lo mismo, donde L^* representa el eje claro-oscuro, a^* representa el eje rojo/verde y b^* al eje azul/amarillo (Figura & Teixeira, 2007).

La referencia para la medición del color es la realizada por Gonnet (1998). Este se midió con un colorímetro Hunter Lab (Hunter lab Resto VA, USA), (65 observer angle and illuminant 10) y se expresa como L^* , a^* , b^* (Figura 8), valores de *hue* (matíz o tono) y *chroma* (grado de saturación o pureza). Los parámetros *hue* (H^*), *chroma* (H^*) y diferencia total de color (ΔE), se obtuvieron como lo describe Gonnet (1998) usando las ecuaciones 1, 2 y 3.

$$\text{Ecuación 1} \quad \text{hue} = \tan^{-1} (b^* / a^*)$$

$$\text{Ecuación 2} \quad \text{chroma} = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$$

$$\text{Ecuación 3} \quad \Delta E = ((\Delta L^*)^2 + (\Delta C^*)^2 + (\Delta H^*)^2)^{1/2}$$

De acuerdo con Castellar *et al.* (2006), el valor de ΔE debe ser igual o mayor a 5 para poder distinguir diferencias de color entre dos muestras. En este caso los tiempos efectivos de sonicación (jugo tratado con US) se comparan contra el tiempo cero ($t=0$) que representa al jugo pulposo de piña sin tratamiento con US.

Las ΔE también se pueden clasificar analíticamente como no notables (0-0,5), levemente perceptibles (0,5-1,5), perceptibles (1,5-3,0), bien visibles (3,0-6,0) y grandes (6,0-12,0) (Cserhalmi *et al.*, 2006).

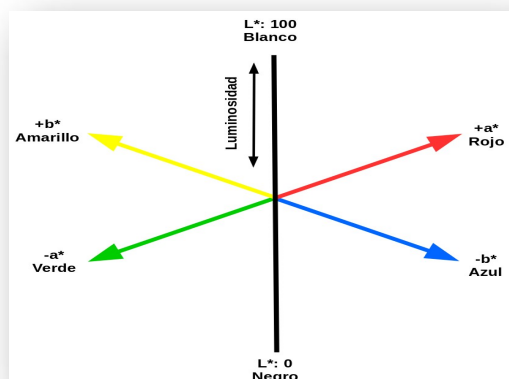


Figura 8. Coordenadas de color en el sistema Hunter Lab (Mathias-Rettig, & Ah-Hen, 2014).

4.5. Diseño experimental y análisis estadístico

4.5.1. Efecto del tiempo de sonicación sobre el color, el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante del jugo de piña pulposo

Se empleó un diseño de bloques al azar de un solo factor (tiempos efectivos de sonicación) el cual se analizó como una variable continua y las variables de respuesta fueron: las pérdidas promedio de carotenoides totales, H-ORAC, polifenoles totales, ácido ascórbico y vitamina C, además de los datos de color (parámetros CieLab L^* , a^* , b^* , ángulo hue, chroma y ΔE). También con estos valores de ΔE se puede determinar si el cambio en el color respecto al tiempo efectivo de sonicación es perceptible al ojo humano.

Cada uno de los análisis se realizó utilizando duplicados (réplicas) por cada uno de los muestreos (3 lotes). Estos lotes representan las 3 repeticiones independientes del experimento y al mismo tiempo el factor bloque del diseño.

La pérdida promedio se calcula restándole el valor de cada variable (carotenoides totales, H-ORAC, polifenoles totales, ácido ascórbico y vitamina C) al tiempo 0, al valor para cada uno de los tiempos efectivos de sonicación (4,8,12,16 y 20) min, esto para cada uno de los 3 lotes analizados, luego se obtiene el promedio con su respectivo intervalo de confianza al 95%.

Se realizó un análisis de variancia con el tiempo efectivo de sonicación como factor continuo para determinar si existe o no un efecto significativo de este sobre la pérdida promedio del contenido de los distintos compuestos antioxidantes, los datos de color o el ΔE con un nivel de significancia del 5%. Cuando no se encontró significancia en el factor tiempo efectivo de sonicación respecto a las variables de respuesta se reportó la Potencia de la prueba ($1-\beta$) y así evitar el error tipo II (cuando la hipótesis nula es aceptada incorrectamente). Los datos son expresados como la pérdida promedio con su respectivo intervalo de confianza y fueron analizados con el programa estadístico JMP4 (SAS Institute, NC, USA).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C.

5.1.1. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C total.

La vitamina C es un antioxidante que cumple diversas funciones fisiológicas en el cuerpo humano por lo tanto su conservación en los alimentos es de vital relevancia (Russell, 2004).

Una de las características químicas más representativas de la vitamina C es su poca estabilidad (sensible a cambios de pH, presencia de luz, oxígeno y temperatura) ya que puede degradarse a especies menos activas; por lo que su preservación se ha convertido en un inmenso reto para la industria de alimentos. Al ser la vitamina más lábil, es utilizada como referencia o indicador de la estabilidad de las vitaminas hidrosolubles en un alimento (Herrera *et al.*, 2015).

En la presente investigación en el jugo de piña pulposo se encontró un efecto significativo del tiempo efectivo de sonicación sobre la variable pérdida promedio de vitamina C ($p < 0,0015$) (cuadro A.7). Se observó que a medida que aumenta el tiempo efectivo de sonicación (variable continua) se denota un ligero aumento en la pérdida promedio de este compuesto bioactivo (cuadro 5). Este resultado puede comprobarse al observar la figura 9. Aunque, a pesar de lo inestable que es la vitamina, se nota un porcentaje de pérdida muy bajo, alcanzando un valor máximo de apenas un 6,3% al tiempo máximo de tratamiento (cuadro 5). Además, el uso de tecnologías no térmicas no exime de pérdidas a un compuesto tan lábil como se observó en la investigación de Alothman *et al.* (2009), en la cual el tratamiento ultravioleta (tecnología no térmica) disminuyó también el contenido de vitamina C de la piña (Alothman *et al.*, 2009).

Cuadro 5. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C total de un jugo pulposo de piña ($n=3$).

Tiempo (min)	Pérdida promedio (mg/100 g BS)	% Pérdida
0	$0 \pm 0,0$	0,0
4	$2,8 \pm 7,9$	0,8
8	$19,4 \pm 24,5$	5,3
12	$15,7 \pm 14,4$	4,3
16	$19,6 \pm 2,5$	5,3
20	$23,2 \pm 15,7$	6,3

Los resultados se representan como la pérdida promedio \pm IC.

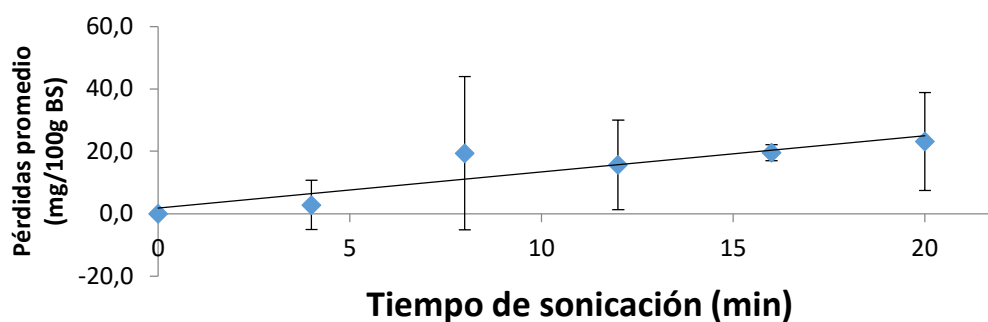


Figura 9. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de vitamina C total de un jugo pulposo de piña ($n=3$; barras de error representan el intervalo de confianza).

El método de determinación de vitamina C total es una metodología que puede presentar pérdidas del compuesto, por ejemplo, durante la extracción de los componentes, al utilizar la solución extractora de ácido metafosfórico, la cual protege al ácido ascórbico de la oxidación por el aire y la luz. El uso de cristalería ámbar y el uso de luz amarilla son importantes para minimizar esas pérdidas de vitamina C (Hernández *et al.*, 2006, Lykkesfeldt, 2000; Wechtersbach & Cigić, 2007). Esas pequeñas pérdidas de vitamina C en el jugo de piña pulposo al tratarlo con US también podrían deberse a que cuando el US se aplica a sistemas líquidos, varios mecanismos pueden actuar simultáneamente, como tensiones mecánicas, microdifusión e implosión de ondas de choque, efectos térmicos producidos por la implosión de burbujas y producción de radicales libres (Valdramidis *et al.*, 2010).

Otra razón posible de las pérdidas de la vitamina puede ser explicada porque quizás gran parte de la vitamina C se encuentra en el citosol, así como también en otros compartimientos celulares (por ejemplo, cloroplastos) del jugo de piña pulposo, los cuales no gozan del efecto protector de los fenoles, ni del efecto ácido de las vacuolas como está establecido en la literatura. Todo esto deriva en una disminución de la vitamina C, debida a la disrupción celular y a las pérdidas extravacuolares (Kalt *et al.*, 1999; Miller & Rice-Evans, 1997).

En la mayoría de las investigaciones se presentan los resultados como AA y no como vitamina C total, por lo que se vuelve importante presentar a continuación la afectación del tiempo efectivo de sonicación en este vitámero.

5.1.2. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de ácido ascórbico.

En el jugo de piña pulposo se encontró significancia del factor tiempo efectivo de sonicación sobre la variable pérdida promedio de ácido ascórbico ($p < 0,0003$) (cuadro A.7). En la figura 10 y el cuadro 6 se visualiza la tendencia del gráfico, la cual nos indica que a medida que se aumenta el tiempo efectivo de sonicación (variable continua) las pérdidas promedio de ácido ascórbico son mayores. Por otro lado, el cuadro 6 muestra que el porcentaje de pérdida se cuadruplica pasando de un 1,6% en el tiempo de sonicación 4 minutos, a un 8,2% a los 16 minutos de sonicación.

Cuadro 6. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de ácido ascórbico de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Pérdida promedio (mg/100 g BS)	% Pérdida
0	0 ± 0,0	0,0
4	5,3 ± 10,1	1,6
8	15,1 ± 12,3	4,5
12	15,9 ± 15,1	4,8
16	27,4 ± 12,4	8,2
20	26,2 ± 23,4	7,9

Los resultados se representan como la pérdida promedio ±IC.

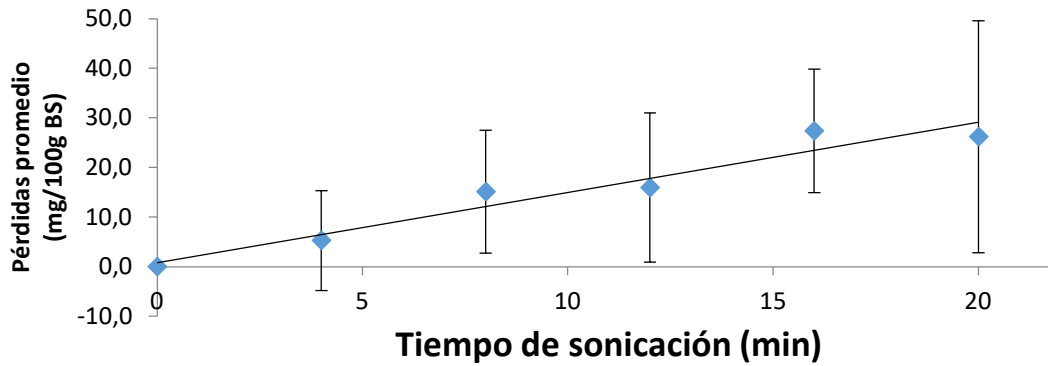


Figura 10. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de ácido ascórbico de un jugo pulposo de piña ($n=3$; barras de error representan el intervalo de confianza).

Como se menciona en la literatura, el AA se degrada en un mayor nivel al aplicar US que otros antioxidantes, ya que cuando compuestos con diferentes propiedades fisicoquímicas se someten a sonicación, los más volátiles se degradan primero (Ashokkumar *et al.*, 2008; Pétrier *et al.*, 2007). En la presente investigación la degradación de este vitámero es baja (aproximadamente 8%, cuadro 6). Esta degradación de AA puede deberse a las condiciones físicas extremas (termólisis o la combustión) que se producen dentro de las burbujas durante su colapso cavitacional a microescala al aplicar US (Tiwari *et al.*, 2008a, b). Además, otra posible causa de la degradación del AA podría ser por la reacción con radicales hidroxilo, lo cual conduce a la formación de productos de oxidación que ocurren en la superficie de la burbuja, debido a varias reacciones sonoquímicas que se producen de forma simultánea o en forma aislada. Es conocido que los iones hidronio (H^+), los radicales libres ($O^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , $HO^{\cdot-2}$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) son formados durante la sinólisis de las moléculas de agua presentes en los jugos (Feril & Kondo, 2004; Pétrier *et al.*, 2007; Riesz & Kondo, 1992), lo que puede producir en el jugo procesos oxidativos avanzados (Gómez-López *et al.*, 2010).

El AA es un compuesto bioactivo inestable, termosensible y muy lábil, que por presencia de luz u oxígeno sufre de deterioro, además puede verse disminuido por enzimas como la ascorbato oxidasa o las peroxidasas. Es un compuesto que en condiciones normales se

descompone fácilmente; por lo tanto, entre menor sea el tratamiento, mayor será su retención (Odriozola-Serrano *et al.*, 2008). La ruptura de paredes celulares puede incrementar la cantidad de enzimas con actividad hidrolítica y oxidativa y por lo tanto inducir pérdidas de este compuesto y otros compuestos bioactivos (Dewanto *et al.*, 2002; Chism & Haard, 1996).

A pesar de lo anteriormente mencionado, estas pérdidas de AA son pequeñas y a la vez comparables con investigaciones que obtienen porcentajes de retención realmente altos en jugos tratados con US, todo esto a pesar de ser un compuesto tan inestable. A continuación, se citan algunos ejemplos:

- En la investigación de Tiwari *et al.* (2008c), aplicaron sonicación al jugo de fresa (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) y para el tratamiento más drástico (100% amplitud por 10 min) se encontró que el contenido de AA se redujo tan sólo en un 11%.
- Abid *et al.* (2014b) estudiaron un jugo de manzana fresco tratado con termosonicación por un tiempo de 10 min y con una frecuencia de 25 kHz y a 30 min con una frecuencia de 20 kHz a (20, 40 y 60) $^{\circ}\text{C}$ para la inactivación de enzimas y a la mayor temperatura se presentaron reducciones significativas ($p < 0,05$) del AA de 10% y 7% respectivamente.
- Vercet *et al.* (2001) aplicaron manotermosonicación (20 kHz, 200 kPa a 62 $^{\circ}\text{C}$ por (15-30) s) en jugo de naranja, obteniendo una pérdida alrededor del 10% de AA (Vercet *et al.*, 2001).
- Salah *et al.* (2013) aplicaron la termosonicación en jugos de manzana y de guayaba a temperaturas de (20, 35 y 50) $^{\circ}\text{C}$, a una frecuencia de 20 kHz, con tiempos de sonicación de (2, 5 y 10) min y pulsaciones de 5 s. En las condiciones más drásticas la retención del AA se redujo a un 80% en jugo de manzana, pero a sólo un 93% en jugo de guayaba (Salah *et al.*, 2013).

En otras investigaciones se han presentado pérdidas más representativas de AA con el uso de sonicación cuando las comparamos con lo obtenido en esta investigación, por ejemplo:

- En el estudio de Gomez-Lopez *et al.* (2010) se determinó, que luego de la sonicación aplicada a una frecuencia de 20kHz, a una amplitud de (50-75) %, entre (5-30) °C, por (0, 2, 4, 6, 8 y 10) min se obtuvieron pérdidas de AA a medida que se aumentaban los tiempos de tratamiento en el jugo de naranja, hasta tener una reducción del 45% en el tratamiento más drástico.
- Adekunle *et al.* (2010), aplicaron sonicación (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) °C/ (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) al jugo de tomate y el contenido de AA se redujo significativamente ($p < 0,05$), pasando de (14,5 \pm 1,3) mg/100 mL en el control a (9,8 \pm 0,29) mg/100 mL a la máxima amplitud (61 μm) y tiempo de sonicación (10 min), lo que representa un 33% de reducción aproximadamente.
- Del mismo modo Rawson *et al.* (2011), aplicando US a las mismas condiciones que Adekunle *et al.* (2010), pero en jugo de sandía, obtuvieron una disminución significativa ($p < 0,05$) en el ácido ascórbico de un 26% al ir aumentando la amplitud y el tiempo de tratamiento.

Como se acaba de demostrar con los anteriores ejemplos, aún en la pérdida al $t=16$ min (cuadro 6), la afectación al ácido ascórbico obtenida en esta investigación utilizando US para el jugo pulposo de piña es menor que para muchos otros jugos, por lo que se mantiene o preserva una cantidad importante del ácido ascórbico utilizando esta tecnología en las condiciones aplicadas.

Al contrastar las pérdidas en los contenidos de ácido ascórbico con otras tecnologías, como lo muestra una comparación entre el jugo de naranja sonicado y el jugo pasteurizado térmicamente realizada por Tiwari *et al.* (2009c, d), se encuentra que el jugo sonicado (20 kHz/ (24,4–61) μm / (20–40) °C/ (0–10) min/ (0,30–0,81) W/mL) ayuda a preservar de mejor manera el AA, incluso presenta pérdidas inferiores al 2% después de las condiciones de tratamiento más altas. Este efecto positivo del ultrasonido respecto a la pasteurización se supone debido a la eliminación eficaz del oxígeno ocluido en el jugo, un factor crítico que influye en la estabilidad del AA (Knorr *et al.*, 2004, Cheng *et al.*, 2007) además, al igual que en este estudio, el US presenta pérdidas bajas para el tipo de compuesto analizado.

Según los datos obtenidos en nuestra investigación se encontró que, aunque el US provoca algún tipo de degradación en el AA (cuadro 6), esta es menor en muchas ocasiones que las originadas por las tecnologías térmicas de procesamiento. A continuación, algunos ejemplos de afectaciones debidas al uso de tecnologías térmicas en el procesamiento de jugos:

- Un tratamiento térmico en puré de tomate (70 °C/ 2 min) causó una disminución rápida (38,9%) en AA ($p < 0,05$) pasando de (204,83 a 125,14) mg de AA/100 g BH (Patras *et al.*, 2009). Dhuique-Mayer *et al.* (2007) indican una degradación de la vitamina C al utilizar tratamientos térmicos en jugos cítricos.
- Del mismo modo Torrales *et al.* (2008) encontraron que a mayor tratamiento térmico en un puré de melocotón (70-90) °C se da una mayor disminución del ácido ascórbico.
- Marfil *et al.* (2008) al aumentar la temperatura de secado en tomates enteros, cortados a la mitad y escurridos, obtuvieron mayores tasas de degradación del AA.
- Burdurlu *et al.* (2006) estudiaron la retención de AA en jugos cítricos (naranja, limón, pomelo y mandarina) después del almacenamiento por una semana a temperaturas de (28, 37 y 45) °C obteniendo aproximadamente porcentajes de (54,5-83,7) %, (23,6-27) % y (15,1-20) %, respectivamente.
- Según Torregrosa *et al.* (2006) en un jugo de naranja con zanahoria tratado con dos métodos de pasteurización diferentes, se presenta una degradación del AA, aunque es mayor en el jugo pasteurizado (98 °C, 21 s) que en el tratado con campos de pulsos eléctricos (no térmico).
- Según Tikekar *et al.* (2011) al aplicar un tratamiento por UV al jugo de manzana se acelera la degradación del AA. En este caso se muestra que otras tecnologías no térmicas pueden presentar pérdidas significativas de ácido ascórbico al igual que el US las presentó en esta investigación (aunque en este estudio los porcentajes de pérdida fueron bajos-cuadro 6-).

Otras investigaciones revelaron casos en los que el contenido de ácido ascórbico más bien aumenta con el uso de sonicación, por lo que más investigaciones en el jugo de piña con distintas condiciones de US y con mayor cantidad de repeticiones y mejor elección de

materia prima, pueden resultar importantes en el futuro. Algunos casos a modo de ejemplo son:

- En un jugo de manzana (25 kHz/ 20 °C/ (0-90) min) y un jugo de uva (28 kHz/ 20 °C/30-90 min) tratados con US se presenta un aumento significativo ($p < 0,05$) en el ácido ascórbico, pasando de $(4,20 \pm 0,27)$ mg/100 mL en el control a $(5,63 \pm 0,07)$ mg/100 mL al tiempo máximo de tratamiento de 90 min en el jugo de manzana (Abid *et al.*, 2013) y de $(27,83 \pm 0,03)$ mg/100 mL en el control a $(35,75 \pm 0,07)$ mg/100 mL a los 90 min en el jugo de uva (Aadil *et al.*, 2013).
- De la misma forma Cheng *et al.* (2007) obtuvieron que el contenido de ácido ascórbico en un jugo de guayaba utilizando US (35 kHz/ 20 °C/ 30 min), fue significativamente ($p < 0,05$) mayor que en la muestra control, pasando de $(110,0 \pm 0,5)$ mg/100 mL a $(119,0 \pm 0,8)$ mg/100 mL a un tiempo de 30 minutos (8%). En este mismo artículo se menciona que se da aún un mayor incremento de AA $(125 \pm 1,1)$ mg/100 mL, al aplicar junto con la sonicación un proceso de carbonatación (aplicación de dióxido de carbono al medio), debido a que se disminuye la temperatura y a que, el dióxido de carbono disuelto sirve como núcleos o sitios para las cavitaciones que produce la sonicación (Mason, 1991).
- Zafra-Rojas *et al.* (2013) trabajaron con el jugo de Nopal o tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*), aplicando un tratamiento US (20 kHz/ (40-80) %/ (0-25) min) y este mostró un aumento significativo ($p < 0,05$) en el contenido de ácido ascórbico de un 15%, pasando de $(352,6 \pm 4,3)$ mg/L en el control a $(415,6 \pm 7,0)$ mg/L, luego de un tratamiento por 25 min.
- Bhat *et al.* (2011) demuestran un aumento significativo ($p < 0,05$) en el contenido de ácido ascórbico (7%) en un jugo de limón kasturi tratado con US (25 kHz/ 20 °C/ (0-60) min) al pasar de $(37,68 \pm 1,5)$ mg/100 mL en el control a $(40,20 \pm 0,5)$ mg/100 mL luego de 60 min de tratamiento con US.

La baja pérdida de AA debido al US podría atribuirse directamente a que en el proceso no se suministra calor y, además, se elimina el oxígeno disuelto en el jugo (elemento que es esencial para la degradación del AA) debido a las cavitaciones, (Knorr *et al.*, 2004, Cheng *et al.*, 2007). La desgasificación del jugo por ultrasonido podría contribuir a una menor

degradación del ácido ascórbico durante el almacenamiento (Zenker, *et al.*, 2003). Las cavitaciones producidas por la sonicación, las cuales producen inestabilidad en la pared celular (disrupciones) provocando que esta se rompa y que se liberen compuestos bioactivos (Abid *et al.*, 2013). Este fenómeno también puede explicar por qué se puede aumentar o retener mejor el AA, como fue el caso de esta investigación.

5.2. Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de polifenoles totales.

No se encontró un efecto significativo del tiempo efectivo de sonicación sobre la variable pérdida promedio de polifenoles totales ($p > 0,8809$; $1-\beta = 0,1128$) (cuadro A.7). Como se observa al calcular la potencia de la prueba se obtiene un valor bajo, lo cual es un indicador de la probabilidad de que el efecto deba ser tomado en cuenta, ya que los resultados pueden afectarse por la alta variabilidad en la materia prima, errores debidos al experimento, además de la inestabilidad de estos compuestos bioactivos (oxígeno, aire, luz).

Los polifenoles son compuestos fitoquímicos a los que se les atribuyen múltiples beneficios a la salud humana, por lo tanto, se busca su conservación durante el procesamiento de los alimentos que los contienen. En esta investigación y como se observa en la figura 11, la pérdida promedio de polifenoles totales en el jugo de piña pulposo se mantuvo estable, a pesar de la aplicación de US a los diferentes tiempos de sonicación, con porcentajes de pérdida menores al 8% (cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de polifenoles totales de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Pérdida promedio (mg GAE/100 g BS)	% Pérdida
0	0 ± 0,0	0
4	8,5 ± 12,2	7,9
8	1,4 ± 19,6	1,3
12	11,5 ± 21,0	10,7
16	8,2 ± 26,2	7,6
20	-3,36 ± 32,7	-3,1

Los resultados se representan como la pérdida promedio ±IC.

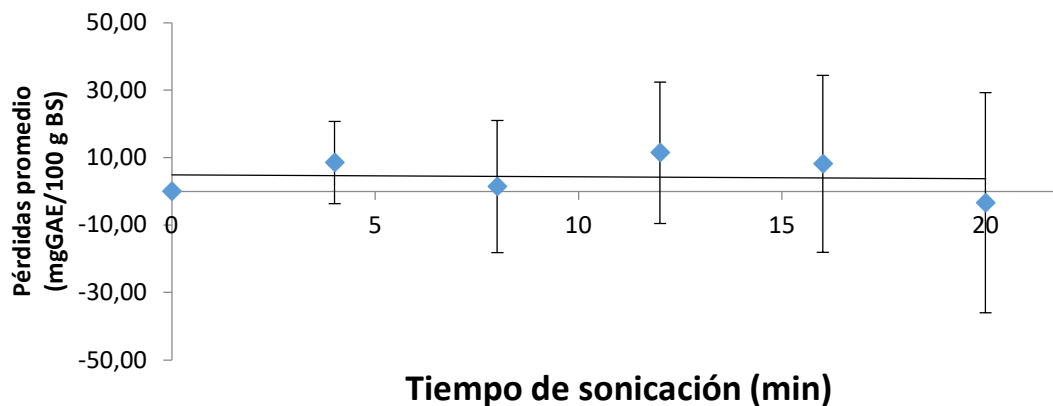


Figura 11. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de polifenoles totales de un jugo pulposo de piña ($n=3$; barras de error representan el intervalo de confianza).

Una posible razón para explicar este fenómeno de la estabilidad observada en el contenido de polifenoles totales podría atribuirse a la adición de radicales hidroxilo (OH) generados por vía sonoquímica al anillo aromático de los compuestos fenólicos. Se ha informado que la adición de un segundo grupo hidroxilo en las posiciones *orto* o *para* refuerza la actividad antioxidante de las moléculas fenólicas/antioxidantes (Ashokkumar *et al.*, 2008). La retención de los compuestos fenólicos en la sonicación de los jugos puede ser motivada también por la mayor alteración de las paredes celulares, que podría haber facilitado la liberación de contenidos fenólicos unidos (Bhat *et al.*, 2011). Esto se explica debido a que la cavitación y las propiedades de disrupción de las ondas de US se han utilizado para mejorar la extracción o solubilización de polifenoles en diferentes medios (Galanakis, 2012), además de la eliminación eficaz del oxígeno ocluido en el jugo (Knorr *et al.*, 2004).

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con otras investigaciones donde se aplica US al jugo de fruta obteniendo porcentajes de pérdida menores al 10%, por ejemplo: -Tiwari *et al.* (2009a) aplicaron sonicación al jugo de mora y para el tratamiento más drástico (100% amplitud por 10 min) la retención de antocianinas fue del 94%.

-Para el mismo jugo sometido a US (20 kHz, 0,83 W/mL durante (4 a 32) min), los compuestos fenólicos no fueron degradados por el US, ya que no se observaron cambios en la concentración de antocianinas ni elagitaninos (Wong *et al.*, 2010).

Otros ejemplos de este fenómeno son varias investigaciones en las que trataron con US a diversas condiciones algunos jugos y obtuvieron retenciones en compuestos fenólicos como las antocianinas, entre ellos:

-La investigación de Tiwari *et al.* (2009b), quienes evaluaron el efecto del tiempo de sonicación sobre las antocianinas del jugo de uva obteniendo una retención de hasta el 98%.

-Abid *et al.* (2014a), luego de tratar con US (25 kHz/ 70%/ 20 °C/ (0-60) min) un jugo de manzana, obtuvieron estabilidad en el contenido del compuesto fenólico.

-Tiwari *et al.* (2009e) investigaron el jugo de fresa bajo condiciones de US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) °C/ (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) y obtuvieron retenciones de más del 90% después de 10 días de almacenamiento del jugo a 4 °C.

-Tiwari *et al.* (2010) trataron el jugo de uva roja con US con las mismas condiciones anteriormente mencionadas obteniendo una retención de 97,5% en las condiciones de tratamiento más altas (20 kHz/ 61 μm / 45 °C/ 10 min/ 0,81 W/mL).

Adicionalmente, como se observa en el cuadro 7, en la muestra del experimento para el máximo tiempo efectivo de sonicación ($t=20$ min) se muestra un valor negativo del porcentaje de pérdida, lo que sugiere este valor es que a tiempos mayores de sonicación se podría empezar a ver un efecto contrario, en donde, se podría empezar a favorecer la ruptura de los tejidos liberando polifenoles.

Respecto a la anterior mención, la literatura indica que el procesamiento con US puede inclusive mejorar la extracción de compuestos fenólicos y otros compuestos bioactivos, lo que puede ser debido a las cavitaciones producidas por la sonicación, las cuales producen inestabilidad en la pared celular (disrupciones) provocando que esta se rompa y que se liberen algunos compuestos bioactivos (polifenoles) y por lo tanto aumentan su biodisponibilidad (Abid *et al.*, 2013).

Algunas investigaciones, de hecho, han presentado en sus resultados un aumento en su contenido de polifenoles al aplicar US en jugos de fruta. Por ejemplo:

- En un jugo de manzana tratado con ultrasonido por tiempos de (0, 30, 60 y 90) min a 20 °C, se presenta un aumento gradual en los polifenoles totales a los 3 tiempos de sonicación ($p < 0,05$), pasando de 757 $\mu\text{g GAE/g}$ en el control a 829 $\mu\text{g GAE/g}$ (9,5%) al tiempo máximo.
- En el vino de uva, Cocito, *et al.* (1995) obtuvieron un aumento en los polifenoles al tratarlo con US.
- Aadil *et al.* (2013) trataron jugo de uva con US (28 kHz/ 20 °C/ (30-90) min) y obtuvieron un aumento significativo ($p < 0,05$) en los polifenoles totales, flavonoides y flavonoles después del tratamiento US.
- Al jugo de tuna púrpura se le aplicó un tratamiento US (20 kHz/ (40-80) %/ (0-25) min) y se obtuvo un aumento significativo de los polifenoles totales. Se encontró que a un nivel de amplitud del 80% aplicado durante 5 y 8 minutos se produjo una liberación significativa del contenido fenólico total, posiblemente debido a la ruptura de las paredes celulares producida por el US (Zafra-Rojas *et al.*, 2013).
- En el jugo de fresas y en el jugo de uva roja tratado con US (20 kHz/ 24,4-61 μm / 25-45 °C/ (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) Tiwari *et al.* (2008c) y Tiwari *et al.* (2010) respectivamente, descubren un aumento significativo ($p < 0,05$) en el contenido de la antocianina pelargonidin-3-glucósido, pero a diferencia de nuestra investigación, cuando los niveles de amplitud y los tiempos de tratamiento son más bajos.
- Al tratar con US un jugo de limón kasturi (25 kHz/ 20 °C/ (0-60) min) se muestra un aumento significativo ($p < 0,05$) en los polifenoles totales, ya que pasa de (263,8 \pm 0,7) mg GAE/g en el control a (336,0 \pm 1,3) mg GAE/g, equivalentes a un 27%, luego de 60 minutos de sonicación (Bhat *et al.*, 2011).
- Incluso el jugo de mango Chokanan (*Mangifera indica L.*) tratado térmicamente a 90 °C por 30 s y 60 s y sonicado (40 kHz por (15, 30 y 60) min a 25 °C) presentó un aumento significativo en la extractibilidad de los polifenoles totales en un 30% y un 35% luego de los tratamientos ultrasónicos a 15 y 30 min, respectivamente, respecto al control (Santhirasegaram *et al.*, 2013).

La estabilidad mostrada en la pérdida del contenido de polifenoles totales (figura 11) en esta investigación, utilizando un tratamiento no térmico como el US, es un hallazgo muy importante, ya que como se mencionó este tipo de compuestos son lábiles y difíciles de conservar si se utilizan las tecnologías tradicionales de preservación como las térmicas.

Varias investigaciones han obtenido resultados adversos utilizando ya sea tratamientos de US acoplados a otras tecnologías o los ya conocidos tratamientos térmicos como se ejemplifica a continuación:

- En el jugo de fresas tratado con US (20 kHz/ 24,4-61 μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0–10) min/ (0,30-0,81) W/mL) Tiwari *et al.* (2008c) obtuvieron una disminución significativa ($p < 0,05$) del contenido de antocianinas (3,2%) cuando la amplitud y el tratamiento fueron máximos.
- Se aplicó US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30–0,81) W/mL) para unos batidos de fruta y se dio una reducción significativa de los polifenoles totales en el nivel de amplitud más alto (Keenan *et al.*, 2012).
- El jugo de sandía recién exprimido fue sometido a tratamientos de termosonicación (20 kHz, 61 μm) con variables de proceso como la temperatura (25-45) $^{\circ}\text{C}$ y el tiempo de procesamiento (2-10) min. La concentración de polifenoles totales en el jugo fresco era de 13,89 mg GAE/100 mL ($t=0$). A medida que se aumentaba la temperatura o el tiempo de procesamiento, se aumentaba la degradación de los polifenoles totales llegando a decrecer significativamente ($p < 0,05$) su contenido desde un 17% y 37% (2 y 6 min respectivamente) hasta un 58% (10 min), para la condición más extrema de temperatura 45 $^{\circ}\text{C}$ (Rawson *et al.*, 2011).
- Aunque haya pérdidas los compuestos antioxidantes se mantienen aún más con el uso de termosonicación que con otros procesos o tecnologías como las térmicas, por ejemplo, para pasteurización del jugo de manzana. Gardner *et al.* (2000) reportaron una pérdida total del contenido de polifenoles totales a 80 $^{\circ}\text{C}$ por 15 min.
- En jugo de toronja, Igual *et al.* (2010), observaron que la pasteurización disminuyó en un 25% el contenido total de compuestos fenólicos.

- Hartmann *et al.* (2008), en el caso del procesamiento de la fresa en jugos y purés, con el tratamiento térmico encontraron un descenso importante (cerca del 30%), del contenido total de polifenoles.
- Para el caso del procesamiento de la mora, en la elaboración de una bebida a escala industrial, Gancel *et al.* (2010) determinaron que el tratamiento térmico, en especial el escaldado, redujo drásticamente el contenido de antocianinas, mientras que el llenado en caliente degradó de manera importante el contenido de elagitaninos, lo cual tuvo un impacto negativo en los polifenoles totales.
- Por su parte, en la elaboración de purés y jugos de mora, con el tratamiento térmico se reportan pérdidas de hasta un 65% de antocianinas, asociado a un descenso importante en los polifenoles totales (Hager *et al.*, 2010).
- En un estudio realizado por Puupponen *et al.* (2003), se encontró que las pérdidas de polifenoles oscilan entre un 20% y un 30%, después de una operación de escaldado y del almacenamiento en congelación lenta aplicada a zanahorias, papas y espinacas.

Por otro lado, tratamientos térmicos como esterilización, pasteurización y deshidratación causan la pérdida de compuestos antioxidantes como polifenoles, carotenoides y vitamina C debido a reacciones de Maillard o por degradación oxidativa (Nayak *et al.*, 2015; Ioannou *et al.*, 2012).

5.3. Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC).

El método H-ORAC permite obtener una medida de la capacidad protectora ante la oxidación que exhiben los compuestos hidrofílicos presentes en una muestra. Ante el creciente interés de los consumidores por obtener alimentos funcionales y beneficiosos para la salud, las propiedades antioxidantes de las frutas y sus derivados como jugos han ganado relevancia. Además, se busca encontrar maneras para conservar estas características o minimizar el daño provocado por el procesamiento o debido a factores ambientales.

Debido a lo recientemente mencionado, es importante indicar que para la variable pérdida promedio de la capacidad antioxidante hidrofílica no se encontró un efecto significativo

($p > 0,8378$; $1 - \beta = 0,1000$) (cuadro A.7) con respecto a la variable tiempo efectivo de sonicación. Sin embargo, al igual que para los polifenoles totales al calcular la potencia de la prueba se obtiene un valor bajo, lo que indica que puede existir la posibilidad de que si haya diferencia, pero no se pueda detectar (error tipo II). Esa diferencia podría ser explicada por la alta variabilidad en la materia prima (ver datos iniciales a $t=0$, cuadro A.6), la falta de más repeticiones, errores debidos al experimento, además de la inestabilidad de los compuestos bioactivos (oxígeno, aire, luz), lo que también afecta el valor de H-ORAC.

En esta investigación y como se observa en la figura 12, la pérdida promedio de la capacidad antioxidante hidrofílica en el jugo de piña pulposo se mantuvo estable a pesar de la aplicación de US a los diferentes tiempos efectivos de sonicación, con porcentajes de pérdida alrededor del 10% o menos (cuadro 8). Inclusive en la muestra del experimento a los 20 min de tiempo efectivo de sonicación se presentó un porcentaje de pérdida negativa (cuadro 8 y figura 12), lo que podría indicar o dar a entender que hubo un efecto contrario, en donde por efectos del US se pueden estar liberando mayor cantidad de compuestos bioactivos, situación que coincide con los resultados obtenidos para los polifenoles totales, uno de los compuestos que más aportan a la capacidad antioxidante hidrofílica.

El resultado obtenido de todas maneras confirma que aunque la propagación de ondas ultrasónicas en líquidos inducen la cavitación que da lugar a micro-burbujas a temperaturas, presiones y fuerzas de cizallamiento muy altas, este proceso se comporta como una tecnología no térmica, ya que no se registra un aumento significativo de la macro-temperatura y se conservan la mayoría de los parámetros de calidad, incluida la calidad funcional (Piyasena *et al.*, 2003; Patist & Bates 2008).

El US es utilizado en la industria, entre otras funciones, para mejorar el porcentaje de extracción de materiales intracelulares al desintegrar las estructuras celulares (disrupción mecánica de las paredes celulares). Esta estabilidad en la pérdida promedio de la capacidad antioxidante del jugo pulposo de piña (cuadro 8 y figura 12), refleja esta utilidad con una relación positiva entre la liberación de componentes y el tiempo de aplicación de ultrasonido (Rana *et al.*, 2017; Eitzbach *et al.*, 2020).

Cuadro 8. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio de la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC) de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Pérdida Promedio (mg TE/g BS)	% Pérdida
0	0 ± 0,0	0
4	2,9 ± 2,3	6,8
8	4,1 ± 2,7	9,8
12	1,1 ± 4,2	2,5
16	4,2 ± 4,1	10,1
20	-0,79 ± 0,4	-1,9

Los resultados se representan como la pérdida promedio ±IC.

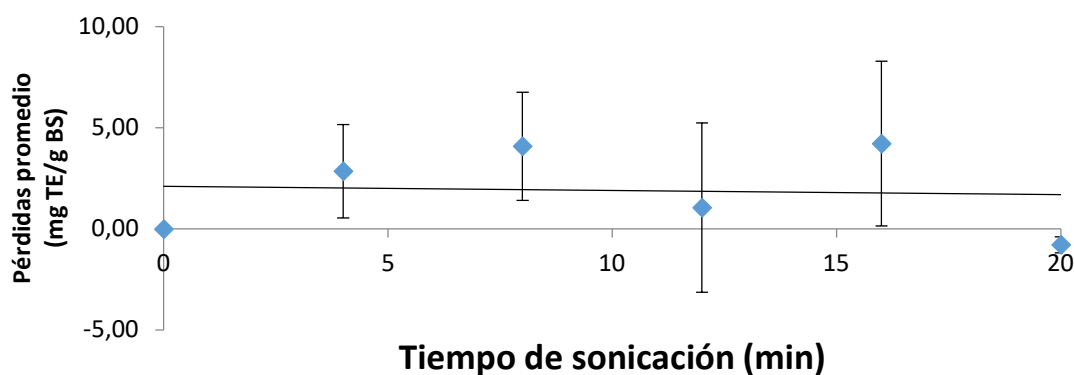


Figura 12. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio de la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC) de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).

Del mismo modo que en la presente investigación, otros trabajos reportados mostraron efectos positivos al mantener estabilidad o no obtener pérdidas muy grandes en la capacidad antioxidante luego de un tratamiento con US, por ejemplo:

- Wong *et al.* (2010) sonicaron el jugo de mora entre 5,9 min y 34,1 min a una frecuencia constante de 20 kHz y a 0,83 W/mL. La capacidad antioxidante (ORAC) no cambió significativamente ($p > 0,05$) durante el tratamiento hasta 32 min.
- El jugo de nopal o tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) fue tratado a niveles de amplitud de 40% y 60% por (10, 15 y 25) min y a 80% por (3, 5, 10, 15 y 25) min y no produjo efectos adversos en la actividad antioxidante total del jugo, ya que no

mostró cambios significativos utilizando la actividad antirradical ABTS, DPPH y la actividad de quelatos en iones de Hierro (Zafra-Rojas *et al.*, 2013).

Ivanovic *et al.* (2014) utilizaron una extracción asistida con US y obtuvieron resultados positivos en la capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) manteniéndola estable al aumentar el tiempo de US.

Caminiti *et al.* (2011) aplicaron a jugos de manzana y arándano manotermosonicación (20 kHz/ 23 μ m /4 bar a 43 °C por 8,4 min) junto a otras tecnologías no térmicas y el AAPH y la capacidad antioxidante del jugo expresado como TEAC (mM) no tuvieron variaciones significativas al igual que en la presente investigación.

El aumento en la capacidad antioxidante de los jugos de fruta o su posible estabilidad como se evidencia en este estudio para el jugo de piña pulposo como resultado de los tratamientos ultrasónicos, podría atribuirse directamente a las cavitaciones inducidas por el ultrasonido, que podrían haber causado una mayor extracción de compuestos antioxidantes (ácidos ascórbico y compuestos fenólicos, etc.) en el producto debido a los efectos mecánicos de las cavitaciones y las implosiones de burbujas durante la sonicación (Abid *et al.*, 2013; Bhat *et al.*, 2011; Jabbar *et al.*, 2014). Esto se demuestra en esta investigación, ya que en apartados anteriores se mencionó que el AA y la vitamina C total presentaron pérdidas pequeñas y se evidenció una estabilidad en el contenido de polifenoles totales, por lo que podría haber un efecto sinérgico causado por esa estabilidad en el conjunto de estos en los compuestos bioactivos con propiedades antioxidantes.

De igual modo resulta importante mencionar que a pesar de las pérdidas significativas obtenidas en los contenidos de vitamina C y AA ($p < 0,05$), algunos autores han previamente reportado una baja contribución de vitamina C (0,35-8,6%) al total de la actividad antioxidante en 11 frutas (arándano, manzana roja, uva, fresa, piña, plátano, durazno, limón, naranja, pera y pomelo) (Sun *et al.*, 2012) y menos del 5% para jugos de manzana y de piña (Gardner *et al.*, 2000), por lo que podríamos decir que ese compuesto bioactivo del jugo de piña no afecta de gran manera al H-ORAC, ya que no es un gran contribuyente a su actividad antioxidante total.

Por otro lado, y a modo de comparación con este estudio, otras investigaciones realizadas han inclusive detectado aumentos significativos en su capacidad antioxidante en diversos jugos de fruta, por ejemplo:

- En un jugo de manzana tratado con ultrasonido por tiempos de (0, 30, 60 y 90) min, a 20 °C y con una frecuencia de 25 kHz y de 28 kHz se presenta un aumento significativo ($p < 0,05$) en la capacidad antioxidante total en un 21%, pasando de 299,64 $\mu\text{g AAE/g}$ en el control a 363,05 $\mu\text{g AAE/g}$ al tiempo máximo de tratamiento de 90 min en el jugo de manzana (Abid *et al.*, 2013). De igual manera al tiempo de 90 min el porcentaje de inhibición de DPPH pasó de 32,87 a 42,94 respecto al control ($t=0$). Este fenómeno se le atribuye al incremento en el ácido ascórbico y a los compuestos fenólicos debidos a las cavitaciones producidas durante la sonicación que aumentan la disponibilidad de los componentes (Abid *et al.*, 2013).
- En un jugo de limón kasturi tratado con ultrasonido por tiempos de (0, 30 y 60) min, a 20 °C y con una frecuencia de 25 kHz, al tiempo de 60 min el porcentaje de inhibición de DPPH pasó de 14,59% a 50,93% respecto al control ($t=0$). Este fenómeno se le atribuye a que las cavitaciones producidas durante la sonicación aumentan la extractibilidad y por ende la disponibilidad de los componentes antioxidantes. En el tiempo de 60 minutos también se presentó un aumento significativo ($p < 0,05$) de la capacidad antioxidante pasando de 577,2 mg AAE/g de jugo en el control a un 777,0 mg AAE/g de jugo a ese tiempo, lo que significa un incremento del 34,6% (Bhat *et al.*, 2011).
- De igual manera le sucedió a Jabbar *et al.* (2014) cuya capacidad antioxidante aumentó significativamente ($p < 0,05$) en el jugo de zanahoria tratado con procesos combinados de blanqueo y US (nivel de amplitud del 70%).
- En un jugo de uva tratado con US (28 kHz/20 C/ (30-90) min) se presenta un aumento significativo ($p < 0,05$) en el DPPH y la capacidad antioxidante total, ese aumento está relacionado con la presencia de una alta concentración del contenido total de polifenoles en frutas que surgen como resultado de la cavitación producida durante la sonicación (Aadil *et al.*, 2013).

- Abid, *et al.* (2014c) estudiaron como la capacidad antioxidante del jugo de manzana sonicado incrementó significativamente ($p < 0,05$) con el aumento en el nivel de amplitud del tratamiento ultrasónico de 30% a 90% en comparación con el control.

Los tratamientos con US pueden producir también descensos en la capacidad antioxidante de los jugos y frutas, pero a pesar de eso, estos son bajos y generalmente menores que los causados por los tratamientos térmicos, de ahí la importancia del uso de este tipo de tecnologías para tratar jugos de fruta y más aún de los resultados obtenidos.

A modo de mostrar este efecto negativo que puede ocurrir, algunos casos en los que se obtienen resultados adversos de capacidad antioxidante al aplicar US o tratamientos térmicos en jugos son:

- En un jugo de manzana tratado con US por tiempos de (0, 30, 60 y 90) min, a 20 °C y con una frecuencia de 25 kHz y de 28 kHz, luego de un periodo de almacenamiento de 30 días, la capacidad antioxidante disminuyó en todas las muestras, independientemente de los tratamientos. Sin embargo, las muestras sometidas a US mostraron un mayor potencial antioxidante incluso con el nivel más alto de tratamiento (amplitud del 90%) en comparación con las muestras control (Abid, *et al.*, 2014c).
- Para unos batidos de fruta se aplicó US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25–45) °C/ (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) y se dio una reducción significativa de la capacidad antioxidante total (TAC) en el nivel de amplitud más alto (Keenan *et al.*, 2012).
- En un jugo de toronja, Igual *et al.* (2010) observaron que la pasteurización disminuyó en un 80% la capacidad antioxidante.
- Para el caso del procesamiento de la mora, en la elaboración de una bebida a escala industrial, Gancel *et al.* (2010) determinaron que el tratamiento térmico, en especial el escaldado, redujo drásticamente el contenido de antocianinas, mientras que el llenado en caliente degradó de manera importante el contenido de elagitaninos, lo cual tuvo un impacto negativo en la capacidad antioxidante del producto final.
- En la elaboración de purés y jugos de mora al utilizar un tratamiento térmico se reportan pérdidas de hasta un 65% de antocianinas monoméricas, asociado a un descenso importante en la capacidad antioxidante (Hager *et al.*, 2010).

De los resultados obtenidos se deriva que, en general, el tiempo de tratamiento de ultrasonido no tuvo un efecto negativo importante en los compuestos bioactivos polares ni en la capacidad antioxidante del jugo de piña pulposo. Los datos analizados implican que el US, bajo las condiciones estudiadas, se podría utilizar en jugo de piña pulposo como parte de otras aplicaciones tecnológicas dado que no afecta de gran manera los compuestos bioactivos hidrofílicos ni la capacidad antioxidante. Esta es una ventaja notable del US sobre las tecnologías térmicas, ya que potencia la eficiencia de otras operaciones unitarias y además permitiría la conservación de los compuestos bioactivos hidrofílicos durante el procesamiento, porque las condiciones de frecuencia, amplitud y densidad de energía acústica permiten conservar las estructuras de los compuestos analizados y no provocan una degradación importante.

5.4. Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el contenido de carotenoides totales.

Diferentes estudios epidemiológicos han sugerido que el consumo de vegetales y frutas que contienen pigmentos como los carotenoides tiene efectos preventivos en el desarrollo de algunos tipos de cáncer. Algunos carotenoides son convertidos en vitamina A dentro del organismo y su presencia se ha relacionado con un aumento de la respuesta del sistema inmune y con un alto potencial antitumoral, siendo asociados con una disminución del riesgo de enfermedades degenerativas (Damodaran *et al.*, 2008). Estos efectos biológicos son independientes de la actividad de provitamina A y se han atribuido a una propiedad antioxidante de los carotenoides a través de la desactivación o captura de los radicales libres de oxígeno (Namitha & Negi, 2010), de ahí la importancia de estudiar en esta investigación el efecto que causa el tiempo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de carotenoides en el jugo de piña pulposo.

En este estudio se encontró un efecto significativo del tiempo efectivo de sonicación sobre la variable pérdida promedio de carotenoides totales ($p < 0,0001$) (cuadro A.7) en el jugo de piña pulposo. Según la figura 13 se observa que a medida que aumenta el tiempo de sonicación (variable continua) se presenta un aumento en la pérdida promedio de los carotenoides (cuadro 9). De hecho, al tiempo máximo de tratamiento (20 min) inclusive se alcanza un valor alto de pérdidas que asciende a un 40,1% (cuadro 9).

En este estudio para la variable pérdida promedio de carotenoides totales se obtuvieron diferencias significativas ($p < 0,0001$) (cuadro A.7) con respecto a los tiempos efectivos de sonicación en el jugo de piña pulposo. En la figura 13 podemos observar de forma gráfica como aumentan las pérdidas promedio de forma significativa a medida que van aumentando los tiempos de sonicación. De hecho, en el tiempo máximo de tratamiento (20 min) se alcanza un valor de pérdida que asciende a un 40,1% (cuadro 9).

Cuadro 9. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de carotenoides totales de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Pérdida promedio ($\mu\text{g/g } \beta\text{-caroteno E BS}$)	% Pérdida
0	$0,0 \pm 0,0$	0,0
4	$2,0 \pm 1,8$	10,0
8	$1,1 \pm 1,3$	5,7
12	$3,2 \pm 2,6$	16,0
16	$6,4 \pm 3,2$	32,4
20	$7,9 \pm 2,5$	40,1

Los resultados se representan como la pérdida promedio \pm IC.

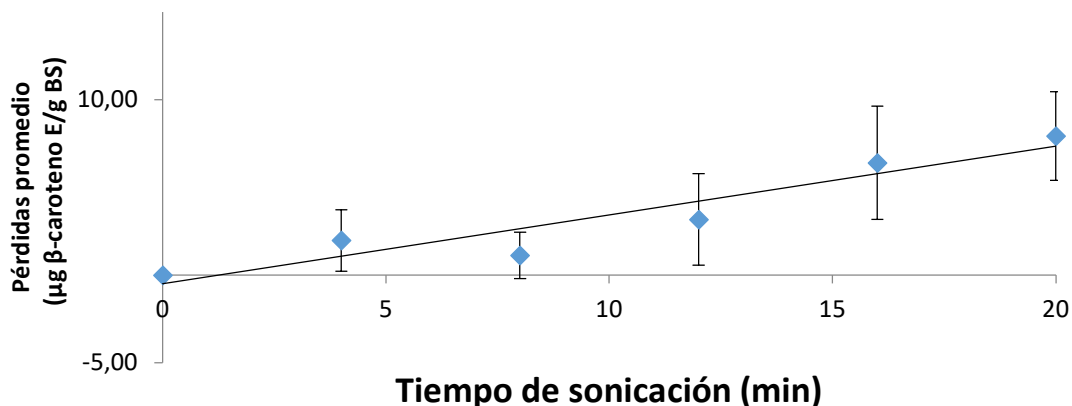


Figura 13. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio del contenido de carotenoides totales de un jugo pulposo de piña (n=3; barras de error representan el intervalo de confianza).

Según los datos obtenidos, el US no es una buena herramienta para conservar los carotenoides en el jugo pulposo de piña. Es muy importante tomar en cuenta estas pérdidas en el contenido de carotenoides, ya que según Belitz & Grosch (1997), en la piña se puede

encontrar este compuesto en cantidades relativamente bajas y en forma de β -caroteno y luteína. El primero es precursor de vitamina A y la luteína puede utilizarse como aditivo, antioxidante y tiene una acción protectora de los ojos y de la piel, beneficios que pueden perderse debido a las pérdidas que se presentaron.

La principal causa de destrucción de los carotenoides durante el procesamiento y almacenamiento de alimentos es la oxidación enzimática o no enzimática y esta depende del oxígeno disponible, los carotenoides involucrados y su condición física. La cadena de dobles enlaces causa inestabilidad en los carotenoides incluyendo su susceptibilidad a la oxidación e isomerización geométrica. La luz, calor, metales, enzimas y peróxidos estimulan la oxidación (Rodríguez-Amaya, 2001; Meléndez *et al.*, 2004b). Se ha comprobado que los procesos de oxidación son más fuertes (con algunas excepciones) cuando se pierde la integridad celular, de forma que en los vegetales triturados la pérdida de compactación celular pone en contacto sustancias que pueden modificar estructuralmente e incluso destruir los pigmentos (Meléndez *et al.*, 2004b). Quizá por este motivo, a diferencia de polifenoles o vitamina C, los carotenoides se ven más afectados negativamente por la mayor alteración de las paredes celulares, debido a que la cavitación, que implica la formación, el crecimiento y colapso de burbujas microscópicas (implosión) y las propiedades de disrupción de las ondas de ultrasonido provocan esa división celular que puede terminar destruyendo pigmentos carotenoides y degradando su concentración como lo puede haber generado la mayor exposición al US en esta investigación (Piyasena *et al.*, 2003; Patist & Bates 2008; Bhat *et al.*, 2011; Galanakis, 2012).

Además, es importante recordar que el US puede producir tensiones mecánicas, efectos térmicos producidos por la implosión de burbujas y producción de radicales libres lo que puede producir en el jugo procesos oxidativos avanzados que afectan los carotenoides (Gómez-López *et al.* 2010; Valdramidis *et al.*, 2010). La degradación de carotenoides puede deberse también a las condiciones físicas extremas (termólisis o la combustión) como un aumento de la presión y de la temperatura local, alcanzando hasta 5500 °C y 50 MPa respectivamente, que se producen dentro de las burbujas durante su colapso cavitacional a microescala. Además, el US genera una acción mecánica entre las interfaces de sólidos y líquidos y también varias reacciones que se producen de forma simultánea o

en forma aislada (Suslick *et al.*, 1986). Las reacciones de oxidación, promovidas por la interacción de los radicales libres (como los hidroxilo) producidos por la cavitación durante la sonicación (Portenlänger & Heusinger, 1992; Sadilova *et al.*, 2007), debido principalmente al aumento de temperatura que se produce, también pueden contribuir a esa destrucción de este tipo de compuestos (Tiwari *et al.*, 2008a, b; Rodrigues & Narciso, 2012).

Otras investigaciones mostraron un descenso importante en el contenido de carotenoides tras la aplicación de US, por ejemplo:

-Vercet *et al.* (2001) aplicaron manotermosonicación (20 kHz, 200 kPa a 62 °C por (15-30) s) y obtuvieron una degradación del β -caroteno y pérdida de carotenoides en el jugo de naranja (entre un 8% y un 12%). Inclusive en este estudio, el tratamiento térmico a la misma temperatura (62 °C, (15-30) s) no mostró ninguna degradación. La degradación de los carotenoides se atribuyó a los radicales libres producidos por el ultrasonido y la oxidación.

También se encontraron algunas investigaciones científicas en jugos que muestran aumentos en los carotenoides y este fenómeno al igual que para la vitamina C y los polifenoles se lo atribuyen a la ruptura mecánica de las paredes celulares, debido a que la cavitación y las propiedades de disrupción de las ondas de ultrasonido facilitan la extracción de compuestos diversos. ¿Esta situación plantea el por qué se dan tendencias distintas con la ruptura de las paredes celulares en los carotenoides? Algunas teorías que lo expliquen podrían ser, el tipo de pigmento carotenoide que tenga la matriz y cómo se comporta, la inhibición de la oxidación por los antioxidantes presentes también en el mismo alimento y cuanto oxígeno queda disponible después de la fase de implosión y como este puede llegar a oxidar los carotenoides, además por supuesto de las distintas condiciones de tratamiento US utilizadas. El método de extracción del jugo podría también influir, ya que al obtener el jugo de piña se genera mucha acumulación de aire y la sensibilidad a la luz de este compuesto pudo producir pérdidas durante la producción del jugo y las extracciones del compuesto durante el posterior análisis.

A modo de ejemplo y contrarrestando lo obtenido en este estudio para el jugo de piña:

- Abid *et al.* (2014a) obtuvieron un aumento significativo en los carotenoides totales de muestras de jugo de manzana sometidas a sonicación (25 kHz/ 70%/ 20 °C) durante 30 min (12%) y 60 min (27%) en comparación con muestras de jugo no sometidas a ultrasonidos.
- En el jugo de sandía al que se le aplicó US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) °C/ (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) se le encontró un ligero aumento en el contenido de licopeno cuando se utilizaron niveles de amplitud más bajos (Rawson *et al.*, 2011).
- Al aplicar US (40 kHz/130 W/ (15-60) min/ 25 °C) al jugo de mango chokanan se dio un aumento significativo de carotenoides (del 4% al 9%) (Santhirasegaram *et al.*, 2013).

Los carotenoides son pigmentos estables en su ambiente natural, pero cuando los alimentos se calientan se vuelven mucho más lábiles (Meléndez *et al.*, 2004b), en las siguientes investigaciones científicas se ejemplifican las pérdidas del compuesto bioactivo y el por qué se buscan tecnologías no térmicas de conservación para preservar los jugos. A pesar de ello, en esta investigación, se obtuvieron resultados que se asemejan mucho a los obtenidos por la utilización de tratamientos térmicos en cuanto a la conservación de compuestos carotenoides se refiere. A manera de ejemplificar lo mencionado se tiene:

- Durante el procesamiento de puré de mango sometido a desintegración física y tratamiento de calor extra a 80 °C durante 10 min, se favoreció la destrucción de carotenoides, presentándose un 12% de pérdida de β -caroteno y una disminución del 26% en la β -criptoxantina (Godoy & Rodríguez-Amaya, 1991).
- Sian & Ishak (1991) examinaron los efectos de los tratamientos de escaldado y presecado sobre la estabilidad de los carotenoides en papaya y piña. Los carotenoides disminuyeron progresivamente en las dos frutas a medida que aumentaron el tiempo y temperatura del escaldado. La retención de pigmentos después de escaldar o secar fue menor en la piña que en la papaya.
- Otra investigación como la de Rattanathanalerk *et al.* (2005), menciona cómo el procesamiento térmico provoca pérdidas en la calidad de un jugo de piña para un rango de temperatura de 55 °C a 95 °C y se describe por el efecto no enzimático de pardeamiento y la destrucción de los pigmentos de carotenoides.

- La degradación de los carotenoides en el jugo de naranja se monitoreó durante el calentamiento por microondas en diferentes condiciones de tiempo/temperatura. Varios carotenoides fueron identificados y cuantificados por HPLC. La tasa de degradación de los carotenoides se vio afectada a 60 °C y 70 °C durante 10 min, la violaxantina y la anteraxantina fueron los compuestos más inestables, mientras que la luteína y la provitamina A fueron más estables. A 85 °C se observó una disminución de alrededor del 50% para casi todos los carotenoides después de 1 minuto de calentamiento por microondas (Fратиanni *et al.*, 2010).

A manera de contrastar los resultados obtenidos en nuestro estudio, otras tecnologías no térmicas presentaron menores efectos en los carotenoides que las tradicionales, por ejemplo:

- El tratamiento de pasteurización (90 °C, 20 s) causa una mayor disminución en la concentración de la mayoría de los carotenoides identificados. La concentración total de carotenoides disminuyó un 12,6% en jugo de naranja pasteurizado con respecto al jugo de naranja fresco no tratado, en oposición a disminuciones de 9,6%, 6,3% o 7,8% cuando se aplicaron campos eléctricos pulsados de alta intensidad de (25, 30 o 40) kV/cm respectivamente. El jugo de naranja tratado con los campos eléctricos muestra una mayor tendencia hacia el color amarillo y una menor tendencia hacia el rojo con respecto al jugo de naranja sin tratar, mientras que la luminosidad del jugo permanece prácticamente invariable, lo que demuestra la presencia de una mayor cantidad de pigmentos carotenoides respecto al jugo de naranja pasteurizado (Cortés *et al.*, 1998).

Es importante mencionar que las características de cualquier tipo de tratamiento (en nuestro caso el US) siempre deben ajustarse al tipo de matriz, ya que en algunos casos puede aumentar o disminuir la disponibilidad de los carotenoides según sea la misma. A continuación, se ejemplifica esta situación en dos diferentes tipos de puré a los que se le aplican los mismos tratamientos:

- El contenido de carotenoides obtuvo un aumento significativo ($p < 0,05$) por el procesamiento (térmico (70 °C/ 2 min) y de alta presión) en el puré de zanahoria, respecto a las muestras no procesadas. Se sugiere que la homogeneización y el tratamiento térmico rompen las membranas celulares y el complejo proteína-

carotenoide, haciendo que los carotenoides sean más accesibles para la extracción. En cambio, el contenido de carotenoides fue particularmente afectado por el procesamiento en el puré de tomate utilizando el mismo tipo de procesamiento que para la zanahoria, ya que se degradó de forma significativa ($p < 0,05$) respecto a las muestras no procesadas (Patras *et al.*, 2009).

Aunque la literatura sobre la retención o pérdida de carotenoides durante el procesamiento y almacenamiento parece ser abundante, la mayoría de los trabajos implican mediciones del contenido de carotenoides totales. Las transformaciones químicas que ocurren durante el tratamiento con calor involucran la isomerización y epoxidación de carotenoides, no su formación. Los supuestos aumentos de β -caroteno podrían deberse simplemente a una mayor facilidad con la cual se pueden extraer los carotenoides de muestras cocidas o procesadas, en comparación con la extracción en alimentos frescos, donde los carotenoides están protegidos físicamente y/o están combinados con otros componentes de los alimentos que impiden la penetración de los solventes y la extracción (Rodríguez-Amaya & Kimura., 2004). Luego de los resultados obtenidos en el presente trabajo se podrían realizar estudios del perfil de carotenoides en el jugo de piña pulposo y así poder explicar de una mejor y más detallada manera las transformaciones químicas de estos compuestos bioactivos y los motivos de su retención o pérdida, luego de un tratamiento con US.

5.5. Evaluación del efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre los parámetros de color y la diferencia total de color (ΔE).

5.5.1. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre los parámetros de color (CIELab).

El color es uno de los primeros atributos que un consumidor percibe y es a menudo importante en la aceptación general de los alimentos. En el jugo de fruta es uno de los criterios visuales más importantes para los consumidores con respecto a la calidad general del producto, ya que puede resaltar el nivel de aceptación y puede servir como un indicador de la calidad microbiana durante el procesamiento y almacenamiento de un jugo

de fruta (Bhat *et al.*, 2011; Tiwari *et al.*, 2009c y d). También las valoraciones visuales pueden influenciar la percepción del sabor de los alimentos (Spence *et al.*, 2010).

Para las variables a^* (rojo/verde) ($p > 0,2274$; $1-\beta = 0,2200$), el tono o Hue (H^*) ($p > 0,8171$; $1-\beta = 0,9418$) y la Luminosidad (L^*) ($p > 0,4620$; $1-\beta = 1$) (cuadro A.8), no se encontró un efecto del tiempo efectivo de sonicación utilizado en esta investigación para el jugo de piña pulposo ($p > 0,05$). A manera de ejemplo en el cuadro 12 y la figura 16 podemos observar que el tono (H^*) no presenta grandes modificaciones o variaciones y se mantiene con cambios mínimos durante los distintos tiempos de sonicación. Lo mismo sucede con a^* y L^* (A.9 y A.10).

Como se observa al realizar las potencias de la prueba se obtiene un valor bajo para la variable a^* , lo que significa que existe la posibilidad de que sí haya efecto, debido por ejemplo al tamaño de la muestra, por la alta variabilidad en la materia prima (ver datos iniciales a $t=0$, cuadro A.6) u otros errores debidos al experimento. Mientras tanto para las variables L^* y H^* , la potencia de la prueba evidencia que definitivamente no existe un efecto del tiempo de sonicación para estos parámetros.

El cuadro A.8 muestra que tanto para la variable de color b^* como para la variable *chroma* (C^*) ($p < 0,0001$ para ambas) se obtuvo un efecto del tiempo de sonicación ($p < 0,05$) para el jugo de piña pulposo.

Según los cuadros 10 y 11 a medida que aumenta el tiempo efectivo de sonicación en el jugo de piña pulposo decrecen sus valores de b^* (azul-amarillo) y C^* , osea que disminuye el grado de intensidad o saturación amarilla del jugo. Es importante mencionar que el color del jugo de fruta está generalmente influenciado por la existencia de pigmentos naturales, que a su vez dependen de la etapa de madurez de la fruta, las condiciones de almacenamiento empleadas, la actividad enzimática y la contaminación microbiana (Bhat *et al.*, 2011).

Los cambios de color obtenidos en esta investigación pueden estar ligados a las pérdidas en los carotenoides totales ya reportadas en este trabajo, ya que estos compuestos son antioxidantes naturales responsables de la coloración natural amarilla en el jugo de piña. El diferente estado de madurez en las materias primas proveniente de cada lote contribuye

también con esas diferencias significativas, ya que el color percibido en la piña está relacionado con sus contenidos de carotenoides y clorofila. La clorofila, que es responsable del color verde, se pierde en la piña madura, lo que da lugar a carotenoides, lo que a su vez contribuye a un color amarillo cada vez más evidente (Dull, 1971; Paull, 1993).

Cuadro 10. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor b^ en un jugo pulposo de piña ($n=3$).*

Tiempo (min)	b^* (*)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	58,2	60,6	53,8	57,5 ± 0,0
4	56,0	63,1	54,5	57,9 ± 5,2
8	54,9	59,8	52,3	55,7 ± 4,3
12	51,6	58,2	53,1	54,3 ± 3,9
16	53,9	56,9	49,7	53,5 ± 4,1
20	51,9	54,3	47,8	51,3 ± 3,7

(*) Los valores son significativos ($p<0,05$). Los resultados se representan por el promedio ± IC.

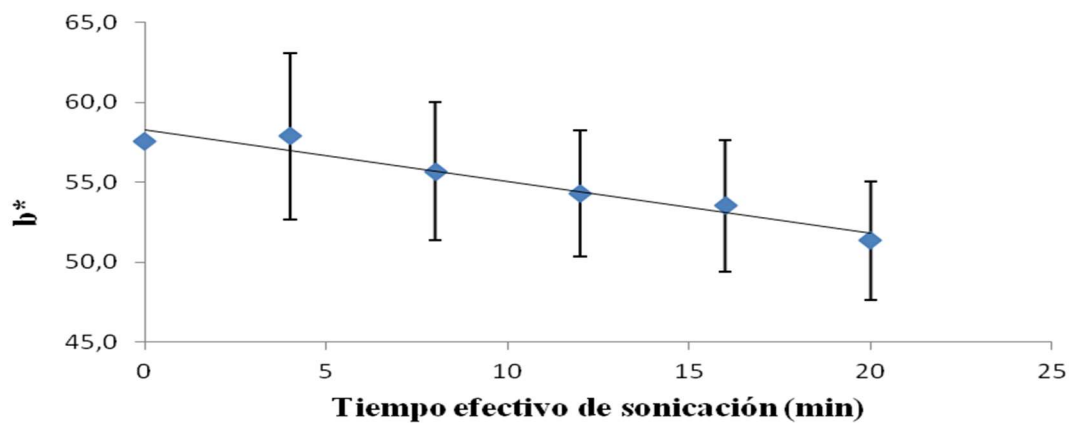


Figura 14. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor b^ de un jugo pulposo de piña ($n=3$; barras de error representan el intervalo de confianza).*

Cuadro 11. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor C^* en un jugo pulposo de piña ($n=3$).

Tiempo (min)	C^* (*)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	58,2	60,6	53,8	57,5 ± 0,0
4	56,0	63,2	54,5	57,9 ± 5,3
8	54,9	59,8	52,3	55,7 ± 4,3
12	51,6	58,2	53,1	54,3 ± 3,9
16	53,9	56,9	49,7	53,5 ± 4,1
20	51,9	54,3	47,8	51,3 ± 3,7

(*) Los valores son significativos ($p<0,05$). Los resultados se representan por el promedio ±IC.

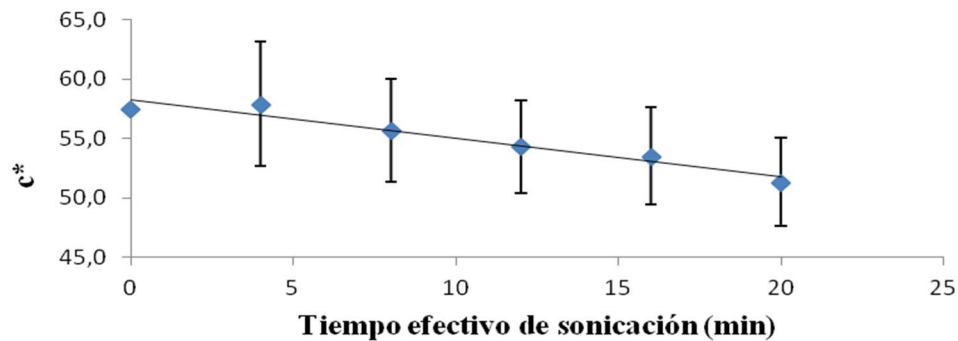


Figura 15. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor C^* de un jugo pulposo de piña ($n=3$; barras de error representan el intervalo de confianza).

Cuadro 12. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor Hue en un jugo pulposo de piña ($n=3$).

Tiempo (min)	H*			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	5047,5	5066,8	5119,4	5078 ± 0,0
4	5020,3	5057,8	5131,0	5069,7 ± 63,7
8	5107,0	5046,6	5145,0	5099,5 ± 56,2
12	5060,9	5059,0	5074,8	5064,9 ± 9,8
16	5096,6	5088,5	5120,9	5102,0 ± 19,1
20	5114,5	5122,4	5040,2	5092,4 ± 51,3

(*) Los valores son significativos ($p<0,05$). Los resultados se representan por el promedio ±IC.

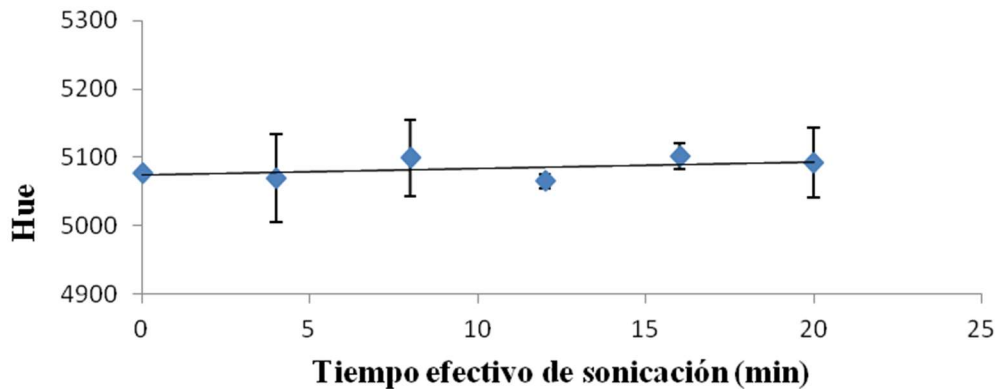


Figura 16. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor Hue de un jugo pulposo de piña ($n=3$; barras de error representan el intervalo de confianza).

Otra explicación de la correlación entre las pérdidas de carotenoides y la reducción de b^* o de C^* es que la relación de las coordenadas CIElab y los carotenoides en las muestras analizadas generalmente se deben principalmente a la presencia de sistemas de dobles enlaces conjugados de la cadena polienoica de los carotenoides que permite formar un cromóforo (parte de la estructura responsable de la absorción de luz visible y por tanto del color del compuesto) cuya capacidad de absorción de luz da lugar a los llamativos y característicos colores de estos pigmentos (amarillo) y el número de dobles enlaces conjugados y la presencia de diferentes grupos funcionales determinarán en última instancia las características espectroscópicas propias de cada pigmento (Moreno *et al.*, 2012).

La degradación del color amarillo en las muestras del jugo de piña sonicado se puede atribuir a la isomerización acelerada de carotenoides, así como a las reacciones de oxidación que ocurren como resultado de la interacción con radicales libres generados durante los tratamientos de sonicación. La cavitación inducida durante la sonicación también puede ser un factor que contribuye a los cambios que se producen en el color del jugo. Por otro lado, la degradación del color asociada con el uso de ultrasonido podría ser atribuida también a las condiciones físicas extremas localizadas de temperatura (hasta 5000 K) y presión (50 000 kPa) en las muestras (Chen *et al.*, 1995).

Las reducciones en b^* afectan las características sensoriales del jugo de piña, además de su aceptación, ya que la mayoría de los consumidores prefieren una piña más amarilla porque esto está asociado con una fruta más madura y dulce (Britton & Khachik, 2009).

En otros jugos de fruta se han mostrado reducciones significativas en el valor de b^* al utilizar un tratamiento con US, por ejemplo:

- El jugo de uva roja (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) (Tiwari *et al.*, 2010), jugo de naranja (20 kHz, 61 μm , 10 min, 0,81 W/mL) (Tiwari *et al.* (2008a, 2008b)), jugo de fresas (20 kHz, 61 μm y 10 min a 0,81 W/mL) (Tiwari *et al.*, 2008c) y el jugo de tomate (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) (Adekunte *et al.*, 2010). Se piensa que dichos cambios de color son causados por efectos cavitacionales que provocan diversas reacciones físicas, químicas y biológicas, es decir, aceleran las reacciones químicas, aumentan las tasas de difusión, dispersan los agregados o degradan las enzimas y los microorganismos (Sala *et al.*, 1995).
- En otra investigación los parámetros de Hunter Lab se vieron afectados significativamente ($p < 0,05$) en el jugo de naranja tratado con US (20 kHz/ (50-75) %/ (5-30) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min). En este caso las muestras de jugo se volvieron ligeramente más claras, aumentó la luminosidad (L^*), más verdes (disminución de a^*) y más amarillas (aumenta b^*). Sin embargo, no se observó diferencia estadística en el color según panel sensorial de prueba, incluso en condiciones extremas de tratamiento no se detectaron diferencias a simple vista por los jueces sensoriales (Gómez- López *et al.*, 2010).

Para diversos jugos la sonicación también ha causado cambios en sus características de color, por ejemplo:

- El tratamiento por US (35 kHz/ 20 $^{\circ}\text{C}$ / 30 min) en el jugo de guayaba provocó un aumento del rojo (a^*) y el amarillo (b^*) de las muestras en comparación con el jugo no tratado, mientras que la luminosidad (L^*) disminuyó. Además, mostró un cambio significativo en el valor ΔE (Cheng *et al.*, 2007).

- El jugo de mora tratado con US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL), provocó una disminución significativa de la luminosidad (L^*) cuando se incrementó el nivel de amplitud (Tiwari *et al.*, 2009a).
- La luminosidad (L^*) del jugo de sandía tratado con US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL), aumentó con niveles de amplitud más altos y tiempos de tratamiento más largos (Rawson *et al.*, 2011).
- El rojo (a^*) y la luminosidad (L^*) aumentaron en el jugo de uva roja después de los tratamientos de US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) (Tiwari *et al.*, 2010).
- Se presentó una disminución significativa del rojo (a^*) y aumento de la luminosidad (L^*) en el jugo de naranja después de utilizar el nivel de amplitud de US más alto (61 μm) y el tiempo de tratamiento más prolongado (10 min) (Tiwari *et al.* (2008a, 2008b)), misma situación que reportan Tiwari *et al.* (2008c), pero en el caso del jugo de fresa.
- Al tratar el jugo de limón Kasturi con US (25 kHz/ 20 $^{\circ}\text{C}$ / (0-60) min) al mayor tiempo de exposición, se obtuvieron cambios significativos ($p < 0,05$) con los valores más bajos para L^* , a^* y el valor b^* más alto (Bhat *et al.*, 2011).
- Los mismos resultados fueron obtenidos para el jugo de manzana, con un tratamiento de sonicación (25 kHz/ 20 $^{\circ}\text{C}$ / 90 min). Los cambios en el color de los jugos de fruta pueden atribuirse a las cavitaciones durante la sonicación. Sin embargo, sensorialmente, los pequeños cambios de color inducidos por la sonicación del jugo de limón kasturi y del jugo de manzana no fueron detectables a simple vista por los consumidores. Así que por esta razón se puede justificar la aplicación de US en el procesamiento de estos jugos (Seshadri *et al.*, 2003; Abid, *et al.*, 2013).
- Con los batidos de fruta procesados con US (20 kHz/ (24,4-61) μm / (25-45) $^{\circ}\text{C}$ / (0-10) min/ (0,30-0,81) W/mL) se obtuvieron valores más bajos para los parámetros de color (L^* , a^* y b^*), posiblemente debido a limitaciones de procesamiento (Keenan *et al.*, 2012). Estas tendencias de degradación durante el procesamiento ultrasónico pueden estar relacionadas con la formación de radicales libres que se producen durante la sonicación, dando como resultado un aumento potencial en las vías de oxidación (Portenlänger & Heusinger, 1992; Pétrier *et al.*, 2007).

A modo de comparación con los resultados obtenidos en la presente investigación, en algunos jugos el tratamiento US no produce cambios significativos en el color, por lo que este tipo de tratamiento no térmico se convierte en una herramienta ideal para tratarlos, de esta forma tenemos como ejemplo:

- El jugo de uva investigado por Aadil *et al.* (2013), no presentó diferencias significativas en la luminosidad (L^*), rojo (a^*) y el amarillo (b^*) de las muestras tratadas con US (28 kHz/ 20 °C/ (30-90) min) en comparación con los jugos no tratados.
- El tratamiento con US ((23-500) kHz/ (120-600) W/ (0-180) min) en el jugo de naranja no tuvo ningún efecto sobre la producción de pigmentos, además el índice de pardeamiento y el color son similares entre muestras tratadas y no tratadas (Valero *et al.*, 2007).
- En el jugo de mora procesado con US (20 kHz/ 40% (48 μ m) / 25 (\pm 2) °C/ (5,9-34,1) min/ 0,83 W/mL) los parámetros de color (L^* , C^* , H^*) se mantuvieron constantes ($p > 0,0675$; $1-\beta = 0,98$) para todos los tiempos de sonicación, incluidas las muestras no tratadas. El ΔE también se mantuvo constante ($p > 0,4072$; $1-\beta = 0,99$), lo que indica la ausencia de degradación general del color entre las muestras no tratadas y tratadas (Wong *et al.*, 2010).
- Al aplicar US y calor también se reportan cambios en el color de los jugos de fruta, ejemplo de esto lo presentan Caminiti *et al.* (2011), ya que al aplicar manotermosonicación (20 kHz/ 23 μ m/ 4 bar a 43 °C por 8,4 min) al jugo de manzana y arándano, se observaron disminuciones significativas ($p < 0,001$) de 37% y 34% en el parámetro a^* , que muestra que el jugo procesado era menos rojo que el control.
- -En un estudio realizado por Zenker *et al.* (2003), al aplicar termosonicación (20 kHz, 75 °C por (0-30) s), el color del jugo de naranja cambió significativamente. Además se presentó un incremento en la luminosidad (L^*) que se explica por una precipitación parcial de partículas insolubles suspendidas.
- El jugo de piña, uva y arándano presentó cambios significativos en el color ($p < 0,05$) luego de aplicar una termosonicación (24 kHz/ 120 μ m/ (40-60) °C/ (0-10) min) (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2012).

El calor sigue siendo la técnica más utilizada para la inactivación de microorganismos en los alimentos y de enzimas como la polifenoloxidasas, la cual es responsable del pardeamiento enzimático y puede producir cambios en el color, sabor o pérdidas de vitamina C (Rattanathanalerk *et al.*, 2005). El uso de calor en el procesamiento de jugos de fruta provoca cambios y pérdidas en el color, esto se ejemplifica:

- En el estudio realizado por Rattanathanalerk *et al.* (2005), se reporta que el procesamiento térmico provoca pérdidas en la calidad de un jugo de piña en un rango de temperatura de 55 °C a 95 °C, obteniéndose cambios significativos en los parámetros a^* y b^* , mientras que el ΔE se ajusta a un modelo que se describe por el efecto no enzimático de pardeamiento y la destrucción de los pigmentos carotenoides (Rattanathanalerk *et al.*, 2005).
- Otro ejemplo del efecto del uso del calor para el procesamiento, en este caso para el puré de piña, se refleja en la investigación llevada a cabo por Chutintrasri & Noomhorm (2007), donde debido al aumento en la temperatura entre los 70 °C y los 110 °C (rango utilizado para cubrir el precalentamiento y la esterilización del puré de piña comercial aséptico) se presentaron cambios en el color del puré, más específicamente en la luminosidad (L^*) y la diferencia total de color (ΔE), los cuales se asocian con una pérdida de carotenoides.
- Patras *et al.* (2009) al utilizar calor y altas presiones en los purés de tomate y zanahoria, encontraron que los parámetros de color fueron afectados significativamente ($p < 0,05$).

Por estas razones y complicaciones que se encuentran generalmente con el uso de tratamientos térmicos de procesamiento y conservación es que el uso del US en productos de fruta puede convertirse en una buena herramienta para mantener de mejor manera o producir pocos cambios visuales en el color de los productos, si se controlan y se continúan estudiando sus parámetros.

5.5.2. Efecto del tiempo de sonicación sobre la diferencia total de color (ΔE).

Se encontró un efecto significativo ($p < 0,0001$) del tiempo de sonicación sobre la diferencia total de color (ΔE) para el jugo de piña pulposo (cuadro A.8). En este caso el

cambio de color aumenta con el tiempo de sonicación como puede observarse en la figura 17.

Cuadro 13. Efecto del tiempo efectivo de sonicación en la diferencia total de color (ΔE) en un jugo pulposo de piña ($n=3$).

Tiempo (min)	ΔE (*)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	0,0	0,0	0,0	0,0 \pm 0,0
4	2,5	2,9	2,2	2,5 \pm 0,4
8	3,6	2,9	3,1	3,2 \pm 0,4
12	4,9	2,4	2,3	3,2 \pm 1,7
16	4,4	3,9	4,8	4,4 \pm 0,5
20	6,5	6,4	6,8	6,6 \pm 0,2

(*) Los valores son significativos ($p < 0,05$). Los resultados se representan por el promedio \pm IC.

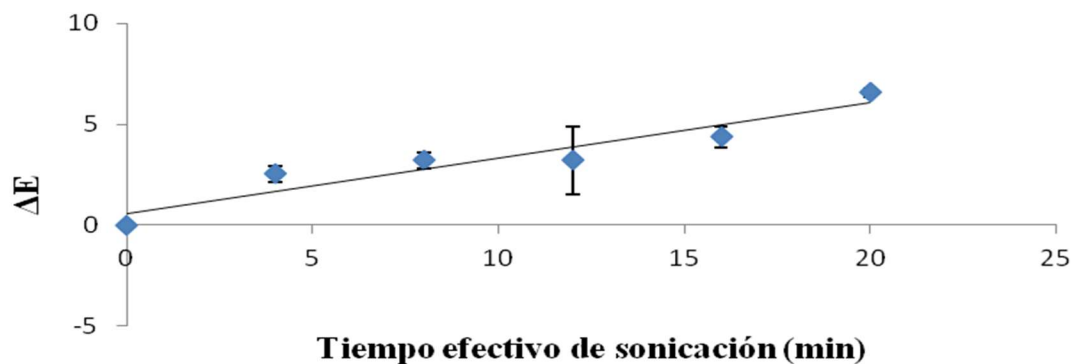


Figura 17. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la diferencia total de color (ΔE) de un jugo pulposo de piña ($n=3$; barras de error representan el intervalo de confianza).

Como menciona Cserhalmi *et al.* (2006), los ΔE se pueden clasificar analíticamente como no notables (0-0,5), levemente perceptibles (0,5-1,5), perceptibles (1,5-3,0), bien visibles (3,0-6,0) y grandes (6,0-12,0) (Cserhalmi *et al.*, 2006). Por lo que según el cuadro 13, para el tiempo efectivo de sonicación 4 min se muestran diferencias perceptibles al ojo humano y a medida que se aumentan los tiempos de sonicación esas diferencias van aumentando como se puede notar de forma gráfica en la figura 17, incluso para los tiempos 8, 12 y 16

minutos, los valores de ΔE serían bien visibles al ojo humano (3,2, 3,2 y 4,4) y al máximo tiempo de sonicación la ΔE (6,6) es más grande la percepción (cuadro 13).

Por otro lado, según la clasificación que realiza Castellar *et al.* (2006), en la cual el valor de ΔE debe ser igual o mayor a 5 para poder distinguir diferencias de color entre dos muestras (Castellar *et al.*, 2006), sólo el mayor tiempo de sonicación (20 minutos) presentaría un ΔE (6,6) visible al ojo humano, respecto al tiempo cero ($t=0$) que representa al jugo pulposo de piña sin tratamiento con US (cuadro 13).

Realizar una distinción entre las muestras sonicadas es difícil, aunque la teoría indique que deba ser perceptible a simple vista. Dias *et al.* (2015) demuestran que, pese a que la diferencia sea detectada instrumentalmente, no significa que vaya a ser encontrada a simple vista. Aunque un análisis instrumental indique un cambio suficiente para dicha diferenciación, ha sido corroborado que sensorialmente los consumidores no fueron capaces de identificarla (Gómez *et al.*, 2018). Sería importante confirmar esto con el análisis sensorial correspondiente en el futuro con nuevas investigaciones en esta línea, que complementen los resultados de esta investigación.

6. CONCLUSIONES

- En el jugo de piña pulposo se encontró un efecto significativo del tiempo efectivo de sonicación sobre la pérdida promedio de vitamina C total ($p < 0,0015$); se observó que a medida que aumenta el tiempo efectivo de sonicación (variable continua) se denota un ligero aumento en la pérdida promedio de este compuesto bioactivo.
- En el jugo de piña pulposo se dio un efecto significativo del tiempo efectivo de sonicación sobre la variable pérdida promedio de ácido ascórbico ($p < 0,0003$). A medida que se aumenta el tiempo efectivo de sonicación (variable continua) las pérdidas promedio de ácido ascórbico son mayores.
- El AA y la vitamina C, presentan porcentajes de pérdida bajos, menores al 8,2% incluso al mayor tiempo efectivo de sonicación (20 min).
- No se encontró un efecto significativo del tiempo efectivo de sonicación sobre la variable pérdida promedio de polifenoles totales ($p > 0,8809$; $1-\beta = 0,1128$).
- Para la variable pérdida promedio de la capacidad antioxidante hidrofílica no se encontró un efecto significativo ($p > 0,8378$; $1-\beta = 0,1000$) con respecto a la variable tiempo efectivo de sonicación.
- En este estudio se encontró un efecto significativo del tiempo de sonicación sobre la variable pérdida promedio de carotenoides totales ($p < 0,0001$) en el jugo de piña pulposo. A medida que aumenta el tiempo efectivo de sonicación (variable continua) se presenta un aumento en la pérdida promedio de los carotenoides totales. De hecho, al tiempo máximo de tratamiento (20 min) inclusive se alcanza un valor alto de pérdidas que asciende a un 40,1%.
- Para las variables a^* (rojo/verde) ($p > 0,2274$; $1-\beta = 0,2200$), el tono o Hue (H^*) ($p > 0,8171$; $1-\beta = 0,9418$) y la Luminosidad (L^*) ($p > 0,4620$; $1-\beta = 1$), no se encontró un efecto significativo del factor tiempo efectivo de sonicación utilizado en esta investigación en el jugo de piña pulposo ($p > 0,05$).

- Para las variables L^* y H^* , la potencia de la prueba evidencia que definitivamente no existe un efecto del tiempo efectivo de sonicación para estos parámetros de color.
- Tanto para la variable de color b^* como para la variable chroma (C^*) ($p < 0,0001$ para ambas) se obtuvo un efecto significativo del factor tiempo efectivo de sonicación ($p < 0,05$) para el jugo de piña pulposo. A medida que aumenta el tiempo efectivo de sonicación, en el jugo de piña pulposo decrecen sus valores de b^* (azul-amarillo) y C^* , o sea que disminuye la intensidad o saturación de coloración amarilla.
- Se encontró un efecto significativo ($p < 0,0001$) del tiempo efectivo de sonicación sobre la diferencia total de color (ΔE) para el jugo de piña pulposo. En este caso el ΔE aumenta conforme aumenta el tiempo efectivo de sonicación.
- De acuerdo con la literatura se concluye que sólo el mayor tiempo de sonicación (20 min) presentaría un ΔE (6,6) en el que se puede distinguir diferencias de color respecto al jugo de piña fresco ($t=0$) que representa al jugo pulposo de piña sin tratamiento con US y que estas serían perceptibles al ojo humano.
- Al ser el color un atributo importante en la aceptación del producto por parte del consumidor y según los 2 criterios de evaluación del ΔE no sería recomendable la aplicación de un tiempo de sonicación de 20 min para tratar el jugo de piña pulposo.
- En general, tiempos efectivos de sonicación de hasta 20 min no presentan un efecto negativo sobre las cualidades nutricionales y los compuestos bioactivos del jugo de piña pulposo (excepto para los carotenoides totales). Los componentes analizados se preservan o tienen porcentajes de pérdida muy bajos en comparación a otros jugos con tratamientos térmicos o no térmicos (incluido el US) en otras investigaciones.
- Los hallazgos del presente estudio sugieren que el tratamiento de sonicación podría emplearse como una técnica adecuada para el procesamiento o conservación del jugo pulposo de piña a diferentes tiempos de sonicación, ya que puede presentar muy buenas retenciones (del 90% o más) en algunos de sus

compuestos bioactivos (vitamina C, ácido ascórbico y polifenoles totales) así como en la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC).

- El estudio realizado sobre las pérdidas en los compuestos bioactivos del jugo de piña pulposo debido a los tiempos efectivos de sonicación es una importante contribución en la búsqueda de alternativas no térmicas de preservación de jugos de fruta y a su vez para la industrialización de este producto, brindando al consumidor un jugo con alto contenido de compuestos bioactivos.
- El US puede emplearse con éxito para obtener un jugo con una mejor calidad desde el punto de vista funcional y de inocuidad (estudiado en otras investigaciones) que favorezca la salud del consumidor. Es importante indicar que el US requiere ser acoplado a otras tecnologías de conservación (térmicas, Presión osmótica, entre otras) porque por sí solo no permite obtener jugos estables desde el punto de vista del deterioro microbiológico.

7. RECOMENDACIONES

- Es importante recalcar que esta tecnología necesita ir en combinación con otro tratamiento para lograr asegurar la inocuidad del producto final. Sin embargo, este trabajo no abordó los aspectos de inocuidad del jugo, ya que el enfoque consistió en determinar el efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre los compuestos nutricionales de interés y no sobre su inocuidad. Por lo que, en este aspecto, sería importante realizar trabajos enfocados a la aplicación de US para jugo de piña pulposo a las condiciones evaluadas en esta investigación, pero combinándolas con otro tipo de tratamientos, tales como pulsos eléctricos, alta presión osmótica, calor (termosonicación), presión dinámica (manosonicación), por citar algunos ejemplos, para analizar también aspectos de inocuidad.
- Los resultados obtenidos en esta investigación complementan los de investigaciones previas y apoyan la hipótesis de que las condiciones y tiempos de sonicación utilizados en general presentan efectos significativos, pero los porcentajes de retención en general de los compuestos bioactivos estudiados (exceptuando los carotenoides) son muy buenos (mayores al 90% en su mayoría), por lo que sería recomendable realizar futuras pruebas aplicando estas condiciones en el jugo de piña pulposo, pero combinando tanto aspectos de inocuidad como el análisis de compuestos bioactivos.
- A pesar de que a nivel industrial en Costa Rica la tecnología de US no está muy desarrollada y existen pocas aplicaciones industriales actualmente disponibles, el conocer las ventajas de preservación de componentes nutricionales importantes puede contribuir con el diseño de alternativas de procesamiento en jugos de piña, más aun teniendo claro que nuestro país es el primer exportador de piña en el mundo.
- Para analizar de manera más exacta el comportamiento de los carotenoides o de los polifenoles sería importante realizar una identificación completa de cada compuesto encontrado (perfil) en el jugo de piña pulposo, utilizando para esto

técnicas de HPLC o UPLC acoplado a Espectrometría de Masas (MS), esto permitiría enfocar la investigación hacia compuestos específicos.

- Al igual que en otros experimentos con ultrasonido, podrían utilizarse otras condiciones de frecuencia y amplitud, o con flujos continuos o discontinuos, de esta manera podría evaluarse si se logra producir un aumento significativo de todos los componentes bioactivos o si, al contrario, presentaría un efecto adverso para el jugo de piña pulposo.
- Se recomienda realizar las mediciones de los distintos compuestos bioactivos y de los parámetros de color con una mayor cantidad de repeticiones, para mejorar la calidad de los resultados, ya que se observó una gran variabilidad y en algunos casos, la potencia de la prueba fue muy baja (polifenoles totales, por ejemplo).
- Al ser el color un atributo importante en la aceptación del producto por parte del consumidor, esta evaluación instrumental debería ser complementada con una evaluación sensorial en futuras investigaciones para verificar si los consumidores pueden detectar diferencias en el color a este nivel.
- Se recomienda también una evaluación sensorial del sabor del jugo de piña pulposo contra el jugo sometido al tiempo más prolongado de sonicación, así se puede comprobar si los consumidores encuentran una diferencia entre ambos jugos y, de encontrarla, sería importante evaluar el agrado o preferencia entre ellos.
- Se recomienda evaluar adicionalmente otros métodos de determinación de actividad antioxidante que no sean in vitro, los cuales puedan brindar una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas in vivo, con el fin de identificar un método que genere resultados más confiables y precisos. Un método que se podría utilizar para evaluar la capacidad antioxidante a nivel celular puede ser el que emplea eritrocitos (ERYCA).
- Respecto a los carotenoides, al presentarse pérdidas más significativas y las mismas se ven reflejadas en los parámetros de color que son muy importantes para la aceptación del consumidor, sería importante realizar más investigaciones, con un mayor número de lotes y mantener una mayor atención sobre la materia prima y sus características iniciales como el grado de madurez, además de la zona

geográfica y la época de cosecha, para tener menores afectaciones en los resultados en general obtenidos luego de aplicar la sonicación.

- Un mejor muestreo de la materia prima de ser posible por parte del investigador responsable también puede ser muy importante, tratando elegir primero las características anteriormente descritas deseadas.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AADIL, M. R., ZENG, X., HAN, Z. & SUN, D.** 2013. Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice, *Food Chemistry*, 141: 3201–3206.
- ABID, M., JABBAR, S., WU, T., HASHIM, M.M., HU, B., LEI, S., ZHANG, X. & ZENG, X.** 2013. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20: 1182-1187.
- ABID, M., JABBAR, S., WU, T., HASHIM, M., HU, B., LEI, S. & ZENG, X.** 2014a. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(1): 93-97.
- ABID, M., JABBAR, S., HU, B., HASHIM, M.M., WU, T., LEI, S., KHAN, M. & ZENG, X.** 2014b. Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21: 984-990.
- ABID, M., JABBAR, S., WU, T., HASHIM, M. M., HU, B., SAEEDUDDIN, M., & ZENG, X.** 2014c. Qualitative Assessment of Sonicated Apple Juice during Storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6): 1299-1308.
- ACUÑA, G.** 2006. Revista mensual sobre la actualidad ambiental. Producción de piña en Caribe y Pacífico Sur de Costa Rica. 158: 1409-2140.
- ACUÑA G.** 2009. La actividad piñera en Costa Rica: De la producción a la expansión. Principales características, retos y desafíos. Investigación. San José.
- ADEKUNTE, A.O., TIWARI, B.K., O'DONNELL, C.P., SCANNELL, A.G. & CULLEN, P.J.** 2010. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*, 122: 500-507.
- AKAI, Y., NAKAJIMA, N., ITO, Y., MATSUI, T., IWASAKI, A. & ARAKAWA, Y.** 2007. Green tea polyphenols reduce gastric epithelial cell proliferation and apoptosis stimulated by *Helicobacter pylori* infection. *Journal of Clinical Biochemistry & Nutrition*, 40(2): 108-115.

- ALOTHMAN, M., BHAT, R. & KARIM, A.** 2009. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 512-516.
- ALPÍZAR, S.** 2002. Determinación de vitaminas liposolubles antioxidantes en suero de pacientes con alto riesgo para cáncer gástrico en Costa Rica. Tesis de *Magister Scientiae* en Ciencias Biomédicas. San José, Costa Rica, UCR. p. 1-53.
- ÁLVAREZ, P., ALVARADO, C., MATHIEU, F., JIMÉNEZ, L. & DE LA FUENTE, M.** 2006. Diet Supplementation for 5 Weeks with Polyphenol-Rich Cereals Improves Several Functions and the Redox State of Mouse Leucocytes. *European Journal of Nutrition*, 45(8): 428-438.
- ANANTA, E., VOIGT, D., ZENKER, M., HEINZ, V. & KNORR, D.** 2005. Cellular injuries upon exposure of *Escherichia coli* and *Lactobacillus rhamnosus* to high-intensity ultrasound. *Journal of Applied Microbiology*, 99: 271–278.
- AOAC.** 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland.
- ARÁUZ, G.** 2005. Evaluación de la competitividad del sector piñero de Costa Rica y el impacto del Tratado de Libre Comercio en este sector. Proyecto de Graduación. Lic. Ing. Agr. Guácimo, Limón, CR., EARTH. 111p.
- ARNOLDI, A.** 2002. Thermal processing and nutritional quality. En: Henry, C.J.K. y Chapman, C. (editores). *The nutrition handbook for food processors*. Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra. Capítulo 11.
- ASHOKKUMAR, M., SUNARTIO, D., KENTISH, S., MAWSON, R., SIMONS, L., VILKHU, K. & VERSTEEG, C.** 2008. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. *Innovative Food Science Emerging Technologies*, 9: 155-160.
- BALLESTEROS, E.** 2015. Phenolic compounds. En Nollet, L. & Toldra, F. (eds). *Handbook of Food Analysis*. CRC Press, Estados Unidos. p. 695-716.

- BARREIRA, J., FERREIRA, I., OLIVEIRA, M. & PEREIRA, J.** 2008. Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chemistry*, 107(3): 1106-1113.
- BARBA, F.J., ESTEVE, M.J., & FRÍGOLA, A.** 2012. High pressure treatment effect on physicochemical and nutritional properties of fluid foods during storage: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(3): 307–322.
- BARRECA, D., GATTUSO, G., BELLOCCO, E., CALDERARO, A., TROMBETTA, D., SMERIGLIO, A., NABAVI, S.** 2017. Flavanones: Citrus phytochemical with health-promoting properties. *BioFactors*, 43(4): 495-506.
- BARRECA, D., MANDALARI, G., CALDERARO, A., SMERIGLIO, A., TROMBETTA, D., FELICE, M. & GATTUSO, G.** 2020. Citrus flavones: an update on sources, biological functions, and health promoting properties. *Plants*, 9 (3): 288-311.
- BELITZ, H. & GROSCH, W.** 1997. *Química de Alimentos*. Segunda Edición. España. Editorial Acribia. 282 p.
- BERMÚDEZ-AGUIRRE, D. & BARBOSA-CÁNOVAS, G.** 2012. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* in pineapple, grape and cranberry juices under pulsed and continuous thermo-sonication treatments. *Journal of Food Engineering*, 108: 383-392.
- BERMÚDEZ-SOTO, M.J., TOMÁS-BARBERÁN, F.A. & GARCÍA-CONESA, M.T.** 2007. Stability of polyphenols in chokeberry (*Aronia melanocarpa*) subjected to *in vitro* gastric and pancreatic digestion. *Food Chemistry*, 102: 865-874.
- BESERRA, M., MACHADO, P., CAMPOS, A., PRADO, G., CARVALHO, C., ARRAES, G., GOMES, T.** 2001. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44: 2155-2159.

- BHAT, R., KAMARUDDIN, N., MIN-TZE, L. & KARIM, A.** 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonic Sonochemistry*, 18: 1295-1300.
- BOGUE, J. & TROY, A.** 2016. FUNCTIONAL beverages: market trends and market-oriented new product designs. In Shahidi, F. & Alasalvar, C. (eds). CRC Press, Estados Unidos. p. 3-14.
- BRESCIA, P.** 2012. Determination of antioxidant potencial using an oxygen radical absorbance capacity (ORAC) assay with Synergy H4. Consultado el 23 de mayo del 2021. Disponible en <https://www.biotek.com/resources/application-notes/determination-of-antioxidant-potential-using-an-oxygen-radical-absorbance-capacity-orac-assay-with-synergy-h4/>
- BRITTON, G. & KHACHIK, F.** 2009. Carotenoids in food. In Carotenoids: nutrition and health; Britton, G., Liaaen-Jensen, S., Pfander, H. eds.; Birkhäuser verlag: Basel, Switzerland; Vol. 5., pp 25: 45-66.
- BURDURLU, H. S., KOCA, N. & KARADENIZ, F.** 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering*, 74(2): 211-216.
- BUTZ, P & TAUSCHER, B.** 2002. Emerging Technologies: chemical aspects. *Food Research Internacional*, 35: 279-284.
- CAMINITI, I. M., NOCI, F., MUÑOZ, A., WHYTE, P., MORGAN, D. J. & CRONIN, D. A.** 2011. Impact of selected combinations of non-thermal processing technologies on the quality of an apple and cranberry juice blend. *Food Chemistry*, 124(4): 1387-1392.
- CANAPEP (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña).** 2012. Piña de Costa Rica: estadísticas de exportaciones. Consultado el 02 de junio del 2012. Disponible en www.canapep.com
- CANAPEP (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña).** 2015. Propiedades de la piña. Consultado el 04 de noviembre. Disponible en www.canapep.com

- CANAPEP (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña).** 2016. Estadísticas e historia. Consultado el 03 de Abril. Disponible en www.canapep.com
- CANAPEP (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña).** 2018. Estadísticas e historia. Consultado el 10 de Agosto. Disponible en www.canapep.com
- CANAPEP (Cámara Nacional de Productores y Exportadores de Piña).** 2021. Estadísticas e historia. Consultado el 12 de Mayo. Disponible en www.canapep.com
- CAO, S., HU, Z., PANG, B.** 2010. Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 55: 150-153.
- CARVALHO, D., SABINO, A., BLUMENBERG, D., MARTINS, V., CORREA, L. & OCURRID, S.** 2002. Cashew apple juice stabilization by microfiltration. *Desalination*, 148(6): 1-65.
- CASTELLAR, M., OBÓN, J. & FERNÁNDEZ, J.** 2006. The isolation and properties of a concentrated red-purple betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 86: 122-128.
- CERDÁ, B., PERIAGO, P., ESPÍN, J. & TOMÁS-BARBERÁN, F.A.** 2005. Identification of Urolithin A as a Metabolite Produced by Human Colon Microflora from Ellagic Acid and Related Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14): 5571-5576.
- CHEMAT, F., HUMA, Z., & KAMRAN, M.** 2011. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation, and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18: 813-835.
- CHEN, H. E., PENG, H. Y. & CHEN, B. H.** 1995. Changes in carotenoids colour and vitamin A contents during processing of carrot juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43: 1912-1918.

- CHENG, L., SOH, C., LIEW, S. & TEH, F.** 2007. The Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Food Chemistry*, 104: 1396–1401.
- CHIRINOS, R., CAMPOS, D., WARNIER, M., PEDRESCHI, R., REES, J.-F. & LARONDELLE, Y.** 2008. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological *in vitro* assays. *Food Chemistry*, 111(1): 98-105.
- CHISM, G. & HAARD, N.** 1996. Characteristics of edible plant tissues In *Food Chemistry*, tercera edición, New York, p. 943-1011.
- CHRISTEN, G. & SMITH, J.** 2000. *Food Chemistry: Principles and applications*. Science Technology System. Sacramento, California, p. 454.
- CHOI, L. H. & NIELSEN, S. S.** 2005. The effect of thermal and non-thermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. *Journal of Food Quality*, 28: 13-29.
- CHUTINTRASRI, B. & NOOMHORM, A.** 2006. Thermal inactivation of polyphenoloxidase in pineapple puree. *LWT Food Science and Technology*, 39: 492-495.
- CHUTINTRASRI, B. & NOOMHORM, A.** 2007. Color degradation kinetics of pineapple puree during thermal processing. *LWT Food Science and Technology*, 40: 300-306.
- CILLA, A., GONZÁLEZ-SARRÍAS, A., TOMÁS-BARBERÁN, F.A., ESPÍN, J.C. & BARBERÁ, R.** 2009. Availability of polyphenols in fruit beverages subjected to *in vitro* gastrointestinal digestion and their effects on proliferation, cell-cycle and apoptosis in human colon cancer Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 114: 813-820.
- CISSE, M., VAILLANT, F., ACOSTA, O., DHUIQUE-MAYER, C. & DORNIER, M.** 2009. Thermal degradation kinetics of anthocyanins from blood orange, Blackberry, and roselle using the Arrhenius, Eyring, and Ball Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14): 6285-6291.

- COCITO, C., GAETANO, G. & DELFINI, C.** 1995. Rapid extraction of aroma compounds in must and wine by means of ultrasound. *Food Chemistry*, 52: 311-320.
- CODEX.** 2005. General Standard for Fruit Juices and Nectars.
- CORTÉS, C., ESTEVE, M. J., RODRIGO, D. & FRÍGOLA, A.** 1998. Changes of colour and carotenoids contents during high intensity pulsed electric field treatment in orange juices. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 1932-1939.
- CSERHALMI, Z., SASS-KISS, A., TOTH-MARKUS, M., & LECHNER, N.** 2006. Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7(1-2): 49-54.
- DAI, Q., BORENSTEIN, A. R., WU, Y., JACKSON, J. C. & LARSON, E. B.** 2006. Fruit and Vegetable Juices and Alzheimer's Disease: The *kame* project. *The American Journal of Medicine*, 119(9): 751-759.
- DEMING, M.; BOILEAU, W.M.; HEINTZ, H.; ATKINSON, A. & ERDMAN, J. JR.** 2002. Carotenoids: linking chemistry, absorption, and metabolism to potential roles in human health and disease. In Handbook of antioxidants. 2 ed. New York, USA: Marcel Dekker, Inc.
- DAMODARAN, S.; PARKIN, K. Y FENNEMA, O.** 2008. Food chemistry. Cuarta edición. CRC Press. Boca Raton, Florida. 1144 p.
- DEVAKI, S. & RAVEEDRAN, R.** 2017. Vitamin C: Sources, functions, sensing and analysis. En Hamza, A (ed). Vitamin C. Intech Open, Croacia. p. 3-20.
- DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K. K. & LIU, R. H.** 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10): 3010-3014.
- DHUIQUE-MAYER, C., TBATOU, M., CARAIL, M., CARIS-VEYRAT, C., DORNIER, M. & AMIOT, J.A.** 2007. Thermal degradation of antioxidant micronutrients in citrus juice: kinetics and newly formed compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10): 4209-4216.

- DÍAZ, M., CASTELLAR, M.R. & OBÓN, J.M.** 2013. Juices and non-alcoholic beverages. En de la Guardia, M. & González, A. (ed). Food protected designation of origin: methodologies and applications. Elsevier, Reino Unido. p. 439-455.
- DIAS, D.; BARROS, Z.; DE CARVALHO, C.; HONORATO, F.; GUERRA, N. & AZOUBEL, P.** 2015. Effect of sonication on soursop juice quality. *LWT - Food Science and Technology*. 62: 883-889.
- DILLARD, C. & GERMAN, J.** 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80: 1744-1756.
- DIPLOCK, A., AGGETT, P., ASHWELL, M., BORNET, F., FERN, E. & ROBERFROID, M.** 1999. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. *British Journal of Nutrition*, 81(1): S1-S27.
- DOMÍNGUEZ, J., VELDERRAIN, G., OVANDO, M., QUIRÓS, A., VILLEGAS, M., GONZÁLEZ, G.** 2018. Phenolic compounds in fruits. En Nollet, L. & Gutierrez, J. (eds). Phenolic compounds in food. CRC Press, Estados Unidos. p. 355-368.
- DONALDSON, M.** 2004. Nutrition and cancer: A review of the evidence for an anti-cancer diet. *Nutrition Journal*, 3(19): 1-21.
- DUBICK, M. A. & OMAYE, S. T.** 2007. Grape Wine and Tea Polyphenols in the Modulation of Atherosclerosis and Heart Disease. En: Wildman, R.E.C. (editor). Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. 2 ed. CRC Press. Boca Raton, Florida. Capítulo 5.
- DULL, G. G.** 1971. The pineapple: general. In: The biochemistry of fruits and their products. (ed. A.C. Hulme). Academic Press. London. p. 303-331.
- DUMAS, Y., DADOMO, M., DI LUCCA, G. & GROLIER, P.** 2003. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(5), 369–382.
- EBERHARDT, M., LEE, C. & LIU, R.** 2000. Antioxidant activity of fresh apples. *Nature*, 405: 903-904.

- EITENMILLER, R., YE, L. & LANDEN, W.** 2008. Vitamin analysis for the health and food sciences. CRC Press, Estados Unidos. p. 25-28.
- ELPAÍS.** 2009. Productores de piña preocupados por misión de la Unión Europea. Consultado el 15 de junio del 2010. Disponible en www.elpais.cr.
- ESPÍN, J. C., GONZÁLEZ-BARRIO, R., CERDÁ, B., LÓPEZ-BOTE, C., REY, A. I. & TOMÁS-BARBERÁN, F. A.** 2007. Iberian Pig as a Model to Clarify Obscure Points in the Bioavailability and Metabolism of Ellagitannins in Humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25): 10476-10485.
- ETZBACH, L.; STOLLE, R.; ANHEUSER, K.; HERDEGEN, V.; SCHIEBER, A. & WEBER, F.** 2020. Impact of different pasteurization techniques and subsequent ultrasonication on the in vitro activity of carotenoids in Valencia orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) juice. *Antioxidants*. 9(6): 534-263.
- FAO.** 2002. Statistical Databases. Consultado el 09 de setiembre del 2010. Disponible en www.apps.fao.org.
- FDA.** 2000. Food and Drug Administration Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. CFSAN-FDA (Center for Food Safety and Applied Nutrition).
- FDA.** 2001. Food and Drug Administration Final Rule: HACCP procedures for the safe and sanitary processing of juice. Federal register, 66: 6139.
- FDA.** 2018. Food and Drug Administration Guidance for Industry: juice hazard analysis critical control point hazards and controls guidance. Consultado del 12 de mayo de 2021. Disponible en <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-juice-hazard-analysis-critical-control-point-hazards-and-controls-guidance-first#ii>.
- FELLOWS, P.** 2000. Food Processing Technology: Principles and Practice, 2nd Ed., CRC Press, New York.

- FERIL, L. B. & KONDO, T.** 2004. Biological effects of low intensity ultrasound: The mechanism involved and its implications on therapy and on biosafety of ultrasound. *Journal of Radiation Research*, 45: 479-489.
- FIGURA, O. & TEIXEIRA, A.** 2007. Food Physics: Physical Properties, Measurement and Applications. Heidelberg, Springer-Verlag, Berlin, New York.
- FOX, M. & WHITESELL, J.** 2000. *Química Orgánica*; 2da ed., Addison Wesley Longman: México, p. 207 y 403.
- FRATIANNI, A., CINQUANTA, L. & PANFILI, G.** 2010. Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 867-871.
- GALLO, M., FERRARA, L., & NAVIGLIO, D.** 2018. Review Application of Ultrasound in Food Science and Technology: A Perspective. *Foods*, 7: 164.
- GANCEL, A. L., FENEUIL, A., ACOSTA, O., PÉREZ, A. M. & VAILLANT, F.** 2010. Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus*). *Food Research International*, 44: 2243-2251.
- GALANAKIS, C. M.** 2012. Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2): 68-87.
- GARDNER, P., WHITE, T., MCPHAIL, D. & DUTHIE, G.** 2000. The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68: 471-474.
- GEORGÉ, S., BRAT, P., ALTER, P. & AMIOT, J.** 2005. Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5): 1370-1373.
- GODOY, H. T. & RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.** 1991. Fate of carotenoids of papaya (*Carica papaya*) during processing and storage. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 11(2): 21-220.

- GÓMEZ, V.; BUITRAGO, M.; TAPIA, M. & MARTÍNEZ, A.** 2018. Effect of ultrasonication on sensory and chemical stability of passion fruit juice during refrigerated storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 30(1): 85-89.
- GOMEZ-LOPEZ, V., ORSOLANI, L., MARTINEZ-YEPEZ, A., TAPIA, M.** 2010. Microbiological and sensory quality of sonicated calcium-added orange juice. *LWT Food Science and Technology*, 43: 808-813.
- GONÇALVES, B., LANDBO, A., KNUDSEN, D., SILVA, A., MOUTINHO-PEREIRA, J., ROSA, E. & MEYER, A.** 2004. Effect of ripeness and postharvest storage on the phenolic profiles of cherries (*Prunus avium L.*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 523-530.
- GONÇALVES, D., SOUZA, P., BALDWIN, E. & BORGES, T.** 2018. Health benefits of orange juice and citrus flavonoids. En Xingqian, Y. (ed). *Phytochemicals in citrus: applications in functional foods*. Estados Unidos, Taylor and Francis. p. 299-319.
- GONNET, J.** 1998. Colour effects of copigmentation of anthocyanins revisited – I.A colourmetric definition using the CIELAB scale. *Food Chemistry*, 63, 409-441.
- GONZALEZ, A., VÁSQUEZ, M., ESPADA, E. JIMENEZ, A., FERREIRO, M., AMORES, A., PALMA, M., BARROSO, C., BARBERO, G.** 2018. Development of new analytical microwave assisted extraction methods of bioactive compounds from myrtle. En Gentili, A. & Fanali, C. (eds). *Advances in food analysis*. Topical Collection, Suiza. p. 337-352.
- GOULD, G. W.** 2001. New processing technologies: an overview. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60: 463-474.
- GROSS, J.** 1987. *Pigments in Fruits*, Academic Press Inc. London, U.K. pp. 15-17.
- GUERRERO, S., LÓPEZ-MALO, A., & ALZAMORA, S.M.** 2001. Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2: 31-39.

- GUERRERO, S., TOGNON, M. & ALZAMORA, S. M.** 2005. Response of *Saccharomyces cerevisiae* to the combined action of ultrasound and low weight chitosan. *Food Control*, 16: 131-139.
- HAGER, T. J., HOWARD, L. R. & PRIOR, R. L.** 2010. Processing and storage effects on the ellagitannin composition of processed blackberry products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 11749-11754.
- HARTMANN, A., PATZ, C.-D., ANDLAUER, W., DIETRICH, H. & LUDWIG, M.** 2008. Influence of processing on quality parameters of strawberries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(20): 9484-9489.
- HASSIMOTTO, N. M. A., GENOVESE, M. I., & LAJOLO, F. M.** 2005. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8): 2928-2935.
- HENDRICH, S. & MURPHY, P. A.** 2007. Isoflavones: Source and Metabolism. En: Wildman, R.E.C. (editor). *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*. 2 ed. CRC Press. Boca Raton, Florida. Capítulo 2.
- HERNANDEZ, Y., LOBO, M. G. & GONZÁLEZ, M.** 2006. Determination of vitamin C in tropical fruits: a comparative evaluation of methods. *Food Chemistry*, 96:654-664.
- HERRERA, C., LUTZ, G. & ACUÑA, J.** 2015. *Vitaminas y minerales: un enfoque nutricional y tecnológico*. Editorial UCR, San José, Costa Rica.
- HODGSON, A. S. & HODGSON, L. R.** 1993. Pineapple juice, in *Fruit Juice Processing Technology*, Nagy, S., Chen, C.S., and Shaw, P.E., (Eds). Agrosience, Inc., Auburndale, FL, p. 334-371
- HONZEL, D., CARTER, S., REDMAN, K., SCHAUSS, A., ENDRES, J. & JENSEN, G.** 2008. Comparison of Chemical and Cell-Based Antioxidant Methods for Evaluation of Foods and Natural Products: Generating Multifaceted Data by Parallel Testing Using Erythrocytes and Polymorphonuclear Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18): 8319-8325.

- HUANG, D., OU, B. & PRIOR, R.** 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1841-1856.
- HUANG, D., OU, B., HAMPSCH-WOODILL, M., FLANAGAN, J. & PRIOR, R.** 2002. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(16): 4437-4444.
- HUI, Y.** 2006. Products Manufacturing. Handbook of Fruits and Fruit Processing. Blackwell Publishing. Iowa, USA. Capítulo II. P. 688.
- IGUAL, M., GARCÍA-MARTÍNEZ, E., CAMACHO, M. M. & MARTÍNEZ-NAVARRETE, N.** 2010. Effect of thermal treatment and storage on the stability of organic acids and the functional value of grapefruit juice, *Food Chemistry*, 118: 291-299.
- INCAE.** 1989. Export Management Program. Costa Rica's Non-Traditional Agricultural Exports: Análisis and Recommendations. Submitted to Consejo Agropecuario Agroindustrial Privado. Alajuela.
- IOANNOU I., HAFSA I., HAMDI S., CHARBONNEL C. & GHOUL M.** 2012. Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behavior, *Journal of Food Engineering*, 111: 208-217.
- ISLAM. N., ZHANG. M. & ADHIKARI. B.** 2104. The Inactivation of Enzymes by Ultrasound-A Review of Potential Mechanisms. *Food Reviews International*, 30: 1-21.
- IVANOVIC, J., TADIC, V., DIMITRIJEVIC, S., STAMENIC, M., PETROVIC, S. & ZIZOVIC, I.** 2014. Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Čačanska Bestrna". *Industrial Crops and Products*, 53: 274-281.
- JABBAR, S., ABID, M., HU, B., MUHAMMAD HASHIM, M., SAEEDUDDIN, M., LEI, S., WU, T. & ZENG, X.** 2014. Influence of sonication and high hydrostatic

pressure on the quality of carrot juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(11), 2449-2457.

JALILI, T., MEDEIROS, D.M. & WILDMAN, R.E.C. 2007. Dietary Fiber and Coronary Heart Disease. En: Wildman, R.E.C. (ed). *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*. 2 ed. CRC Press. Boca Raton, Florida. Capítulo 6.

JAYAPRAKASHA, G., VIKRAM, A. & PATIL, B. 2012. Analysis methods of flavones. En Xu, Z. & Howard, L. (eds). *Analysis of antioxidant-rich phytochemicals*. p. 275-312.

JENSEN, G.S., WU, X., PATTERSON, K.M., BARNES, J., CARTER, S.G., SCHERWITZ, L., BEAMAN, R., ENDRES, J.R. & SCHAUSS, A. 2008. In Vitro and in Vivo Antioxidant and Anti-inflammatory Capacities of an Antioxidant-Rich Fruit and Berry Juice Blend. Results of a Pilot and Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled, Crossover Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18): 8326-8333.

JEFFERY, E. 2005. Component Interactions for Efficacy of Functional Foods. *The Journal of Nutrition*, 135: 1223-1225.

JOSEPH, J. A., SHUKITT-HALE, B. & CASADESUS, G. 2005. Reversing the Deleterious Effects of Aging on Neuronal Communication and Behavior: Beneficial Properties of Fruit Polyphenolic Compounds. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1): 313S-316S.

KALT, W., FORNEY, F., MARTIN, A. & PRIOR, R. 1999. Antioxidant Capacity, Vitamin C, Phenolics, and Anthocyanins after Fresh Storage of Small Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4638-4644.

KALT, W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of Food Science*, 70(1): R11-R19.

KAMMERER, D., KRAMER, M. & CARLE, R. 2013. Phenolic compounds. En Nollet, L. & Toldra, F. (ed). *Food analysis by HPLC*. CRC Press, Estados Unidos. p. 717-756.

- KARADENIZ, F., DURST, R. & WROLSTAD, R.** 2000. Polyphenolic Composition of Raisins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11): 5343-5350.
- KAUR, C. & KAPOOR, C.** 2001. Review: Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 703-725.
- KEENAN, D. F., TIWARI, B. K., PATRAS, A., GORMLEY, R., BUTLER, F. & BRUNTON, N. P.** 2012. Effect of sonication on the bioactive, quality and rheological characteristics of fruit smoothies. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(4): 827-836.
- KEYSER, M., MÜLLER, I., CILLIERS, F., NEL, W. & GOUWS, P.** 2008. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 348-354.
- KHOO, C. & FALK, M.** 2014. Cranberry polyphenols: effects on cardiovascular risk factors. En Ross, R., Preedy, V. & Zibadi, S. (eds). *Polyphenols in human health and disease*. Elsevier, Estados Unidos. p. 1049-1061.
- KIDMOSE, U; YANG, R; THILSTED, S; CHRISTENSEN, L & BRANDT, K.** 2006. Content of carotenoids in commonly consumed Asian vegetables and stability and extractability during frying. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 562-571.
- KIM, D. & LEE, C.** 2004. Comprehensive Study on Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Various Polyphenolics in Scavenging a Free Radical and its Structural Relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(4): 253-273.
- KNORR, D., ZENKER, M., HEINZ, V., & LEE, D.** 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15: 261-266.

- KNORR, D., FROEHLING, A., JAEGER, H., REINEKE, K., SCHLUETER, O. & SCHOESSLER, K.** 2011. Emerging Technologies in Food Processing. *Annual Review Food Science Technology*, 2:203-235.
- KOCHHAR, S.P. & ROSSELL, J.B.** 2012. Detection, estimation and evaluation of antioxidants in food systems. En Hudson, B (ed). Food antioxidants. Elsevier, Estados Unidos. p. 19-64.
- KONDRATYUK T. & PEZZUTO J.** 2004. Natural product polyphenols of relevance to human health, *Pharmaceutical Biology*, 42: 46-63.
- KORN, M., PRIM, P. M. & DESOUSA, C. S.** 2002. Influence of ultrasonic waves on phosphate determination by the molybdenum blue method. *Microchemical Journal*, 73 (3): 273-277.
- KULAK, M. & CETINKAYA, H.** 2018. A systematic review: polyphenol contents in stressed olive tree and its fruit oil. En Wong, J. (ed). Polyphenols. IntechOpen, Croacia. p. 3-22.
- KULDILOKE, J.** 2002. Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices. Food Technology Department. Technical University of Berlin.
- KUSKOSKI, E., ASUERO, A., TRONCOSO, A., MANCINI-FILHO, J. & FETT, R.** 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 25 (4): 726-732.
- LEE, J., DURST, R. W. & WROLSTAD, R. E.** 2002. Impact of Juice Processing on Blueberry Anthocyanins and Polyphenolics: Comparison of Two Pretreatments. *Journal of Food Science*, 67(5): 1660-1667.
- LEE, J., KOO, N. & MIN, D.** 2004. Reactive Oxygen Species, Aging and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 21-33.

- LEWANDOWSKI, A.** 1981. Issues in model validation. *Angewandte System analyses*, 3 (1): 2-11.
- LIU, R. & FINLEY, J.** 2005. Potential Cell Culture Models for Antioxidant Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 4311-4314.
- LIU, Y. & KITTS, D.D.** 2011. Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. *Food Research International*. 44(8): 2418-2424.
- LÓPEZ, F., COELLO, R. & ROMERO, M.** sf. Estudio de prefactibilidad para la producción de piña para la exportación en la Península de Santa Elena, Ecuador. Consultado el 27 de octubre del 2010. Disponible en www.sica.gov.ec.
- LYKKESFELDT, J.** 2000. Determination of ascorbic acid and dehydroascorbic acid in biological samples by high-performance liquid chromatography using subtraction methods: reliable reduction with tris [2-carboxyethyl] phosphine hydrochloride. *Analytical Biochemistry*, 282: 89-93.
- MACHEIX, J., FLEURIET, A. & BILLOT, J.** 2018. Fruit phenolics .(ed). CRC Press. Estados Unidos. p. 4-12.
- MAGALHÃES, A.S., SILVA, B.M., PEREIRA, J.A., ANDRADE, P.B., VALENTÃO, P. & CARVALHO, M.** 2009. Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1372-1377.
- MAIANI, G., PERIAGO-CASTÓN, M., CATASTA, G., TOTI, E., GOÑI-CAMBRODÓN, I. & BYSTED, A.** 2009. Carotenoids: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition Food Research*, 53: 194-218.
- MANVELL, C.** 1997. Minimal processing of food. *Food Science and Technology Today*, 11: 107-111.

- MARFIL, P. H. M., SANTOS, E. M. & TELIS, V. R. N.** 2008. Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 41(9): 1642-1647.
- MASON, T. J.** 1991. Practical sonochemistry user's guide to application in chemistry and chemical engineering. New York: Ellis Horwood.
- MATHIAS-RETTIG. & AH-HEN.** 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42(2): 39-48.
- MAZZA, G.** 2000. Alimentos Funcionales: Aspectos bioquímicos y de procesado. Acribia. Zaragoza.
- MEIC (Ministerio de Economía, Industria y Comercio).** 2005. Norma RTCR 390:2005 Reglamento Técnico de Jugos y Néctares de Frutas. Decreto no. 32916, La Gaceta, 10 de marzo.
- MELÉNDEZ, A., VICARIO, I. & HEREDIA, F.** 2004a. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 54 (2): 149-154.
- MELÉNDEZ, A., VICARIO, I. & HEREDIA, F.** 2004b. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 54 (2): 209-215.
- MELÉNDEZ, A., VICARIO, I. & HEREDIA, F.** 2007. Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y físicoquímicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, (2):109-117.
- MERTENS, B., & KNORR, D.** 1992. Developments of non thermal processes for food preservation. *Food Technology*, 46(5): 124-133.
- MILLER, N. & RICE-EVANS, C.** 1997. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and black-currant drink. *Food Chemistry*, 60: 331-337.
- MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. & CALHAU, C.** 2006. Modulation of Aromatase Activity by Diet Polyphenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(10): 3535-3540.

- MORENO, J., GORRITI, M., FLORES, M. & ALBARRACÍN, V.** 2012. Microbiología ambiental y ecología microbiana en el estudio de microorganismos en ambientes extremos. *Reduca (Biología). Serie Microbiología*, 5 (5): 94-109.
- MOYER R., HUMMER K., FINN C., FREI B. & WROLSTAD R.** 2002. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(3): 519-525.
- MOZARINA, M., MACHADO, P., CAMPOS, A., MATIAS, G., CARVALHO, C., ARRAES, G. & GOMES, T.** 2011. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44: 2155-2159.
- NAMITHA, K.K. & NEGI, P.S.** 2010. Chemistry and biotechnology of carotenoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(8):728-760.
- NAYAK B., LIU R. & TANG J.** 2015. Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains-A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55: 887-918.
- NELSON, D. & COX, M.** 2004. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 4 ed. W.H. Freeman. Bedford, Nueva York. 1119 p.
- NICHENAMETLA, S. N., TARUSCIO, T. G., BARNEY, D. L. & EXON, J. H.** 2006. A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2): 161-183.
- NICOLI, M.C.; ANESE, M. & PARPINEL, M.** 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*. 10: 94-100.
- NOCI, F., RIENER, J., WALKLING-RIBEIRO, M., CRONIN, D.A., MORGAN, D.J. & LYNG, J.G.** 2008. Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. *Journal of Food Engineering*, 85: 141-146.

- NOGUER, M., CEREZO, A., RENTZSCH, M., WINTERHALTER, P., TRONCOSO, A. & GARCÍA-PARRILLA, M.** 2008. Simulated Digestion and Antioxidant Activity of RedWine Fractions Separated by High Speed Counter current Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 8879-8884.
- NPCS** (NIIR Project Consultancy Services). 2012. Handbook on agro-based industries. NPCS, India.
- ODRIOZOLA-SERRANO, I., SOLIVA-FORTUNY, R., GIMENO-AÑÓ, V. & MARTÍN-BELLOSO, O.** 2008. Kinetic study of anthocyanins, vitamin C, and antioxidant capacity in strawberry juices treated by high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 8387-8393.
- ORDOÑEZ, L., HURTADO, P., RÍOS, O. & ARIAS, M.** 2014. Concentración de carotenoides totales en residuos de frutas tropicales. *Producción + Limpia*, 9 (1): 91-98.
- OU, B., HAMPSCH-WOODILL, M. & PRIOR, M.** 2001. Development and Validation of an Improved Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay Using Fluorescein as the Fluorescent Probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4619-4626.
- PATIST, A. & BATES, D.** 2008. Ultrasonics innovation in the food industry: from the laboratory to comercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 147-154.
- PATRAS, A., BRUNTON, N., DA PIEVE, S., BUTLER, F. & DOWNEY, G.** 2009. Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10: 16-22.
- PAULL, R. E.** 1993. Pineapple and papaya. In: Biochemistry of fruit ripening. G. Seymour. Taylor and G. Tucker. (eds). Chapman and Hall. London. p. 291-323.

- PÉTRIER, C., COMBET, E. & MASON, T. J.** 2007. Oxygen-induced concurrent ultrasonic degradation of volatile and non-volatile aromatic compounds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14: 117-121.
- PHILIP, T. & CHEN, T.S.** 1988. Quantitative analyses of major carotenoid fatty acid esters in fruits by liquid chromatography: Persimmon and papaya. *Journal of Food Science*, 53(6): 1720-1722.
- PIYASENA, P., MOHAREB, E. & Mc KELLAR, R.** 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87: 207-216.
- PINGRET, D., FABIANO-TIXIER, A. S. & CHEMAT, F.** 2013. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*, 31(2): 593-606.
- PORTENLÄNGER, G. & HEUSINGER, H.** 1992. Chemical reactions induced by ultrasound and gamma-rays in aqueous solutions of L-ascorbic acid. *Carbohydrate Res*, 232 (2): 291-301.
- PRIOR, R., CAO, G., MARTIN, A., SOFIC, E. & MCEWAN, J.** 1998. Antioxidant Capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of Vaccinium species. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 2686-2693.
- PRIOR, R. & CAO, G.** 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *Horticulture Science*, 35: 588-592.
- PRIOR R., WU X. & SCHAICH, K.** 2005. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(10): 4290-4302.
- PROCOMER (PROMOTORA DE COMERCIO EXTERIOR).** 2014. Estadísticas de comercio exterior de Costa Rica. Consultado 11 de noviembre de 2015. Disponible en www.procomer.com

- PROCOMER (PROMOTORA DE COMERCIO EXTERIOR).** 2015. Estadísticas de comercio exterior de Costa Rica. Consultado 11 de noviembre de 2015. Disponible en www.procomer.com
- PROCOMER (PROMOTORA DE COMERCIO EXTERIOR).** 2021. Anuario estadístico-2019. Consultado 30 de Mayo de 2021. Disponible en www.procomer.com
- PUUPPONEN, R., HAKKINEN, S., AARNI, M., SUORTTI, T., LAMPI, A., EUROLA, M., PIIRONEN, V., NUUTILA, A. & OKSMAN, K.** 2003. Blanching and long term freezing affect various bioactive compounds of vegetables in different ways. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83: 1389-1402.
- QUIÑONES, M., MIGUEL, M. & ALEIXANDRE, A.** 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27 (1):76-89.
- QUIJANDRÍA, G., BERROCAL, J. & PRATT., L.** 1997. La Industria de la Piña en Costa Rica Análisis de Sostenibilidad. INCAE. pp. 24.
- RAMASWAMY, H. & MARCOTTE, M.** 2006. Food processing: Principles and applications. Taylor & Francis Group. Boca Ratón, Florida. Capítulo 3.
- RANA, A.; MENA & SHWETA.** 2017. Ultrasonic processing and its use in food industry: A review. *International Journal of Chemical Studies*, 5(6): 1961-1968.
- RATTANATHANALERK, M., CHIEWCHAN, N., & SRICHUMPOUNG, W.** 2005. Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. *Journal of Food Engineering*, 66(2): 259–265.
- RAVIYAN, P., ZHANG, Z. & FENG, H.** 2005. Ultrasonication for tomato pectinmethylesterase inactivation: effect of cavitation intensity and temperature on inactivation. *Journal of Food Engineering*, 70: 189-196.
- RAWSON, A., TIWARI, B.K., PATRAS, A., BRUNTON, N., BRENNAN, C. CULLEN, P.J. & O'DONNELL. C.** 2011. Effect of thermosonication on

- bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International*, 44: 1168-1173.
- RIESZ, P. & KONDO, T.** 1992. Free radical formation induced by ultrasound and its biological implications. *Free Radical Biology and Medicine*, 13: 247-270.
- RODRÍGUEZ-AMAYA, D.** 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. Universidade Estadual de Campinas, Brasil.
- RODRÍGUEZ-AMAYA, D. & KIMURA, M.** 2004. HarvestPlus handbook for carotenoid analysis. Washington DC y Cali, HarvestPlus.
- RODRÍGUEZ, D.** 1999. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 49 (3, supl.1): 38S-47S.
- RODRIGUES, S. & NARCISO, F. A.** 2012. Advances in Fruit Processing Technologies. Portland, USA. Book News. 454 p.
- ROY, M. K., KOIDE, M., RAO, T. P., OKUBO, T., OGASAWARA, Y., & JUNEJA, L. R.** 2010. ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: Relationship between total polyphenol and individual catechin content. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 61(2): 109-124.
- ROSS, J.A. & KASUM, C.M.** 2002. Dietary Flavonoids: Bioavailability, Metabolic Effects, and Safety. *Annual Review of Nutrition*, 22: 19-34.
- ROSSI, M.; GIUSSANI, E.; MORELLI, R.; LO SCALZO, R.; NANI, R.C. & TORREGGIANI, D.** 2003. Effect of fruit blanching on phenolics and radical scavenging activity of highbush blueberry juice. *Food Research International*, 36: 999-1005.
- RUSSELL, L.** 2004. Water soluble vitamins. En Nollet, L. (ed). Handbook of food analysis: physical characterization and nutrient analysis. Marcel Dekker, Estados Unidos. p. 487-572.
- RUSSELL, L.** 2013. Water soluble vitamins. En Nollet, L. & Toldra, F. Food analysis by HPLC. CRC Press, Estados Unidos. p. 325-442.

- SÁENZ, G.** 1999. Aportación al estudio del efecto de diferentes antioxidantes y del acondicionamiento primario sobre la estabilidad de formulaciones magistrales dermatológicas de ácido retinoico asociado con hidroquinona; Universidad de Costa Rica, pp. 9-11.
- SADILOVA, E., CARLE, R., & STINTZING, F. C.** 2007. Thermal degradation of anthocyanins and its impact on color and in vitro antioxidant capacity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51: 1461-1471.
- SALAH, M., IBRAHIM, M., FARAHAT, F., HESHAM, A., ABDELMONIEM, G. & WAFAA, A.** 2013. Effects of thermosonication on apple and guava juices quality. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(8): 5323-5336.
- SALLEH, S & ROBERTS, J.** 2007. Ultrasound pasteurization: the effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14: 323-329.
- SANTANA, J. & JACOBO, D.** 2018 Classification of phenolic compounds. En Nollet, L. & Gutierrez, J. (ed). Phenolic compounds in food: characterization and analysis. CRC Press, Estados Unidos. p. 3-20.
- SANTHIRASEGARAM, V., RAZALI, Z. & SOMASUNDRAM, C.** 2013. Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica L.*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5): 1276–1282.
- SCALBERT, A., JOHNSON, I.T. & SALTMARSH, M.** 2005a. Polyphenols: Antioxidants and Beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 85(1): 215S-217S.
- SCALBERT, A., MANACH, C., MORAND, C., RÉMÉSY, C. & JIMÉNEZ, L.** 2005b. Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4): 287-306.
- SCHAICH, K.M., TIAN, X. & XIE, J.** 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14: 111-125.

- SEPSA.** 1995. Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria. Perfil de la Actividad Piñera (Ananas comosus L.) en Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José.
- SESHADRI, R., WEISS, J., HULBERT, G. & MOUNT, J.** 2003. Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions. *Food Hydrocolloid*, 17: 191-197.
- SHAHIDI, F.,** 1997. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications. AOCS Press, USA, pp. 1-3.
- SHAHIDI, F.** 2004. Functional Foods: Their Role in Health Promotion and Disease Prevention. *Journal of Food Science*, 69(5): 146-149.
- SIES, H. & STAHL, W.** 2004. Nutritional protection against skin damage from sunlight. *Annual Review of Nutrition*, 24: 173-200.
- SIIM (Servicio de información e inteligencia de mercados).** 2010. Análisis del mercado de piña. San José, CR. Visitado el 23 de febrero del 2013. Disponible en www.cep.unep.org.
- SILVA, C., HERDEIRO, R., MATHIAS, C., PANEK, A., SILVEIRA, C., RODRIGUEZ, V., RENNO, M., FALCAO, D., CERQUEIRA, D., MINTO, A., NOGUEIRA, F., QUARESMA, C., SILVA, J., MENEZES, F. & ELEUTHERIO, E.** 2005. Evaluation of antioxidant activity of brazilian plants. *Pharmacological Research*, 52: 229-233.
- SILVA, L.; FIGUEIREDO, E.; RICARDO, N.; VIEIRA, I.; FIGUEIREDO, R.; BRASIL, I. & GOMES, C.** 2014. Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143: 398-404.
- SINGH, M., ARSENEAULT, M., SANDERSON, T., MURTHY, V., RAMASSAMY, C.** 2008. Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13): 4855-4873.

- SLIWKA, H. R. & PARTALI, V.** 2012. Superlative carotenoids. *Acta Biochimica Polonica*, 59(1): 17-20.
- SOUZA, J. N., SILVA, E. M., LOIR, A., REES, J. F., ROGEZ, H. & LARONDELLE, Y.** 2008. Antioxidant capacity of four polyphenol-rich Amazonian plant extracts: A correlation study using chemical and biological in vitro assays. *Food Chemistry*, 106 (1): 331-339.
- SPENCE, C.; LEVITAN, C.; SHANKAR, M. & ZAMPINI, M.** 2010. Does food color influence taste and flavor perception in humans?. *Chemosensory Perception*, 3(1): 68-84.
- SUN, J., CHU, Y., WU, X. & LIU, R. H.** 2012. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (25): 7449-7454.
- SUSLICK, K. S., HAMMERTON, D. A. & CLINE, R. E.** 1986. The sonochemical hot spot. *Journal of American Chemical Society*, 108: 5641-5642.
- SUSLICK, K. S., EDDINGSAAS, N. C., FLANNIGAN, D. J., HOPKINS, S. D. & XU, H.** 2011. Extreme conditions during multibubble cavitation: sonoluminescence as a spectroscopic probe. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4): 842-846.
- TARKO, T., DUDA-CHODAK, A., SROKA, P., SATORA, P. & MICHALIK, J.** 2009. Transformations of Phenolic Compounds in an *in vitro* Model Simulating the Human Alimentary Tract. *Food Technology and Biotechnology*, 47(4): 456-463.
- TAUSSIG, S. & BATKIN, S.** 1988. Bromelain, the enzyme complex of pineapple (*Ananas comosus*) and its clinical application. An update. *Journal of Ethnopharmacology*, 22: 191-203.
- TAYLOR, B.** 2016. Fruit and juice processing. En Ashurst, p. (ed). Chemistry and technology of soft drinks and fruit juices. Wiley Blackwell, Reino Unido. p. 31-64.
- THAIPONG, K., BOONPRAKOB, U., CROSBY, K., CISNEROS-ZEVALLOS, L. & BYRNE, D.** 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for

estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 669-675.

TIKEKAR, R. V., ANANTHESWARAN, R. C., ELIAS, R. J. & LABORDE, L. F.

2011. Ultraviolet-Induced Oxidation of Ascorbic Acid in a Model Juice System: Identification of Degradation Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(15): 8244-8248.

TIWARI, B. K., MUTHUKUMARAPPAN, K., O'DONNELL, C. P., & CULLEN,

P. J. 2008a. Color degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *LWT Food Science and Technology*, 41: 1876-1883.

TIWARI, B. K., MUTHUKUMARAPPAN, K., O'DONNELL, C. P., & CULLEN,

P. J. 2008b. Effects of sonication on the kinetics of orange juice quality parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 2423-2428.

TIWARI, B.K., O'DONNELL, C.P., PATRAS, A. & CULLEN, P.J. 2008c.

Anthocyanin and Ascorbic Acid Degradation in Sonicated Strawberry Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56: 10071-10077.

TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., & CULLEN, P. J. 2009a. Effect of sonication

on retention of anthocyanins in blackberry juice. *Journal of Food Engineering*, 93(2): 166-171.

TIWARI, B.K., O'DONNELL, C.P. & CULLEN, P.J. 2009b. Review: Effect of non

thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. *Trends in Food Science & Technology*, 20: 137-145.

TIWARI, B.K., O'DONNELL, C.P., MUTHUKUMARAPPAN, K & CULLEN, P.J.

2009c. Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurized juice. *LWT Food Science and Technology*, 42: 700-704.

TIWARI, B.K., O'DONNELL, C.P., MUTHUKUMARAPPAN, K & CULLEN, P.J.

2009d. Effect of low temperature sonication on orange juice quality parameters using response surface methodology. *Food Bioprocess Technology*, 2: 109-114.

- TIWARI, B. K., O'DONNELL, C. P., PATRAS, A., BRUNTON, N. & CULLEN, P.J.** 2009e. Stability of anthocyanins and ascorbic acid in sonicated strawberry juice during storage. *European Food Research and Technology*, 228(5): 717-724.
- TIWARI, B.K., PATRAS, A., BRUNTON, N., CULLEN, P.J. & O'DONNELL, C.P.** 2010. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17 (3): 598-604.
- TORREGROSA, F., ESTEVE, M. J., FRÍGOLA, A. & CORTÉS, C.** 2006. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange–carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. *Journal of Food Engineering*, 73(4): 339-345.
- TORRES, R., MONTES, E., PÉREZ, O. & ANDRADE, R.** 2013. Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Físicoquímicas de Frutas Tropicales. *Información Tecnológica*, 24(3): 51-56.
- TRAN, M. T. T., & FARID, M.** 2004. Ultraviolet treatment of orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5: 495-502.
- TZULKER, R., GLAZER, I., BAR-ILAN, I., HOLLAND, D., AVIRAM, M. & AMIR, R.** 2007. Antioxidant Activity, Polyphenol Content, and Related Compounds in Different Fruit Juices and Homogenates Prepared from 29 Different Pomegranate Accessions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(23): 9559-9570.
- UKUKU, D & GEVEKE, D.** 2010. A combined treatment of UV-light and radio frequency electric field for the inactivation of *Escherichia coli* K-12 in apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 138: 50-55.
- URQUIAGA, I., URZÚA, U. & LEIGHTON, F.** 1999. Antioxidantes Naturales. Impacto en la Salud. In Congreso Latinoamericano de Grasas y Aceites. 8°. Chile.
- USDA.** 2000. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing Technologies: Ultrasound. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Visitado el 25 de octubre del 2010. www.ers.usda.gov.

- UGARTE, E., FENG, H.; MARTIN, S., CADWALLADER, K. & ROBINSON, S.** 2006. Inactivation of *Escherichia coli* with power ultrasound in apple cider. *Journal of Food Science*, 71: 102-108.
- ULUSOY, B., COLAK, H. & HAMPIKYAN, H.** 2007. The use of ultrasonic waves in food technology. *Research Journal of Biological Sciences*, 2: 491-497.
- VAILLANT, F., MILLAN, P., DORNIER, M., DECLOUX, M. & REYNES, M.** 2000. Co-immobilized pectinlyase and endocellulase on chitin and Nylon supports. *Process Biochemistry*, 35: 989-996.
- VAILLANT, F., PEREZ, A. & VIQUEZ, F.** 2004. Microfiltración tangencial: una alternativa innovadora para la transformación de frutas tropicales. *La Alimentación Latinoamericana*, 252: 38-46.
- VALDRAMIDIS, V. P., CULLEN, P. J., TIWARI B. K. & O'DONNELL, C. P.** 2010. Quantitative modeling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during Ultrasound processing. *Journal of Food Engineering*, 96: 449-454.
- VALERO, M., RECROSIO, N., SAURA, D., MUNOZ, N., MARTIC, N. & LIZAMA, V.** 2007. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*, 80: 509-516.
- VALVERDE, J., OROZCO, M., CASTRO, J., LEZAMA, C., ACUÑA, G., ROJAS, J. & RODRÍGUEZ, A.** 2006. Cultivo piñero. Conclusiones a partir de Acuña, Rojas y Rodríguez. *Ambientico. Revista mensual sobre la actualidad ambiental*, 158: 1409-2140.
- VELÁZQUEZ, R., CHÁVEZ, J., HERNÁNDEZ, J. & ROIG, A.** 2016. Orange Juice. In Shahidi, F. & Alasalvar, C. (eds). *Handbook of Functional Beverages and Human Health*. CRC Press, Florida. p. 423-438.
- VERCET, A., BURGOS, J. & LÓPEZ-BUESA, P.** 2001. Manothermosonication of Foods and Food-Resembling Systems: Effect on Nutrient Content and Nonenzymatic Browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 483-489.

- VERCET, A., SÁNCHEZ, C., BURGOS, J., MONTAÑÉS, L., & LÓPEZ-BUESA, P.** 2002. The effects of manothermosonication on tomato pectic enzymes and tomato paste rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 53: 273-278.
- VICENTE, A., MANGANARIS, G., CISNEROS, L. & CRISOSTO, C.** 2011. Prunus. En Terry, L. (ed). Health promoting properties of fruits and vegetables. CAB, Estados Unidos. p. 238-259.
- VIDAVALUR, R.; OTANI, H.; SINGAL, P. K. & MAULIK, N.** 2006. Significance of Wine and Resveratrol in Cardiovascular Disease: French Paradox Revisited. *Experimental Clinical Cardiology*, 11(3): 217-225.
- WANG, S. Y. & LIN, H. S.** 2000. Antioxidant Activity in Fruits and Leaves of Blackberry, Raspberry, and Strawberry Varies with Cultivar and Developmental Stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2): 140-146.
- WANG, W. & XU, S.** 2007. Degradation kinetics of anthocyanins in blackberry juice and concentrate. *Journal of Food Engineering*. 82: 271-275.
- WARGOVICH, M.** 2000. Anticancer properties of fruits and vegetables. *Horticulture Science*, 35: 573-575.
- WATERHOUSE, A. L.** 2005. Consumer Labels Can Convey Polyphenolic Content: Implications for Public Health. *Clinical & Developmental Immunology*, 12(1): 43-46.
- WILSON, M. A., SHUKITT-HALE, B., KALT, W., INGRAM, D. K., JOSEPH, J. A. & WOLKOW, C. A.** 2006. Blueberry Polyphenols Increase Lifespan and Thermotolerance in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell*, 5(1): 59-68.
- WECHTERSACH, L. & CIGIĆ, B.** 2007. Reduction of dehydroascorbic acid at low pH. *Journal of Biochemistry Biophysical Methods*, 70: 767-772.
- WEN, L., WROLSTAD, R. & HSU, V.** 1999. Characterization of sinapyl derivatives in pineapple (*Ananascomosus* [L.] Merrill) juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 850-853.

- WOLFE, K. L. & LIU, R. H.** 2007. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22): 8896-8907.
- WONG, E.** 2010. Combinación de sonicación y almacenamiento en alta presión osmótica: una alternativa de procesamiento para obtener jugos de frutas inocuos y de calidad. Tesis Ph. D. San José, Costa Rica, UCR, pp. 102.
- WONG, E., VAILLANT, F. & PÉREZ, A.** 2010. Osmosonication of blackberry juice: impact on selected pathogens, spoilage microorganisms, and main quality parameters. *Journal of Food Science*, 75(7): 468-474.
- WROLSTAD, R. E., ACREE, T. E., DECKER, E. A., PENNER, M. H., REID, D. S., SCHWARTZ, S. J., SHOEMAKER, C. F., SMITH, D. M. & SPORNS, S.** 2005. Handbook of food analytical chemistry: Pigments, colorants, flavors, texture, and bioactive food components. Volumen 2. John Wiley & Sons Inc. Washington, Estados Unidos, p. 606.
- WU, X., BEECHER, G., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D., GEBHARDT, S. & PRIOR, R.** 2004. Lipophilic and Hydrophilic Antioxidant Capacities of Common Foods in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(12): 4026-4037.
- WU, C. P., CALCAGNO, A. M., HLADKY, S. B., AMBUDKAR, S. V. & BARRAND, M. A.** 2005. Modulatory effects of plant polyphenols on human multidrug resistance proteins 1, 4, and 5 (ABCC1, 4, and 5). *FEBS Journal*, 272(18): 4725-4740.
- ZAFRA-ROJAS, Q.Y., CRUZ-CANSINO, N., RAMIREZ-MORENO, E., DELGADO-OLIVARES, L., VILLANUEVA-SANCHEZ, J. & ALANIS-GARCIA, E.** 2013. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5): 1283-1288.
- ZENKER, M., HEINZ, V. & KNORR, D.** 2003. Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods. *Journal of Food Protection*, 66(9), 1642-1649.

- ZEPKA, L.Q. & MERCADANTE, A.Z.** 2009. Degradation compounds of carotenoids formed during heating of a simulated cashew apple juice. *Food Chemistry*, 117: 28-34.
- ZHANG, C., TRIERWEILER, B., LI, W., BUTZ, P., XU, Y., RÜFER, C., MA, Y. & ZHAO, X.** 2011. Comparison of thermal, ultraviolet-c, and high pressure treatments on quality parameters of watermelon juice. *Food Chemistry*, 126: 254-260.
- ZINOVIADOU, K. G., GALANAKIS, C. M., BRNČIĆ, M., GRIMI, N., BOUSSETTA, N., MOTA, M. J. SARAIVA, J. A., PATRAS, A., TIWARI, B. & BARBA, F. J.** 2015. Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*, 77: 743-752.

9. ANEXOS

Cuadro A.1. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el contenido de vitamina C total de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Vitamina C (mg/100g BS)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	407,1 ±3,8	306,0 ±16,3	391,2 ±4,7	368,1 ±54,4
4	396,2 ±2,2	307,7 ±4,7	391,9 ±4,5	365,3 ±49,9
8	365,2 ±17,7	307,3 ±15,2	373,5 ±9,1	348,7 ±36,0
12	379,0 ±26,6	303,3 ±5,1	375,0 ±11,1	352,4 ±42,6
16	385,8 ±3,9	285,6 ±3,2	374,1 ±12,5	348,5 ±54,8
20	372,1 ±1,5	298,1 ±5,4	364,6 ±10,4	344,9 ±40,8

Los resultados se representan por el promedio con su respectiva desviación estándar.

Cuadro A.2. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el contenido de ácido ascórbico de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Ácido ascórbico (mg/100g BS)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	375,8 ±2,8	267,1 ±5,0	357,7 ±1,1	333,5 ±58,2
4	360,2 ±5,0	266,8 ±4,4	357,8 ±8,0	328,3 ±53,2
8	349,5 ±2,0	262,8 ±14,8	343,0 ±8,5	318,4 ±48,3
12	358,4 ±1,6	265,1 ±1,7	329,3 ±3,5	317,6 ±47,7
16	348,5 ±2,0	250,6 ±3,2	319,3 ±13,2	306,1 ±50,3
20	326,1 ±4,1	256,5 ±5,6	339,4 ±5,5	307,3 ±44,5

Los resultados se representan por el promedio con su respectiva desviación estándar.

Cuadro A.3. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el contenido de polifenoles totales de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Polifenoles totales (mg GAE/100g de muestra BS)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	144,3 ±5,8	63,5 ±9,5	115,2 ±12,3	107,6 ±40,9
4	124,2 ±5,4	64,8 ±10,0	108,3 ±19,2	99,1 ±30,8
8	122,9 ±1,0	71,3 ±3,0	124,4 ±7,7	106,2 ±30,2
12	111,8 ±9,4	66,2 ±15,4	110,5 ±9,3	96,2 ±26,0
16	110,2 ±0,9	62,2 ±3,3	125,9 ±6,1	99,5 ±33,2
20	114,3 ±17,6	85,2 ±3,9	133,5 ±7,6	111,0 ±24,3

Los resultados se representan por el promedio con su respectiva desviación estándar.

Cuadro A.4. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre la capacidad antioxidante hidrofílica (H-ORAC) de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	H-ORAC (mg TE / g muestra BS)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	37,9 ±2,0	41,3 ±3,4	45,9 ±2,9	41,7 ±4,0
4	37,0 ±4,7	38,6 ±2,4	40,9 ±2,6	38,8 ±2,0
8	35,6 ±2,4	38,0 ±2,7	39,1 ±2,7	37,6 ±1,8
12	38,8 ±2,3	35,9 ±1,6	47,2 ±4,3	40,6 ±5,8
16	37,1 ±2,6	37,5 ±2,7	37,9 ±1,9	37,5 ±0,4
20	38,3 ±3,8	42,3 ±2,8	46,9 ±3,3	42,5 ±4,3

Los resultados se representan por el promedio con su respectiva desviación estándar.

Cuadro A.5. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el contenido de carotenoides totales de un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	Carotenoides totales ($\mu\text{g } \beta\text{-caroteno E/g BS}$)			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	15,2 \pm 0,2	22,9 \pm 0,3	21,3 \pm 0,6	19,8 \pm 4,1
4	11,6 \pm 0,1	21,2 \pm 0,1	20,7 \pm 0,1	17,8 \pm 5,4
8	14,8 \pm 0,2	22,5 \pm 0,1	18,8 \pm 0,2	18,7 \pm 3,8
12	9,7 \pm 0,3	19,8 \pm 0,5	20,4 \pm 0,2	16,6 \pm 6,0
16	8,0 \pm 0,3	19,7 \pm 0,3	12,5 \pm 0,5	13,4 \pm 5,9
20	9,7 \pm 0,2	14,4 \pm 0,4	11,5 \pm 0,4	11,9 \pm 2,4

Los resultados se representan por el promedio con su respectiva desviación estándar.

Cuadro A.6. Caracterización del jugo pulposo de piña al t=0 (materia prima).

Análisis	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
% Humedad	85,5 \pm 1,6	85,4 \pm 0,7	85,8 \pm 1,6	85,6 \pm 0,2
Vitamina C (mg/100g BS)	407,1 \pm 3,8	306,0 \pm 16,3	391,2 \pm 4,7	368,1 \pm 54,4
AA (mg/100g BS)	375,8 \pm 2,8	267,1 \pm 5,0	357,7 \pm 1,1	333,5 \pm 58,2
CT ($\mu\text{g } \beta\text{-caroteno E/g BS}$)	15,2 \pm 0,2	22,9 \pm 0,3	21,3 \pm 0,6	19,8 \pm 5,1
PT (mg GAE/100g BS)	144,3 \pm 5,8	63,5 \pm 9,5	115,2 \pm 12,3	107,6 \pm 40,9
H-ORAC (mg TE/g BS)	37,9 \pm 2,0	41,3 \pm 3,4	45,9 \pm 2,9	41,7 \pm 4,0

Donde AA= Ácido ascórbico, CT= Carotenoides totales y PT= Polifenoles totales, H-ORAC= actividad antioxidante hidrofílica. Los resultados se representan por el promedio con su respectiva desviación estándar.

Cuadro A.7. Parámetros de la regresión lineal de las características evaluadas en el jugo pulposo de piña o Análisis de varianza para algunos parámetros en el jugo pulposo de piña.

Análisis	Significancia para el factor tiempo	Potencia de Prueba
Vitamina C (mg/100g BS)	0,0015*	-
AA (mg/100g de muestra BS)	0,0003*	-
CT (µg/g de muestra BS)	<0,0001*	-
PT (mg/100g de muestra BS)	0,8809	0,1128
H-ORAC (mg TE / g muestra BS)	0,8378	0,1000

* Los valores son significativos para una $p < 0,05$.

Donde AA= Ácido ascórbico, CT= Carotenoides totales y PT= Polifenoles totales.

Cuadro A.8. Análisis de varianza para los parámetros de color en el jugo pulposo de piña.

Análisis	Significancia para el factor tiempo	Potencia de Prueba
a*	0,2274	0,2200
b*	<0,0001(*)	-
C*	<0,0001(*)	-
L*	0,4620	1,0000
Hue (H*)	0,8171	0,9418
ΔE	<0,0001(*)	-

(*) Los valores son significativos para una $p < 0,05$.

Cuadro A.9. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor a^* en un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	a^*			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	1,9	1,7	0,6	1,4 ± 0,7
4	2,3	1,9	0,4	1,53 ± 1,0
8	0,8	2,0	0,2	1,0 ± 0,9
12	0,4	1,7	1,3	1,1 ± 0,7
16	1	1,2	0,5	0,9 ± 0,4
20	0,7	0,6	1,7	1,0 ± 0,6

(*) Los valores son significativos ($p < 0,05$). Los resultados se representan por el promedio \pm IC.

Cuadro A.10. Efecto del tiempo efectivo de sonicación sobre el valor L^* en un jugo pulposo de piña (n=3).

Tiempo (min)	L^*			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Promedio
0	57,5	56,7	59,3	57,8 ± 1,3
4	56,3	58,1	57,2	57,2 ± 0,9
8	56,2	56,6	56,7	56,5 ± 0,3
12	56,2	57	57,3	56,8 ± 0,6
16	57,3	57,7	56,9	57,3 ± 0,4
20	57,8	57,2	56,4	57,1 ± 0,7

(*) Los valores son significativos ($p < 0,05$). Los resultados se representan por el promedio \pm IC.