

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROALIMENTARIAS  
ESCUELA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Proyecto final de graduación para optar por el grado de Licenciada en Ingeniería de  
Alimentos

**Efecto del tiempo de sonicación sobre los principales carotenoides, actividad  
antioxidante lipofílica y color de jugo de naranja**

Elaborado por:  
María Fernanda Guevara Mojica

Carné: B23059

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

Noviembre, 2020

## **Dedicatoria**

A mis papás por ser todo lo que me permitieron crecer, mis hermanos por ser ese apoyo incondicional y a mis amigos, sin quiénes no sería ni la mitad de la persona que soy hoy.

A la profesora Carolina Rojas, ojalá este proyecto sea algo de lo que pudiera sentirse orgullosa.

## TRIBUNAL EXAMINADOR

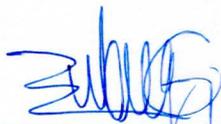
Trabajo Final de Graduación presentado a la Escuela de Tecnología de Alimentos como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos.

Aprobado por:



---

Dra. Natalia Barboza Vargas  
Presidente del Tribunal



---

Ph.D. Eric Wong González  
Director del Proyecto



---

M.Sc. Carolina Cortés Herrera  
Asesora del Proyecto



---

Ph.D. Jessie Usaga Barrientos  
Asesora del Proyecto



---

Ph.D. Ana Mercedes Pérez Carvajal  
Profesor Designado

## Tabla de contenidos

<b>DEDICATORIA.....</b>	<b>I</b>
<b>TRIBUNAL EXAMINADOR.....</b>	<b>II</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>VI</b>
<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>IX</b>
<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>5</b>
2.1. OBJETIVO GENERAL .....	5
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	5
<b>3. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>6</b>
3.1. GENERALIDADES JUGOS DE FRUTAS .....	6
3.2. IMPORTANCIA ECONÓMICA GLOBAL Y NACIONAL DE JUGOS DE FRUTA Y DE JUGO DE NARANJA .....	7
3.3. ASPECTOS NUTRICIONALES Y FUNCIONALES .....	8
3.3.1. <i>Compuestos bioactivos de jugos de fruta</i> .....	8
3.3.2. <i>Compuestos bioactivos de jugo de naranja</i> .....	10
3.4. PARÁMETROS DE CALIDAD DEL JUGO DE NARANJA.....	12
3.4.1. <i>Sólidos solubles</i> .....	12
3.4.2. <i>Acidez</i> .....	14
3.4.3. <i>Capacidad antioxidante lipofílica</i> .....	15
3.4.4. <i>Carotenoides</i> .....	16
3.4.5. <i>Color y diferencia colorimétrica</i> .....	19
3.5. TECNOLOGÍAS PARA EL PROCESAMIENTO DE JUGOS .....	21
3.5.1. <i>Tecnología de procesamiento térmico</i> .....	21
3.5.2. <i>Tecnologías de procesamiento alternativas</i> .....	23
3.6. ULTRASONIDO COMO TECNOLOGÍA DE PROCESAMIENTO.....	24

3.6.1.	<i>Principio de funcionamiento del equipo de ultrasonido.....</i>	24
3.6.2.	<i>Aplicación de ultrasonido en la industria alimentaria.....</i>	25
3.6.3.	<i>Efecto de preservación del ultrasonido .....</i>	26
3.6.4.	<i>Efecto del ultrasonido sobre características sensoriales .....</i>	27
3.6.5.	<i>Efecto del ultrasonido sobre calidad nutricional .....</i>	29
<b>4.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>32</b>
4.1.	LOCALIZACIÓN DEL PROYECTO .....	32
4.2.	MATERIA PRIMA.....	32
4.3.	DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO.....	32
4.3.1.	<i>Equipo utilizado.....</i>	32
4.3.1.	<i>Aplicación de los tratamientos .....</i>	34
4.4.	DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO .....	35
4.4.1.	<i>Evaluación del efecto del tiempo de sonicación sobre el perfil y contenido de los principales carotenoides en jugo de naranja .....</i>	35
4.4.1.1.	Diseño experimental estadístico.....	35
4.4.1.2.	Procedimiento experimental.....	35
4.4.1.3.	Análisis estadístico de datos .....	35
4.4.2.	<i>Evaluación del efecto del tiempo de sonicación sobre la actividad antioxidante lipofílica</i>	35
4.4.2.1.	Diseño experimental estadístico.....	35
4.4.2.2.	Procedimiento experimental.....	36
4.4.2.3.	Análisis estadístico de datos.....	36
4.4.3.	<i>Evaluación de la sonicación sobre el cambio de color del jugo de naranja..</i>	36
4.4.3.1.	Diseño experimental estadístico.....	36
4.4.3.2.	Procedimiento experimental.....	36
4.4.3.3.	Análisis estadístico de datos.....	36
4.5.	MÉTODOS INSTRUMENTALES DE ANÁLISIS .....	37
4.5.1.	<i>Sólidos solubles.....</i>	37
4.5.2.	<i>Contenido de humedad .....</i>	37

4.5.3.	<i>Acidez total titulable</i> .....	37
4.5.4.	<i>pH</i> .....	37
4.5.5.	<i>Carotenoides</i> .....	37
4.5.5.1.	<i>Extracción de carotenoides</i> .....	37
4.5.5.2.	<i>Perfil de carotenoides</i> .....	38
4.5.5.3.	<i>Contenido de los principales carotenoides</i> .....	38
4.5.6.	<i>ORAC L</i> .....	39
4.5.7.	<i>Color</i> .....	39
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>41</b>
5.1.	CAROTENOIDES EN EL JUGO DE NARANJA.....	41
5.1.1	<i>Perfil de carotenoides</i> .....	41
5.1.2	<i>Contenido de los principales carotenoides</i> .....	44
5.2.	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE LIPOFÍLICA DEL JUGO DE NARANJA.....	49
5.3.	COLOR DE JUGO DE NARANJA .....	51
5.4.	CONSIDERACIONES FINALES .....	54
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>55</b>
<b>7.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>56</b>
<b>8.</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>58</b>
<b>9.</b>	<b>ANEXOS</b> .....	<b>81</b>
9.2.	CÁLCULO DEL TIEMPO DE TRATAMIENTO TOTAL DE ULTRASONIDO SOBRE JUGO DE NARANJA .....	81
9.2.1	<i>Tiempo de residencia de jugo en la celda (<math>t_R</math>):</i> .....	81
9.2.2.	<i>Tiempo necesario para circulación total de la muestra (<math>t_V</math>):</i> .....	81
9.2.2	<i>Tiempo total de operación del ultrasonido (<math>t_T</math>)</i> .....	81

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Formación ultrasónica de burbujas y cavitación. ....	27
<b>Figura 2.</b> Diagrama del equipo de sonicación con recirculación continua utilizado para la aplicación del tratamiento sobre el jugo de naranja. ....	33
<b>Figura 3.</b> Cromatograma a 450 nm de carotenoides en jugo de naranja fresco (verde) sobrepuesto al cromatograma de un estándar de $\beta$ -criptoxantina a 100 ppm (rojo). ....	41
<b>Figura 4.</b> Cromatograma a 450 nm de carotenoides en jugo de naranja fresco (verde) sobrepuesto al cromatograma de una disolución de estándares de a) violaxantina y b) luteína a 100 ppm. ....	42
<b>Figura 5.</b> Cromatogramas a 450 nm de carotenoides de jugo de naranja sónico durante A: 0 min, B: 20 min, C: 40 min, D: 60 min, E: 80 min y F: 105 min de sonicación a $25 \pm 1$ °C. ....	43
<b>Figura 6.</b> Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido sobre el contenido de luteína en extracto de jugo de naranja a $25 \pm 1$ °C. ....	45
<b>Figura 7.</b> Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido sobre el contenido de a) $\beta$ -criptoxantina y cinco carotenoides y b) el contenido total de carotenoides expresados como equivalentes de $\beta$ -criptoxantina en extracto de jugo de naranja a $25 \pm 1$ °C. ....	47
<b>Figura 8.</b> Estructura de $\beta$ -criptoxantina (izquierda) y luteína (derecha). ....	48
<b>Figura 9.</b> Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido sobre la capacidad antioxidante lipofílica de jugo de naranja a $25 \pm 1$ °C. ....	50
<b>Figura 10.</b> Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido a $25 \pm 1$ °C en el cambio de color de jugo de naranja con respecto al jugo fresco. ....	51
<b>Figura 11.</b> Espectros UV de los carotenoides encontrados en jugo de naranja fresco. ....	83
<b>Figura 12.</b> Equipo marca Zumex utilizado para la extracción del jugo de naranja. Modelo Speed S+Plus, Zumex Group S.A. ....	83

## Índice de cuadros

<b>Cuadro I.</b> Condiciones de operación definidas para la aplicación del ultrasonido en modo continuo en muestras de 300 mL de jugo de naranja.....	34
<b>Cuadro II.</b> Valores de contenido de humedad, pH, acidez total titulable, sólidos solubles y parámetros de color del jugo de naranja fresco obtenidos para su caracterización. ....	82
<b>Cuadro III.</b> Parámetros de color determinados para el jugo de naranja utilizando un colorímetro 45-0 a diferentes tiempos de aplicación de ultrasonido. ....	82

## ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

AIJN: Association of the Industry of Juices and Nectars/European Fruit Juice Association

AOAC: Association of Official Agricultural Chemists

BSDA: British Soft Drinks Association

CITA: Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos

Cu<sup>2+</sup>: ión cobre

FAO: Food and Agriculture Organization

FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database

FDA: Food and Drug Administration

Fe<sup>3+</sup>: ión hierro

h<sub>ab</sub>: ángulo de tono

H<sup>+</sup>: ión hidronio

HDL: lipoproteínas de alta densidad (high-density lipoprotein)

HPLC: High performance liquid chromatography / cromatografía líquida de alta eficacia

In vitro: estudios realizados sobre microorganismos, células o moléculas biológicas para evaluar su comportamiento.

INEC: Instituto Nacional de Estadística y Censos

LDL: lipoproteínas de baja densidad (low density lipoproteins)

ORAC: oxygen radical absorbance capacity / capacidad de absorción de radicales de oxígeno

PROCOMER: Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica

SEPSA: Secretaría Ejecutiva de Planificación Sectorial Agropecuaria

Ton: toneladas

$\alpha$ : error tipo I, probabilidad de rechazo de la hipótesis nula

$\Delta E$ : diferencia colorimétrica

%: porcentaje

1 –  $\beta$ : potencia de la prueba

## RESUMEN

Guevara Mojica, María Fernanda

### **Efecto del tiempo de sonicación sobre los principales carotenoides, actividad antioxidante lipofílica y color de jugo de naranja**

Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos – San José, Costa Rica.

Guevara Mojica, M., 2020.

86h.: 8 il. – 224 refs.

El objetivo de este proyecto consistió en evaluar el efecto del tiempo de sonicación en jugo de naranja de la variedad Valencia sobre el perfil y contenido de los principales carotenoides, actividad antioxidante lipofílica y su color.

El jugo de naranja fue procesado en tres lotes a temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C) en porciones de 300 mL para cada tiempo. Se mantuvo la temperatura constante haciendo uso de un baño de agua e hielo. El ultrasonido fue aplicado de manera continua a un flujo de 106 mL/min, frecuencia de 20 kHz, amplitud de 40% y una potencia de  $50,0 \pm 0,2$  W durante 0, 20, 40, 60, 80 y 105 min para tiempo de tratamiento total y 0, 4, 8, 16 y 21 min de tratamiento efectivo.

Los lotes de muestras sonicadas y de jugo fresco fueron analizados por la técnica cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-DAD) para identificar y cuantificar los principales carotenoides, se evaluó el contenido total de carotenoides, la diferencia colorimétrica ( $\Delta E^*$ ) por medio de análisis colorimétrico y la determinación de la actividad antioxidante lipofílica mediante el método ORAC. El análisis del perfil de carotenoides se realizó de manera visual al comparar los cromatogramas de los jugos a cada tiempo de sonicación con los estándares de algunos carotenoides, se identificaron la luteína y  $\beta$ -criptoxantina, y se encontraron otros cinco carotenoides que no pudieron ser identificados. Se determinó que no se observa un cambio en el perfil de los principales carotenoides con

respecto al tiempo de sonicación, debido a que los cromatogramas a diferentes tiempos no presentan variaciones con respecto a posiciones en el tiempo, cantidad de carotenoides o sus tamaños.

Los resultados del contenido individual y total de carotenoides, la actividad antioxidante lipofílica y la diferencia colorimétrica fueron analizados estadísticamente mediante un diseño de bloques al azar unifactorial con seis niveles, el único factor evaluado fue el tiempo como variable continua y cada tiempo de tratamiento correspondió a un nivel. Se concluyó que no existe un efecto significativo ( $p > 0,05$ ) del tiempo de sonicación sobre las variables evaluadas correspondientes a contenido total de carotenoides, el contenido de  $\beta$ -criptoxantina, sus cinco equivalentes, la actividad antioxidante lipofílica y la diferencia colorimétrica ( $\Delta E$ ). Sin embargo, se observó que sí existe un aumento significativo ( $p > 0,05$ ) del contenido de luteína, el cual es directamente proporcional con el tiempo de sonicación.

ULTRASONIDO, JUGO, NARANJA, TIEMPO DE SONICACIÓN,  
CAROTENOIDES, COLOR, ANTIOXIDANTES.

PhD. Eric Wong González

Escuela Tecnología de Alimentos

## JUSTIFICACIÓN

En la actualidad los jugos de fruta representan una alternativa práctica para el estilo de vida acelerado debido a la necesidad de alimentos estables y convenientes, sin perder de vista su calidad nutricional (Bates, Morris y Crandall., 2001). A esta tendencia se suma el aumento en el interés de la población hacia un estilo de vida más saludable, debido a lo cual las industrias invierten en el desarrollo de un mercado que ha ganado espacio en las estanterías (Santos et al., 2018).

Una de las opciones más reconocidas es el jugo de naranja, ya que alrededor de 73 millones de toneladas de naranjas son producidas anualmente en el mundo (FAOSTAT, 2017), y es el jugo más representado en el mercado por ser uno de los más reconocidos y aceptados globalmente. Solamente en Costa Rica, los jugos y concentrados de fruta representan un 2% del total de las exportaciones y dentro de los principales productos de exportación del país se encuentran en el noveno lugar, representado en su gran mayoría por jugo de naranja y piña (PROCOMER, 2018). Debido a esto, y por lo tanto su alto consumo, el jugo de naranja es una fuente dietética importante de carotenoides con actividad pro vitamina A y carotenoides antioxidantes (Cortés *et al.*, 2006 a).

Un antioxidante es un compuesto que protege los sistemas biológicos de los efectos dañinos de reacciones que producen oxidación excesiva, estos nutrientes están relacionados con la reducción de enfermedades degenerativas como problemas del corazón y cáncer (Cortés *et al.*, 2006 a), así como su capacidad potencial de estimular el sistema inmunológico y prevenir enfermedades cardiovasculares (Gama y Sylos, 2005). Los carotenoides del jugo de naranja son una de las sustancias más importantes por su actividad antioxidante de manera natural, los cuales debido a su estructura son de naturaleza lipofílica (Arnao, Cano y Acosta, 2001).

En el jugo de naranja se encuentra una variedad de compuestos carotenoides que conforman su perfil. Tomando en consideración los estudios realizados para la caracterización de jugos elaborados con diferentes naranjas utilizando cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) por Aschoff *et al.* (2014), Meléndez, Vicario y Heredia (2007 a), Petry y Mercadante (2018), Wei *et al.* (2018), y Rodrigo *et al.* (2015), se enlistan como los

carotenoides más importantes: auroxantina, anteraxantina,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno,  $\zeta$ -caroteno,  $\alpha$ -criptoxantina,  $\beta$ -criptoxantina, isoluteína, luteína, luteoxantina, mutatoxantina, neoxantina, violaxantina, zeaxantina y zainoxantina. Estos compuestos se asocian a la capacidad de generar coloraciones que van de amarillo a rojo y son ubicuos en plantas tanto comestibles como no comestibles (Kopec *et al.*, 2012).

Finalmente, el color es uno de los atributos visuales más importantes en los alimentos, y suele ser el que se evalúa primero. Los consumidores tienden a calificar la calidad de los productos basándose en su color, dado que acostumbra a existir una relación entre color y sabor (Pérez *et al.*, 2005). Asimismo, estudios han revelado que el color de las bebidas cítricas se relaciona al sabor en general, dulzor y otras cualidades características. Especialmente en jugos cítricos, los colores brillantes naturales son considerados una de las principales ventajas sobre los otros tipos de jugo, como ocurre con el jugo de naranja y su color característico (Fernández *et al.*, 2011).

Lo anterior impulsa que el jugo de naranja sea procesado industrialmente de varias formas, de las cuales el tratamiento térmico es uno de los métodos más aplicados para su preservación. Esta operación cuenta con la principal desventaja de destruir varios porcentajes de componentes deseados, comprobado mediante estudios como los realizados por Brasili *et al.* (2017) que confirman una disminución importante de compuestos bioactivos en jugos de diferentes naranjas al pasteurizar, tales como nutrientes, y componentes que otorgan sabor y textura (Cortés *et al.*, 2006 b). Dependiendo de la severidad del tratamiento, se puede inducir a la isomerización y degradación oxidativa de carotenoides, reacciones que están relacionadas con los cambios de color (Gama y Sylos, 2007).

Tomando en consideración la demanda de los consumidores de alimentos mínimamente procesados en busca de una mejor calidad de retención de nutrientes y la reducción de cambios indeseados en la materia prima debido al procesamiento, se da lugar al desarrollo de tecnologías novedosas con métodos no térmicos que reporten potencial para inactivar enzimas y microorganismos causantes de deterioro (Tao *et al.*, 2014).

El ultrasonido es considerado una de estas tecnologías alternativas a los tratamientos térmicos, es altamente apetecible debido a la pureza de los productos finales cuyos componentes sensibles al calor han sufrido menos daño, así como desnaturalización de

proteínas y pardeamiento no enzimático, además de lo atractivo que resulta en el mercado los productos con procesamiento más natural y menos intenso (Ravikumar *et al.*, 2017). Al aplicar esta tecnología de sonicación en combinación con otros tratamientos como altas presiones o tratamientos térmicos menos intensos, se reduce el daño generado sobre las materias primas durante el proceso, asegurando a la vez la inocuidad del producto final (Raso y Barbosa, 2003).

El ultrasonido tiene un resultado disruptivo que induce efectos en las propiedades físicas, químicas o mecánicas de los alimentos. Una de las aplicaciones recientes es como promotor de cambios deseados en las estructuras y propiedades físicas de los jugos que, aparte de los cambios de vida útil, al romper constituyentes intracelulares y facilitar la liberación de compuestos bioactivos, como los carotenoides, ocasiona mayor accesibilidad para su absorción, lo que se resume a un jugo de naranja con carotenoides más biodisponibles (Suarez, 2018).

Al mismo tiempo, estudios *in vitro* realizados por Zou y Hou (2017) aseguran que la sonicación genera un aumento en la actividad de captación de radicales, consecuencia de la liberación de antioxidantes, por consiguiente, se le atribuye un rol mayor a la sonicación del jugo en la mejora de la capacidad antioxidante de jugo de arándano. Se observa un resultado similar obtenido por Aadil *et al.* (2013) al realizar el mismo estudio en jugo de pomelo, donde en diferentes matrices se observa un patrón similar de comportamiento que se espera también encontrar en el jugo de naranja.

Esta aplicación de la tecnología de alimentos aspira a reducir la pérdida de nutrientes durante el procesamiento y almacenamiento, un criterio válido para los demás componentes sensoriales, como pigmentos naturales y sustancias aromáticas.

El propósito de este trabajo es analizar las consecuencias sobre los compuestos bioactivos antioxidantes, provitamina A y sensoriales de someter a diferentes tiempos de ultrasonido el jugo de naranja, específicamente el efecto que tiene el tratamiento sobre el contenido y perfil de carotenoides del jugo, así como su actividad antioxidante lipofílica y finalmente las variaciones en el color del jugo de naranja. Estos resultados podrían contribuir a la implementación de dicha tecnología no térmica como un método factible de conservación que permita obtener productos más apetecibles al consumidor, de alta calidad nutricional, y

que cumpla con las características requeridas en el mercado al complementar con otros métodos de preservación.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto del tiempo de sonicación sobre el perfil y contenido de los principales carotenoides, actividad antioxidante lipofílica y color de jugo de naranja.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Evaluar el efecto del tiempo de sonicación sobre el perfil y contenido de los principales carotenoides en jugo de naranja
- Evaluar el efecto del tiempo de sonicación sobre la actividad antioxidante lipofílica del jugo de naranja.
- Evaluar el efecto del tiempo de sonicación sobre el color del jugo de naranja de manera instrumental.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1. Generalidades jugos de frutas

Las frutas han sido parte de las dietas durante mucho tiempo. Son buenas fuentes de elementos esenciales de gran utilidad para el cuerpo humano y su correcta función, tales como agua, vitaminas (A, B1, B2, C, D y E), minerales, fibra y compuestos orgánicos como antioxidantes (Begum, Chandra y Karmoker, 2018). Pese a que poseen una gran variedad de ventajas, cuentan con el inconveniente de ser muy perecederas, de lo que surge la necesidad de presentaciones que conserven sus características nutricionales y posean una mayor vida útil. Respaldo en lo anterior, es que nacen los jugos de frutas (Adubofuor *et al.*, 2010).

De acuerdo con el *Codex Alimentarius* (2005) se define el jugo de frutas como el líquido sin fermentar, pero fermentable, obtenido de las partes comestibles de la fruta apropiadamente madura y fresca o en condiciones adecuadas de almacenamiento post-cosecha. Dichos jugos deben ser preparados por procesos que mantengan las características físicas, químicas, sensoriales y nutricionales de las frutas de las que provienen. Pueden ser turbios o clarificados. Por otro lado, el Código Federal de Regulaciones de los Estados Unidos (CFR por sus siglas en inglés) (FDA, 2004) establece los jugos de fruta como el líquido acuoso exprimido o extraído de una o varias frutas o verduras, purés de las porciones comestibles de una o más frutas o verduras, o cualquier concentrado de dicho líquido o puré.

Las frutas pueden ser preservadas en bebidas como jugos (jugo de manzana, naranja, uva, entre otros) exprimiendo su zumo por métodos mecánicos o enzimáticos. Es una opción apetecible al ser un alimento menos grasoso y denso en nutrientes. Adicionalmente, es una alternativa inteligente para frutas estacionales, permitiendo su conservación y facilitando su consumo en cualquier época del año y no solamente cuando se encuentran en temporada alta, donde debido a una alta disponibilidad también se sufre un gran desperdicio de producto por un mal manejo (Begum, Chandra y Karmoker, 2018).

Finalmente, los jugos de frutas implican un valor agregado a la materia prima al transformar productos perecederos en productos almacenables y comercializables. El procesamiento de pulpas y jugos de frutas también es una actividad agro-industrial importante y fomenta el desarrollo de industrias procesadoras. El uso de frutas se enfoca en

ofrecer al consumidor alternativas nuevas que, con su palatabilidad, color atractivo o mezclado, sabor y gusto, siempre resultan opciones atractivas de consumo rápido y conveniente (Curi *et al.*, 2017).

### **3.2. Importancia económica global y nacional de jugos de fruta y de jugo de naranja**

La industria productora de jugos representa una de las secciones más competitivas en el mercado de bebidas a nivel mundial, con la ayuda de iniciativas como “Fruit Juice Matters” que busca informar a profesionales de la salud sobre sorprendentes beneficios sobre la salud de jugos 100% de fruta al compartir los últimos descubrimientos científicos. A esto se une los estilos de vida más acelerados y la preocupación por la búsqueda de alimentos y bebidas más saludables (Santos *et al.*, 2018). Las mayores oportunidades de mercado se encuentran en las regiones de América del Norte y Europa del Oeste con un consumo per cápita de 22,7 L y 18,9 L respectivamente (AIJN, 2018).

Se proyecta una reducción en estas cantidades debido a una tendencia de búsqueda de productos menos azucarados y una disminución en el porcentaje de niños en la población (Statista, 2019); sin embargo, los productores buscan opciones nuevas de jugos que se acoplen a las tendencias actuales y resulten más atractivas para los consumidores, como jugos 100% naturales, de varias frutas y sin azúcar añadida (AIJN, 2018). Específicamente de jugo de naranja se observa disminución y aumento de acuerdo con la región, donde en América del Norte y Europa se ve una reducción en consumo y en Asia y Latinoamérica un incremento del volumen consumido (Favas, 2018).

Algunos análisis de comportamientos relacionan esta tendencia con cambios en el estilo de vida de las personas. En algunas regiones, como Estados Unidos, el realizar varias comidas al día o tomar un tiempo en la mañana para desayunar ya no resulta viable y es durante esta comida que la mayoría de consumo de jugo de naranja se lleva a cabo. Patrones de trabajo cambiantes o de actitudes hacia la idea de tres comidas al día disminuye su necesidad y su consideración para las compras del hogar (The Food Institute, 2019).

En Costa Rica, la exportación de jugos es un aporte importante a la economía. En el 2019 dicha exportación representó un total de \$156 millones (211 302,9 Ton), para un total

de 141 destinos. Los principales destinos de exportación son Estados Unidos (\$54,5 millones), Holanda (\$48 millones) y España (\$11,7 millones), que juntos representan más de dos tercios del total de ingresos provenientes de los jugos (PROCOMER, 2019). El Ministerio de Agricultura y Ganadería (2018) reporta, para solamente el jugo de naranja, un ingreso total de \$72,82 millones para el 2018, lo que supone aproximadamente un 40% de las ganancias totales provenientes de la exportación de jugos y concentrados de frutas de ese año.

Estos datos colocan a Costa Rica como el tercer exportador de jugo de naranja para la región estadounidense, considerado uno de los mercados comerciales más grandes del mundo (El observador, 2019). A su vez, el área de siembra de naranja se encuentra entre las primeras cuatro más grandes, solamente por debajo de café, palma aceitera y caña de azúcar. Esto supone una participación de alrededor de 3% en las exportaciones nacionales y cobertura agropecuaria para el sector de industria alimentaria (SEPSA, 2018).

El área sembrada de naranja en el país para el 2017 correspondía a 15 032 ha, de las cuales se cosecharon 10 083 ha para un total de producción de 212 907 Ton de naranjas (INEC, 2018). La época anual de cosecha de naranja es a su vez una fuente importante de trabajo para labores de recolecta, corta y carga de los cultivos, debido a la necesidad de mano de obra adicional, así como durante su procesamiento. Esta actividad contribuye de manera importante como fuente de ingresos para muchas familias (Ministerio de Comunicación, 2019). A su vez, la fruticultura se encuentra vinculada al desarrollo sostenible de los países mediante el fortalecimiento de la agricultura, adaptación y mitigación al cambio climático y combate la malnutrición (FAO, 2019).

### **3.3. Aspectos nutricionales y funcionales**

#### ***3.3.1. Compuestos bioactivos de jugos de fruta***

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), un bajo consumo de frutas y vegetales causa cerca de 2,7 millones de muertes cada año y se encuentra entre las primeras diez razones de riesgo que contribuyen a la mortalidad (Plaza, Elez y Martín, 2006). Esta problemática se debe a que las frutas son fuentes ricas de varios componentes biológicos activos que contribuyen a la salud general y disminuye el riesgo de enfermedades crónicas

como problemas cardiovasculares. Las frutas son unas de las fuentes de componentes fenólicos más ubicuas (Henning *et al.*, 2017).

El jugo por definición incluye las características originales de la fruta de origen, así como los componentes nutritivos. Los jugos comercializados como “altos en pulpa”, por ejemplo, tienen un mayor aporte de fibra al consumidor. En algunos casos donde la incluyen dentro de su formulación, la cáscara de los frutos implica una contribución de pigmentos que suelen tener características antioxidantes (Marcus, 2013).

El estrés oxidativo en sistemas biológicos es un proceso complicado que se caracteriza por el desbalance entre la producción de radicales libres y la habilidad del cuerpo de eliminar dichas especies reactivas mediante el uso de antioxidantes. Dichos componentes son sustancias que previenen o retrasan la oxidación de un sustrato y estos se encuentran naturalmente en el cuerpo o pueden ser provistos por medio de alimentos con esta capacidad (Santos *et al.*, 2019).

Los compuestos antioxidantes cumplen funciones protectoras ante los efectos de los radicales libres y los productos tóxicos de su metabolismo, mientras controlan la formación de los mismos radicales libres (Wilson *et al.*, 2017). Las frutas son una fuente rica de estos componentes, de las cuales parten estudios que comprueban que ciertos nutrientes de algunas frutas y vegetales se encuentran biodisponibles, lo que permite que la protección se extienda a los tejidos humanos una vez consumida la fruta (Shehanaz, 2013; Benzie y Wachtel, 2013).

La información que respalda los beneficios del consumo de frutas y vegetales ante el estrés oxidativo y enfermedades humanas específicas ha ido en aumento en las últimas décadas. Además de la vitamina A, C y E, las sustancias naturales provenientes de plantas más importantes que han demostrado actividad antioxidante son los carotenoides, flavonoides y otros compuestos simples que pueden ser encontrados en frutas y vegetales en diferentes cantidades (Arnao, Cano y Acosta, 2001; Perumalla y Hettiarachchy, 2011).

Los compuestos fenólicos tienen la capacidad de llevar a cabo reacciones de oxidación, entre estos están los flavonoides, uno de los grupos más conocidos de polifenoles. Los flavonoides se encuentran más fácilmente en frutas como pomelo, naranjas, moras, manzanas, entre otros, así como sus respectivos jugos. Este grupo de compuestos previene

el fenómeno de sellado de trombocitos y oxidación de la fracción de colesterol LDL y otros lípidos presentes en la sangre (Ciešlik, Greda y Adamus, 2006)

Se ha reportado que, con la administración de alimentos ricos antioxidantes, las células son protegidas contra daño inducido por carcinógenos (Kumar, Kumar y Kaur, 2011) y da lugar además a la prevención o protección contra otros padecimientos serios como enfermedades del corazón y pueden disminuir el riesgo de ocurrencia de degeneración macular y cataratas (Arnao, Cano y Acosta, 2001; Meléndez, Vicario y Heredia, 2007 b).

Algunos estudios realizados por Pfister *et al.* (2011) demostraron que un aumento de ácido ascórbico en plasma posee relación directa con una disminución de riesgo de fallos del corazón, así como aquellos con un porcentaje alto tienen menores probabilidades de desarrollo de hipertensión y las enfermedades mencionadas anteriormente, así como otras causas de mortalidad (Benzie y Wachtel, 2013).

### **3.3.2. *Compuestos bioactivos de jugo de naranja***

El jugo de naranja es consumido mundialmente por su alto valor nutricional y propiedades relacionadas con la salud, contiene una cantidad valiosa de varios micronutrientes como vitamina C, folato y polifenoles, por lo que contribuye significativamente a sus valores de ingesta diaria (Chanson *et al.*, 2016). En adición a los anteriores, el jugo de naranja contiene una serie de potentes antioxidantes incluyendo flavonoides (hesperetina y naringenina en forma de glicósidos en su mayoría), carotenoides (xantófilas, criptoxantinas, carotenos) y vitamina C (Franke *et al.*, 2005).

Los carotenoides son compuestos biosintetizados por plantas, hongos y bacterias. Son la fuente de los pigmentos amarillo, anaranjado y rojo en plantas, ampliamente distribuidos en la naturaleza y los encargados de llevar a cabo funciones críticas en la fotosíntesis y fotoprotección (Cortés *et al.*, 2006 b; Berendschot y Plat, 2014). Los carotenoides corresponden a más de 600 fitoquímicos, de los cuales veinticuatro se encuentran normalmente en alimentos de consumo humano (Prakash y Gupta, 2014).

De acuerdo con su estructura, estos compuestos son clasificados en carotenos, hidrocarburos y xantofilas, estructuras que contienen oxígeno. En la naturaleza la mayoría de carotenoides son isómeros todo-trans, no obstante, el procesamiento de los productos

(calor, luz y diferencias estructurales) es capaz de aumentar la cantidad de isómeros cis al generar la transformación de los isómeros trans (Britton, 1995; Kho *et al.*, 2011).

Además, los carotenoides presentan diferentes estructuras relacionadas con sus funciones en la salud, con algunos representando precursores de la vitamina A ( $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno y  $\beta$ -criptoxantina) y otros, como la zeaxantina y luteína, poseen actividad contra la degeneración macular inducida por la edad y cataratas, es decir, contribuyen a un envejecimiento saludable (Gama y Sylos, 2005 a).

La vitamina A es fundamental para la visión nocturna y para regular la salud de los tejidos superficiales, por lo que es importante una buena ingesta de carotenoides precursores de la vitamina A. El carotenoide con mayor rendimiento en conversión a vitamina A es el  $\beta$ -caroteno por su estructura química. Además, sus isómeros cis tienen menor actividad que las formas trans, por ello se busca evitar la formación de isómeros cis al procesar alimentos (Meléndez, 2005 a). La biodisponibilidad depende del carotenoide, por ejemplo, el cis-licopeno en comparación con el todo-trans-licopeno produce una mayor concentración del componente en una fracción de plasma rica en triglicéridos (Kopec *et al.*, 2012).

El jugo de naranja contiene la mayor cantidad de estos pigmentos encontrados en cualquier fruta y se ha descrito que posee un papel importante en la protección de ADN contra el daño oxidativo (Rodríguez, 1999; Sánchez *et al.*, 2003 a; Liu *et al.*, 2009). Se ha encontrado evidencia de una mejora en la salud cardiovascular, modulación de las funciones inmunológicas, regulación de diferenciación celular y proliferación al incluir ciertas dosis de jugos de naranja a las dietas de niños (Cortés *et al.*, 2006 b; Dhuique *et al.*, 2009; Turner y Burri, 2013).

Los carotenoides del jugo de naranja ejercen acciones contra ciertos cánceres, previenen úlceras gástricas y protegen contra la degeneración macular relacionada con la edad (Gama y Sylos, 2005). La vitamina A y el  $\beta$ -caroteno, presentes en el jugo de naranja, actúan apagando el oxígeno y otros radicales libres. Se han realizado estudios *in vitro* e *in vivo* demostrando que los antioxidantes no interfieren en ciertas modalidades terapéuticas de cáncer. Adicionalmente, disminuyen los efectos secundarios y protegen el tejido normal, incluso aumentando la supervivencia de los pacientes (Nepomuceno, 2011).

Los flavonoides son una clase compuestos nutracéuticos muy importantes que también tienen efecto en el color, sabor y gusto de las frutas. Tienen efectos bioquímicos y antioxidantes favorables. Estos se asocian con un amplio espectro de impactos beneficiosos para la salud gracias a su capacidad antioxidante, anti-inflamatoria, anti-mutagénica (Panche, Diwan y Chandra, 2016). Adicionalmente, estudios transversales reportan una relación directamente proporcional entre el consumo de flavonoides y la inteligencia cristalizada y al analizarse en roedores se evaluó la posibilidad de ofrecer efectos neuroprotectores (Menze *et al.*, 2012).

El jugo de naranja es especialmente rico en un grupo conocido como flavanonas, este grupo es de los flavonoides más fácilmente absorbidos y es conocido por cruzar la barrera hematoencefálica. El estudio de Kean *et al.* (2015) realizado en adultos mayores sanos demostró que un consumo durante ocho semanas de jugo de naranja rico en flavanonas resultó en una mejora significativa de las funciones cognitivas globales (Escobedo *et al.*, 2014). Manach *et al.* (2003) estudiaron un grupo cuya única ingesta de polifenoles residía en 0,5-1 L de jugo de naranja al día, los resultados indicaron que las flavanonas corresponden a una parte importante del conjunto de polifenoles en plasma.

Un experimento realizado por Franke *et al.* (2005) a un grupo que fue suministrado con un vaso de jugo de naranja tres veces al día reportó una reducción de la proporción LDL-HDL-colesterol. Los autores concluyeron que el jugo de naranja es una excelente fuente alimenticia para mejorar las concentraciones en circulación de fotoquímicos valiosos tanto hidrofílicos como lipofílicos. Por otro lado, otras fuentes evidencian que los glucósidos de hesperetina y naringenina son absorbidos y eliminados rápidamente en humanos que consumen jugo de naranja (Bub *et al.*, 2003).

### **3.4. Parámetros de calidad del jugo de naranja**

#### **3.4.1. Sólidos solubles**

Los sólidos solubles pueden ser expresados como grados Brix. Este porcentaje es una medida de la concentración de sacarosa en líquidos como jugos de fruta, melaza y vino (Quigley *et al.*, 2013). Los azúcares y ácidos, junto a pequeñas cantidades disueltas de

vitaminas, pigmentos, compuestos fenólicos y minerales son comúnmente referidos como sólidos solubles (Magwaza y Opara, 2015).

La determinación de los sólidos solubles se realiza utilizando un refractómetro, se reporta como “grados Brix” ( $^{\circ}$ Brix) que es equivalente a porcentaje. Es necesario mantener un control de la temperatura ( $20^{\circ}\text{C}$ ), puesto que afecta directamente la viscosidad de los jugos de fruta, variando de acuerdo con el rango de temperatura (AOAC, 2005 a; Cantor, 2008).

La unidad  $^{\circ}$ Brix representa la materia seca contenida en soluciones que poseen en su mayoría sacarosa, en una relación directa. Esto no aplica para frutas y vegetales porque los azúcares no son los únicos componentes. A pesar de que el término “Brix” se utiliza de manera intercambiable entre sólidos totales y contenido de sólidos solubles, técnicamente se refiere solamente al contenido de azúcar de jugos de frutas al considerar que azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) y alcoholes de azúcar (como sorbitol y manitol) constituyen aproximadamente un 85% de los sólidos solubles totales en muchas frutas (Magwaza y Opara, 2015).

El valor de  $^{\circ}$ Brix es utilizado como un indicador de la calidad. Funciona para determinar adulteraciones, como un valor mayor implica adición de otros ingredientes y uno menor que el jugo fue diluido, o clasificar los jugos de acuerdo con su ubicación geográfica y la variedad de origen, así como definir el rango dentro del cual se clasifica el jugo (Dasenaki y Thomaidis, 2019). Del mismo modo es un parámetro que afecta el sabor y viscosidad de la bebida, además de ser importante para aspectos de control microbiológico (Shachman, 2004).

Para jugos de naranja exprimidos directamente, el valor de  $^{\circ}$ Brix debe ser igual al expresado para la naranja y el contenido de sólidos solubles del jugo no debe ser modificado, excepto al utilizar mezclas con jugos del mismo tipo de fruta. La naranja tiene un valor alrededor de  $11,2^{\circ}$ Brix, aunque el valor puede variar en relación con valores reportados entre 5,50-11,80% (Codex, 2005; Ndife, Awogbenja y Zakari, 2013; Akuso, Kiin-Kabari y Ebere, 2016; BSDA, 2016).

### 3.4.2. Acidez

La acidez puede ser reportada en términos de pH. El pH es un índice de la concentración de iones de hidrógeno ( $[H^+]$ ) en agua. La concentración de dichos iones afecta la gran mayoría de procesos químicos y biológicos. Se calca como el logaritmo negativo de la concentración de  $[H^+]$ , donde una disolución neutra se encuentra en un pH de 7; una básica, mayor de 7 y una ácida, menor de 7 (Prichard, 2003; Boyd, Tucker y Viriyatum, 2011).

Las mediciones de este parámetro se realizan utilizando un pHmetro. Para analizar líquidos se deja estabilizar la temperatura a 25 °C, y la determinación se realiza sumergiendo los electrodos en el líquido (AOAC, 2005 d). Otro método de determinación es la acidez total titulable. Este método mide el contenido de ácidos en los alimentos o bebidas, específicamente la cantidad de iones hidrógeno débilmente enlazados que pueden ser liberados por los ácidos. Este valor se correlaciona bien con el amargor percibido, y es determinado mediante la valoración de ácidos en la matriz con una base estándar (Friedrich, 2001).

La acidez depende del estado de madurez de la fruta, de las condiciones ambientales aplicadas al árbol, incluyendo el clima, fertilización y condiciones de poda. Es de suma importancia conocer la acidez de los jugos ya que esto define la severidad del tratamiento de conservación a aplicar para asegurar la inocuidad del producto, vida útil y condiciones de almacenamiento. Asimismo, cambios en el intervalo de pH pueden producir desestabilización en el jugo que genera precipitados, cambios de color y otras alteraciones que afectan la calidad del producto (Roobha *et al.*, 2011; Anthon, LeStrange y Barrett, 2011).

Las características de acidez son un índice muy útil para determinar la autenticidad de los jugos de fruta. Las propiedades sensoriales de los jugos de frutas dependen en gran medida de la composición de ácidos orgánicos, los que a su vez tienen impacto en la acidez titulable y el grado de acidez (pH) del producto final (Kelebek *et al.*, 2009).

El jugo de naranja posee un pH entre 3,5 a 4,2, ubicado en un rango ácido. La acidez se debe a la variedad de ácidos orgánicos presentes en el jugo de naranja (Karovicová *et al.*, 2007), donde los ácidos mayoritarios son: ascórbico, acético, cítrico, málico e isocítrico, en algunos casos se encuentran trazas de ácido tartárico, oxálico y láctico. Las concentraciones de los ácidos orgánicos varían de acuerdo con la variedad de la naranja, condiciones de

cultivo y estado de madurez (Karadeniz, 2003; Karovicová *et al.*, 2007; Kelebek *et al.*, 2009; Khosravi *et al.*, 2015).

La acidez total titulable del jugo de naranja suele ser reportada en porcentaje o gramos entre litro (g/L) de ácido cítrico o ácido tartárico, siendo el ácido cítrico el más común. Para naranja se determina una acidez total titulable en un intervalo de 9,11-13,38 g de ácido cítrico por litro de jugo, o bien 8-12 g de ácido tartárico por litro de jugo. Una vez se hayan caracterizado las propiedades del jugo de naranja de interés es posible mantener un control de autenticidad, donde la presencia de un ácido no identificado o valores de acidez fuera de los rangos establecidos indican adulteración (Karovicová *et al.*, 2007; Kelebek *et al.*, 2009; Cuevas *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2018).

### ***3.4.3. Capacidad antioxidante lipofílica***

La capacidad antioxidante evalúa la actividad anti-radical utilizando ya sea radicales libres sintéticos o iones de metales como complejos  $\text{Fe}^{3+}$  o  $\text{Cu}^{2+}$ , como una medida de la cantidad de cierto radical libre capturado por una muestra de antioxidante de interés (Csepregi *et al.*, 2016). En general es una medida de la cantidad de radicales libres eliminados por una solución muestra, utilizada para evaluar la capacidad antioxidante de una muestra determinada (Rubio *et al.*, 2016).

En química de alimentos existen varios métodos analíticos para evaluar la capacidad antioxidante, todos se clasifican dentro de tres categorías diferentes: espectrometría, ensayos electroquímicos y cromatografía (Moharram y Youssef, 2014). El método de capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés), con algunas modificaciones realizadas a lo largo del tiempo, se ha convertido en un método utilizado ampliamente para valorar la capacidad antioxidante en muestras biológicas y alimentos, además de ser apto para determinar tanto la capacidad antioxidante hidrofílica como lipofílica (Prior *et al.*, 2003).

El ensayo ORAC se basa en el daño del radical libre a una sonda fluorescente a través del cambio de su intensidad fluorescente. El cambio de la intensidad fluorescente es un índice del grado de daño por radicales libres. La medida de la capacidad antioxidante contra el radical libre se refleja en la protección contra el cambio de fluorescencia de la sonda en el

ORAC, la cuantificación se logra utilizando el “área bajo la curva”. Este método permite la combinación entre el tiempo de inhibición como del porcentaje de inhibición del daño de los radicales libres por el antioxidante en una cantidad definida (Huang *et al.*, 2002).

El resultado de la capacidad antioxidante se reporta como micromol ( $\mu\text{mol}$ ) de Trolox equivalente (TE) por gramos de muestra ( $\mu\text{mol TE} / \text{g muestra}$ ). La capacidad antioxidante lipofílica incluye solamente componentes lipofílicos como carotenoides, no considera la actividad de componentes hidrofílicos como polifenoles y vitamina C (Rojas *et al.*, 2017).

Los antioxidantes lipofílicos que se encuentran comúnmente en la naturaleza y en frutas cítricas son tocoferoles, carotenoides, ácidos grasos insaturados, ubiquinoles, vitamina E y vitamina A (Cano *et al.*, 2002; Fernandes *et al.*, 2010). En jugo de naranja la capacidad antioxidante lipofílica se relaciona directamente con la presencia de carotenoides, terpenos, vitaminas, minerales y los posibles efectos sinérgicos entre estos compuestos (Pulido, Hernández y Saura, 2003).

En general, el aporte a la actividad antioxidante total por parte de los compuestos lipofílicos es mucho menor que por antioxidantes más potentes como la vitamina C y otros compuestos hidrofílicos que suelen estar en mayor cantidad. La contribución hidrofílica corresponde aproximadamente a un 2% de la capacidad antioxidante total (Sánchez *et al.*, 2003 b; Cano y Arnao, 2004).

Los valores de actividad antioxidante lipofílica pueden ser valores bajos como 18,4  $\mu\text{mol TE} / 100 \text{ mL}$  de jugo hasta 1 400  $\mu\text{mol TE} / 100 \text{ mL}$  de jugo, específicamente 34 TE / 100 g de jugo para L-ORAC. La capacidad antioxidante lipofílica dependerá de la composición del jugo y la concentración de sus compuestos lipofílicos, también del procesamiento y cómo este influya en las propiedades nutricionales del jugo (Pulido, Hernández y Saura, 2003; Sanchez *et al.*, 2003; Cano y Arnao, 2004; Haytowitz y Bhagwat, 2010).

#### **3.4.4. Carotenoides**

El análisis de carotenoides está compuesto por una serie de etapas, que típicamente son: extracción, saponificación, análisis cromatográfico, identificación y cuantificación (Meléndez, Vicario y Heredia, 2007 a).

La extracción de carotenoides en jugo de naranja se realiza normalmente utilizando mezclas de solventes como acetona, etanol, metanol, etilacetato, éter de petróleo, dietil éter u otros solventes no polares debido a la naturaleza lipofílica de los carotenoides. Los extractos coloreados son separados después de una agitación y separación de fases, donde la fase acuosa es desechada. Algunos procedimientos incorporan una etapa de la saponificación, donde la muestra es alcalinizada con bases como hidróxido de potasio con alguno de los solventes mencionados o agua (Cortés *et al.*, 2006 a; Meléndez, Vicario y Heredia, 2007 a; Gama y Sylos, 2007; Giuffrida *et al.*, 2013).

Los extractos se concentran y disuelven en solventes como metil ter-butyl éter (MTBE) o acetona, de donde son colocados en el sistema HPLC correspondiente, en columnas como YMC C30 (250 mm x 4,6 mm, 5  $\mu$ m). El detector de arreglo de diodos se ajusta entre 430 - 450 nm (rangos de 300 a 500 nm) para lograr identificar carotenoides. De acuerdo con la naturaleza de la matriz y el método seleccionado se utilizan combinaciones de solventes para la fase móvil tales como MTBE:metanol con compuesto antioxidante, acetonitril:metanol:etil acetato o metanol:MTBE:agua, en diferentes gradientes. De ello también depende el flujo de volumen utilizado, que varía entre 1 - 0.7 mL min<sup>-1</sup> (Gama y Sylos, 2005; Meléndez, Vicario y Heredia, 2007 a; Gama y Sylos, 2007; Fratianni, Cinquanta y Panfili, 2010;).

La posterior identificación de los carotenoides se efectúa utilizando de manera combinada los tiempos de retención, características espectrales de la matriz de diones y el orden de elución relativa, realizando la comparación con estándares y valores consultados en literatura, de manera que se logre establecer un perfil con los carotenoides presentes (Gama y Sylos, 2007).

Para llevar a cabo la cuantificación de los carotenoides se trabaja con base en la similitud en términos comportamiento y polaridad en relación con los estándares correspondientes validados. De la solución estándar se realiza una curva de calibración y se toman entre cuatro y seis alícuotas para diferentes niveles de concentración. Tanto las muestras como los puntos de la curva de calibración son determinados por métodos espectrofotométricos o HPLC (Meléndez, Vicario y Heredia, 2007 a; Fanciullino *et al.*, 2008; Rojas *et al.*, 2011).

La concentración de los pigmentos se expresa en relación con el área debajo de la curva de los estándares (Meléndez, Vicario y Heredia, 2003). Con el objetivo de precisar una concentración total de carotenoides se realiza una suma de las concentraciones de todos los componentes. La concentración de carotenoides totales suele ser expresada en micro gramos ( $\mu\text{g}$ ) o mili gramos (mg) de un carotenoide de elección (Fanciullino *et al.*, 2008).

Esta evaluación en productos cítricos cuenta con un nivel de dificultad adicional, en comparación con otros productos, no solamente porque poseen un perfil complejo de carotenoides, sino también por su acidez inherente que promueve la isomerización de los componentes y complica su identificación (Meléndez, Vicario y Heredia, 2007 b). En jugo de naranja es importante tomar en cuenta que solamente se puede realizar una cuantificación tosca, lo cual implica una subestimación del contenido de carotenoides (Meléndez, 2005 a).

El análisis produce un cromatograma que se compone de varios picos en representación de los componentes, para identificar estos picos se realiza una comparación con diluciones de estándares externos de carotenoides y valores reportados en literatura de tiempos de retención. Al asociar los picos importantes a su carotenoide correspondiente se logra definir el perfil de carotenoides y cuantificar la concentración de cada uno, de la misma forma explicada anteriormente (Pupin, Dennis y Toledo, 1999).

Los jugos de naranja tienen perfiles de carotenoides diferentes de acuerdo con la variedad de las naranjas, factores climáticos, condiciones del cultivo, entre otros (Meléndez, Vicario y Heredia, 2007 a). Asimismo, las operaciones de cosecha, post cosecha, procesamiento y almacenamiento pueden afectar la concentración de los carotenoides. Los tratamientos térmicos suelen producir degradación, o al contrario ser beneficiosos al romper las matrices del alimento, liberar y solubilizar carotenoides (Maiani *et al.*, 2008).

El perfil de carotenoides de las naranjas de la variedad Valencia suele estar compuesto por: violaxantina, isoluteína,  $\beta$ -criptoxantina, zeaxantina, carotenos, con base en estudios realizados en Brasil (Pupin, Dennis & Toledo, 1999; Gama y Sylos, 2007), España (Meléndez *et al.*, 2005 a), Israel, Belice, Florida y Cuba (Mouly *et al.*, 1999).

El contenido total de carotenoides exhibe la suma de la concentración de todos los componentes carotenoides del jugo de naranja. El jugo de naranja de la variedad Valencia, para producto fresco o comercial, reporta una concentración de carotenoides entre 1,81 -

23,71 µg / g de jugo de naranja, las variaciones se deben a la ubicación de los cultivos y sus condiciones (Mouly *et al.*, 1999; Gama y Sylos, 2005; Cortés *et al.*, 2006 b; Petry y Mercadante, 2017).

### **3.4.5. Color y diferencia colorimétrica**

El color es una respuesta mental al estímulo de una radiación visible en la retina, dicho estímulo es transmitido al cerebro por el nervio óptico. La percepción del color es un fenómeno complejo que depende en cierta medida de la composición del objeto, no en su totalidad. Las mediciones de color pueden llevarse a cabo principalmente de dos maneras: evaluación visual y análisis instrumental (Meléndez, Vicario y Heredia, 2005 b).

Los métodos instrumentales permiten analizar valores puros de las coordenadas cromáticas CIELAB: L\* (luminosidad, los valores van de 0 – 100, correspondiente a de blanco al negro), y las coordenadas a\*, b\* en ausencia de la otra. Para lograr definir el color se requiere transformar las coordenadas Cartesianas a\* (intensidad de rojo a verde, de negativo a positivo) y b\* (intensidad de amarillo a azul, de negativo a positivo) a las coordenadas cilíndricas C\*<sub>ab</sub> y h<sub>ab</sub>, donde la primera representa croma y la otra el ángulo de tono. Dichas coordenadas cilíndricas junto a la luminosidad conceden la definición de color (Johnson y Fairchild, 2003). Emplear las variables colorimétricas en conjunto con las diferencias de color nos permite evaluar la relación entre el análisis visual y numérico (Fernández *et al.*, 2011).

Para evaluar la relación entre análisis visuales y numéricos es muy importante la diferencia de colores, la cual se calculada como la distancia Euclidiana entre los dos puntos en el espacio tridimensional definido por L\*, a\* y b\*:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \text{ (Pathare, Opara y Al-Said, 2012)}$$

En la actualidad se considera que las mediciones de reflectancia producen resultados con mayor exactitud para una evaluación adecuada del color de jugo de naranja. Los jugos al ser alimentos traslúcidos comprenden una dificultad adicional. Específicamente para jugo de naranja no se ha encontrado un acuerdo sobre qué metodología es más efectiva. Además,

debe ser considerado que en los zumos de naranja la presencia de turbidez es natural, aumentando aún más la dificultad de la medición (Meléndez, Vicario y Heredia, 2005 b).

Las coordenadas colorímetras del jugo de naranja de la variedad Valencia corresponden a: L\* entre 57 – 61, a\* entre 10 – 24 y b\* entre 49 – 64. En términos de color, tienden a ser tonos muy luminosos, el parámetro a\* tiende a tonos rojizos y finalmente el parámetro b\* indica tonos amarillos (Fernández *et al.*, 2011). El procesamiento afecta los parámetros de color, lo que permite su uso para clasificar los diferentes jugos de naranja (de concentrado, recién exprimido y ultracongelado) (Stinco *et al.*, 2012).

Stinco *et al.* (2012) estudiaron las operaciones de obtención de jugo de naranja. El jugo de naranja exprimido manualmente reporta valores más oscuros (menor L\*) y rojizos, mientras los exprimidos industrialmente son más brillantes y amarillentos (valores a\* menores y b\* mayores). Es necesario aclarar que las condiciones de pasteurización de los jugos variaron entre muestras, generando cambios en el color de los jugos analizados. Los autores concluyeron que las diferencias entre el color de los jugos de naranja se deben más al proceso de extracción que al tratamiento térmico y al observar variaciones en el contenido de los carotenoides violaxantina y anteroxantina se corrobora que tanto la composición de carotenoides como el tamaño de partícula afectan el color del jugo.

La pasteurización genera degradación de compuestos carotenoides, los responsables de los colores entre amarillos y rojos. Este cambio es el responsable del aumento del valor b\* e inclinar el color a tonos de verde, a su vez, se forman compuestos pardeados que son los responsables de la disminución de la luminosidad del jugo. Zepka *et al.* (2009) evidenciaron que se puede predecir la degradación térmica de los carotenoides  $\beta$ -criptoxantina y  $\beta$ -caroteno utilizando parámetros de color tales como  $\Delta E^*$  (Pathare, Opara y Al-Said, 2013).

El jugo de naranja pasteurizado presenta valores más oscuros que el jugo fresco (Lee y Coates, 2003; Cortés, Steve y Frígola, 2008). Al comparar jugos pasteurizados con jugos frescos, la media de a\* es significativamente mayor para jugos sin tratar y la media de b\* es mayor para jugo pasteurizado que el jugo fresco, esto también lo comprueban Lee y Coates (2003), donde se observa un aumento de b\* mientras disminuye a\* al pasteurizar jugos de naranja. Jugos tratados por campo eléctrico pulsado de alta intensidad (HIPEF, por sus siglas

en inglés) dan lugar a valores de jugos significativamente más luminosos y con tonalidades más rojas (Cortés *et al.*, 2008).

Al sonicar jugo de naranja se reporta un aumento en la luminosidad ( $L^*$ ) con respecto al jugo control para todos los niveles del tratamiento (tiempo de sonicación). El valor  $a^*$  disminuye con el tiempo de tratamiento y la intensidad, inclinándose más a una tonalidad verde. Por otro lado, el valor  $b^*$  incrementa de manera directamente proporcional al tiempo de tratamiento y el nivel de intensidad, mejorando su apariencia amarilla. De acuerdo con Cortés, Steve y Frígola (2008) y Lee y Coates (2003) esto indicaría una mejor preservación de pigmentos, menor formación de compuestos pardeados y una apariencia más fresca del jugo de naranja (Tiwari *et al.*, 2008).

### **3.5. Tecnologías para el procesamiento de jugos**

#### **3.5.1. Tecnología de procesamiento térmico**

El procesamiento térmico de los alimentos ha sido aplicado a la tecnología de alimentos desde hace décadas para agregar valor o extender la vida útil de productos agrícolas y es una de las técnicas más antiguas y más ampliamente utilizadas para preservar alimentos. El tratamiento térmico consiste en una combinación de temperatura y tiempo con el objetivo de elaborar un producto estable en almacenamiento, el cual sea libre de organismos patógenos y no sea susceptible a degradación enzimática (Holdsworth, 2009; Sun, 2012; Awuah, Ramashwamy y Tang, 2015).

Para los alimentos producidos comercialmente la seguridad es de extrema importancia, pero también lo es su estabilidad, ya que un producto en malas condiciones o deteriorado no se logrará vender. Considerando el efecto de ambas condiciones, el neutralizar o reducir el efecto de microorganismos, garantizando la inocuidad del alimento, se toma como uno de los principales propósitos de los tratamientos térmicos (Tucker y Featherstone, 2011).

Los procesos térmicos, ya sean eléctricos o convencionales, están ampliamente clasificados como operaciones unitarias tales como blanquear, cocinar, secar, pasteurizar, esterilizar y cada una posee una intensidad diferente en la combinación tiempo y temperatura, que debe adaptarse al objetivo del tratamiento (Sun, 2011). Para elegir un tratamiento térmico

adecuado es imprescindible tomar en consideración la resistencia al calor de los microorganismos de interés, esporas y enzimas, acidez del alimento, condiciones de calentamiento, propiedades termofísicas del alimento, tamaño del recipiente y condiciones de almacenamiento del producto terminado (Sandeep, 2011; Sun, 2011).

El aumento en la vida útil de los productos afecta otras características asociadas con sabor, color, textura y valor nutricional. Los tratamientos térmicos se aplican con la intención de mantener en un mínimo los cambios en el valor nutricional y la calidad del alimento. Esto es de especial cuidado porque la exposición a calor, por más mínima que sea, puede promover reacciones que afectan la calidad de los alimentos tanto en factores subjetivos, como sabor, como en factores cuantificables tales como degradación de vitaminas, minerales, pigmentos o desnaturalización de proteínas (Awuah, Ramaswamy y Economides, 2007). Los cambios en estos factores varían en diferentes grados de acuerdo con el tipo de nutriente involucrado y la intensidad del tratamiento térmico aplicado, a causa de que la degradación térmica de nutrientes es muy común durante el procesamiento (Karmas y Harris, 2012; Barba *et al.*, 2019).

Adicional a los cambios en las propiedades fisiológicas (viscosidad, color, pérdida de apariencia fresca) hay otros factores que afectan la calidad nutricional de los alimentos, como la formación de componentes tóxicos durante el tratamiento térmico: aminos heterocíclicos, melanoidinas y lisinoalanina e hidroximetil furfural (Arnoldi, 2001; Edward y Shike, 2006; Rawson *et al.*, 2011).

Gama & Sylos (2007) demostraron pérdidas en el contenido de carotenoides totales alrededor de 13% para jugos pasteurizados y 17% para jugos concentrados, Brasili *et al.* (2017) experimentaron con jugos de naranja de dos variedades y encontraron pérdidas entre 10 - 14% con respecto a los carotenoides del jugo fresco y Fratianni, Cinquanta y Panfili (2010) observaron degradación de 12 a 50% al tratar el jugo en microondas con temperaturas entre 70 – 85 °C.

Los tratamientos térmicos continúan predominando en los métodos de conservación aplicados en la industria porque, en algunos casos, hay cambios esperados y deseados durante el tratamiento. Otro factor es su alta efectividad en el control microbiológico, variedad de alimentos que pueden ser sometidos a dichos tratamientos, accesibilidad, eficiencia y bajo

costo. De ahí que uno de los mayores desafíos para la industria es la aplicación de tratamientos térmicos que no comprometan la calidad nutricional de los alimentos (Ohlsson y Bengtsson, 2002; Gil, 2010; Segura, 2011; Karmas y Harris, 2012).

### ***3.5.2. Tecnologías de procesamiento alternativas***

En la última década se ha observado un desarrollo en el interés de los consumidores por alimentos nutritivos, lo más cercanos a frescos, con una gran calidad sensorial. Las nuevas tecnologías alternativas poseen gran potencial en su capacidad preservante y la capacidad de conseguir nuevos efectos funcionales interesantes. Los productos procesados por medio de estos métodos cumplen con las expectativas de los consumidores ya que destacan por su calidad, al comparar con métodos térmicos tradicionales de preservación, a la vez que incluyen mejoras para la industria en costos, energía y tiempo (Tewari, 2007; Jan *et al.*, 2017; Arora y Chauhan, 2019).

Las tecnologías no térmicas son aquellas que resultan efectivas a temperatura ambiente o por debajo de la temperatura de letalidad. Estas tecnologías existen con el propósito de cumplir con los requisitos de inocuidad de los productos alimenticios o demandas de almacenamiento, al mismo tiempo que reducen los efectos negativos de procesamiento sobre las cualidades nutricionales y de calidad de la materia prima. Para estudiar el uso de estas tecnologías en la industria alimentaria se comienza desde un punto de vista microbiológico, asimismo se toman en consideración las características sensoriales y calidad nutricional de la materia prima original que se desean preservar al disminuir o eliminar la exposición al calor (Tewari, 2007; Cullen, Brijesh y Valdramidis, 2011; Zhang *et al.*, 2011).

Agregado a la gran capacidad de inactivación de enzimas y microorganismos, preservación de sabor, color y valores nutricionales y funcionales, a estas tecnologías se les atribuye un requerimiento de energía menor producto de una mayor eficiencia. Es decir, el impulso fundamental para cualquier tecnología alternativa reside en razones económicas y la ecología del proceso en conjunto con la calidad del producto final (Delgado *et al.*, 2011).

Entre las tecnologías alternativas emergentes que se estudian actualmente existen tratamientos de HIPEF, alta presión hidrostática, radiación, luz ultravioleta y ultrasonido, las

cuales son consideradas como las más prometedoras. En algunos casos es apropiado la combinación de tecnologías de preservación alternativas con métodos tradicionales o entre ellas, de manera que se generen efectos sinérgicos y se logre obtener así un producto seguro y de alta calidad (Zhang *et al.*, 2011; Ortega, 2012).

Cada tecnología posee ventajas y desventajas en su aplicación, las cuales deben ser consideradas paralelamente a las características de los productos. Cada tecnología emergente posee diferentes modelos de acción sobre microorganismos y enzimas, por lo tanto, existe la necesidad de combinar procesos de manera apropiada. Actualmente se estudian, en gran parte de manera empírica, modelos del mecanismo de inactivación de microorganismos y enzimas, daño y recuperación, por consiguiente, se trabaja en la posibilidad de diseñar dichos procesos con una base científica sólida que permitan expansión a un proceso de mayor alcance (Condón, Mañas y Cebrián, 2011).

### **3.6. Ultrasonido como tecnología de procesamiento**

#### ***3.6.1. Principio de funcionamiento del equipo de ultrasonido***

El ultrasonido es una forma de energía generada por ondas de sonido a frecuencias muy altas, mayores a 20 kHz, donde el oído humano no es capaz de percibirlos. En general, el ultrasonido hace referencia a las ondas de presión acústicas con frecuencia mínima de 20 kHz. Las ondas de sonido se dividen normalmente en dos categorías de intensidad utilizadas por los equipos: ondas de alta intensidad (ultrasonido de baja intensidad) y ondas de baja intensidad (ultrasonido de alta intensidad) (Butz y Tauscher, 2002; Singh y Kumar, 2019).

El sistema productor de ondas ultrasónicas está compuesto por un generador, transductor y el sistema de aplicación. El generador es el encargado de producir la energía eléctrica o mecánica y el transductor convierte esta energía a sonido a frecuencias ultrasónicas (Ercan y Soysal, 2013). El sonido es una onda mecánica que viaja en línea recta y requiere un medio a través del cual recorrer. Durante esta propagación las partículas del medio son sometidas a compresión y descompresión, produciendo grandes cantidades de energía (Rana, Mena y Shweta, 2017).

### **3.6.2. Aplicación de ultrasonido en la industria alimentaria**

En el tiempo actual, el ultrasonido es considerado una tecnología emergente prometedora en la industria de procesamiento de alimentos, gracias a los cambios mecánicos, químicos y bioquímicos generados (Bates y Patist, 2010; Misra *et al.*, 2018).

En la aplicación alimentaria se reconoce que el empleo de ultrasonido en procesamiento, pasteurización y extracción implica una reducción del tiempo de procesamiento, uso de solventes, consumo de energías no renovables y eliminación de tratamiento de aguas (Chemat *et al.*, 2017 a; Chemat *et al.*, 2017 b).

La clasificación de las aplicaciones del ultrasonido se basa en la cantidad de energía del campo de sonido. El ultrasonido de baja intensidad no posee propiedades destructivas, tiene funciones en el monitoreo de productos alimenticios durante el procesamiento y almacenamiento, evaluar la composición fisicoquímica de productos, entre otros procesos alimenticios de control de calidad no invasivos (Rana, Mena y Shweta, 2017; Roselló *et al.*, 2019).

El ultrasonido de alta intensidad es disruptivo por naturaleza, es decir, tiene un efecto sobre las propiedades físicas, mecánicas o bioquímicas de los alimentos. Tratamientos de alta potencia son útiles en procesos de emulsificación, contribuyen a procesos de congelación y descongelación, inactivación microbiana, secado, modificación y control de cristalización, inactivación de enzimas, mejoración de secado y filtración (Muredzi, 2012; Singh y Kumar, 2019).

Una alta intensidad puede utilizarse como un componente adicional al desarrollo de jugos mínimamente procesados, con un factor de letalidad consecuencia de la cavitación, fenómeno que es descrito más adelante. El tratamiento por sí solo no es completamente efectivo en la destrucción de microorganismos en alimentos, dado que requiere tiempos de procesamiento muy altos. Al incorporar al procesamiento otras tecnologías emergentes o alternativas, como alta presión o sintéticos o temperatura moderada, se observa una mejora significativa en la disminución de población microbiana (Guerrero, Tognon & Alzamora, 2005; Demírdöven y Baysal, 2009; Char *et al.*, 2010).

Un sistema de alimentos puede ser sujeto a ultrasonido mediante dos formas: directo e indirecto. El método directo mantiene el alimento en contacto con el elemento ultrasónico

directamente, que puede ser una sonda o un cuerno sónico. En el método indirecto el transductor se encuentra sobre una superficie y el ultrasonido debe transferirse a través de una pared para llegar al alimento, como en los baños de agua ultrasónicos (Hui, 2006; Proctor, 2018).

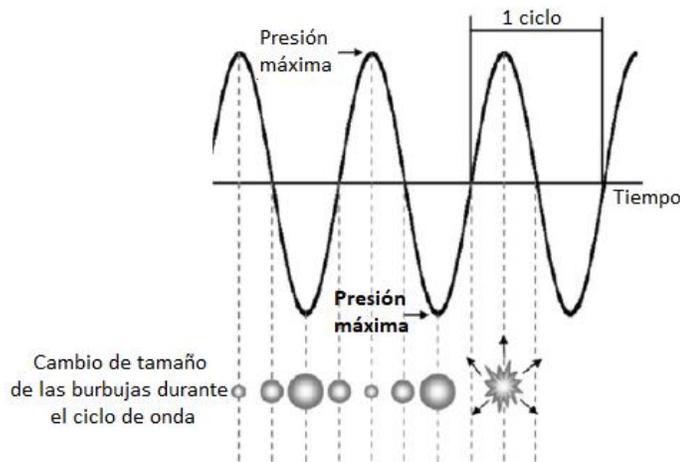
### ***3.6.3. Efecto de preservación del ultrasonido***

El ultrasonido permite la disrupción de células biológicas, emulsificaciones, junto a la inactivación enzimática y de microorganismos. La capacidad de inactivación microbiana de los tratamientos de ultrasonido es dependiente, principalmente, de la estructura de membrana de los microorganismos. Una pared celular más gruesa o la presencia de membrana representan una dificultad adicional (Piyasena, Mohareb y Mckellar, 2003).

El sistema ultrasónico convierte energía eléctrica en energía vibracional y la transmiten al medio. Una parte de esta energía produce cavitación. En líquidos las ondas ultrasónicas se propagan de manera longitudinal al crear ciclos de expansión y compresión alternados. Al combinar cambios rápidos de presión se producen zonas localizadas de presión reducidas, generando el fenómeno de cavitación que comienza con la formación de pequeñas burbujas de gas en un medio líquido (Leong, Ashokkumar y Kentish, 2011; Zinoviadou *et al.*, 2015).

Las burbujas formadas por cavitación se expanden hasta alcanzar el punto donde ocurre una condensación acelerada, las moléculas condensadas colisionan violentamente ocasionando ondas de choque (Figura 1). Las burbujas generadas en el medio crecen e implosionan durante la propagación de ondas sonoras en el líquido. El colapso de las burbujas de cavitación va de la mano con incrementos altísimos de temperatura y presión (Terefe, Sikes y Juliano, 2016; Jan *et al.*, 2017).

Las ondas de choque liberan grandes cantidades de energía, alcanzando aumentos de temperatura y presión que rondan los 5500 °C y 50 000 kPa, respectivamente, en forma de regiones. Los cambios de presión en estas zonas son el efecto bactericida primario, las zonas calientes pueden eliminar algunas bacterias, pero son muy localizadas y no afectan regiones lo suficientemente amplias (Piyasena *et al.*, 2003; Herrero y Romero, 2006; Char *et al.*, 2010).



**Figura 1.** Formación ultrasónica de burbujas y cavitación.

Adaptado de Soria y Villamiel (2010)

La cavitación intracelular es el elemento responsable de la destrucción microbiana. Produce desengrosamiento de las membranas celulares, calentamiento localizado, fuerza de cizalla gigantesca, escisión homolítica de moléculas de agua y producción de radicales libres. Estos fenómenos a nivel citoplasmático producen daños a estructuras celulares y componentes funcionales hasta generar lisis de las células, lo que ocasiona daños a los microorganismos (Demirdöven y Baysal, 2009; Chemat, Zill-e-Huma y Khna, 2011; Ercan y Soysal, 2011).

La efectividad de los efectos del ultrasonido es monitoreada tomando en consideración los parámetros físico-químicos de las bebidas, composición y el microorganismo o enzima objetivo para la inactivación. Otros factores importantes son la amplitud de las ondas ultrasónicas, tiempo de exposición, volumen de alimento procesado y la temperatura del tratamiento (Muredzi, 2012; Yikmis, 2016).

#### **3.6.4. Efecto del ultrasonido sobre características sensoriales**

La aplicación de ultrasonido en el procesamiento de alimentos se distingue por preservar la calidad de jugos y bebidas, así como se reporta un efecto mínimo en la calidad de jugos de frutas, tales como jugo de naranja (Tiwari *et al.*, 2008; Deng *et al.*, 2017). Algunos estudios realizados en jugos de tomate, fresa, manzana y pomelo no muestran

cambios en pH, °Brix o acidez una vez aplicado el tratamiento por ultrasonido (Tiwari *et al.*, 2008; Adekunle *et al.*, 2010), de igual modo varía con la matriz, como en cítricos (Bhat *et al.*, 2011) que sí se registra una disminución de °Brix.

El color sobresale al determinar la calidad de los alimentos, es el criterio visual con más peso para la selección del consumidor. Por lo tanto, es sumamente importante considerar reportes en cambios de color en alimentos sólidos y líquidos al ser procesados por sonicación, sujetos a variaciones en las condiciones del tratamiento. Se advierten cambios en matrices como pardeamiento no enzimático de leche, cambios de color en jugos de fruta y cidra de manzana (Pringet, Fabiano-Tixier y Chemat, 2013).

No obstante, experimentos sobre jugo de mango fresco (Santhirasegaram, Razali y Somasundram, 2013), manzana (Abid *et al.*, 2014 a) y naranja (Tiwari *et al.*, 2009) resaltan que, aunque tanto en tratamientos térmicos como por ultrasonido se reportan cambios significativos de color, los jugos sonicados tienen cambios de color más ligeros. En otros casos no se descubre diferencia significativa en color en jugo de arándanos (Waheeda, 2011) o incluso mejora su calidad en comparación con el jugo (Simunek *et al.*, 2013).

Los diferentes efectos en el color son causa de los efectos de cavitación, generadores de reacciones físicas, químicas y biológicas. En algunos casos la cavitación destruye microorganismos y enzimas encargadas del deterioro del color o pardeamiento, mejorando la calidad del producto. La misma cavitación puede producir reacciones aceleradas de isomerización de carotenoides o degradación de compuestos coloreados, afectando negativamente a este parámetro de calidad (Ibarz *et al.*, 2005; Tiwari *et al.*, 2009).

El valor de nube en jugos es considerado un buen indicador de calidad en vista de que valores altos denotan buen color y sabor (Cameron, 1999). Existen estudios que demuestran que la aplicación de ultrasonido a jugos conlleva a una mejora significativa del valor de nube (Tiwari, 2009; Chemat, Huma y Khan, 2011; Chen, Yu y Rupasinghe, 2013).

El gradiente de presión, producto de la cavitación, logra romper moléculas grandes y reducirlas. Muchas moléculas más pequeñas son dispersadas y suspendidas con mayor facilidad en el jugo, con lo que se obtiene un jugo con mejor homogeneización (Aadil *et al.*, 2013).

Así mismo, el ultrasonido genera cambios en viscosidad. Esta alcanza valores mayores o menores, tanto permanentes como temporales. El efecto de cizalla genera disminución, donde para crear un efecto permanente es necesario una aplicación mínima de energía para preservar el cambio durante el almacenamiento debido a los cambios de peso molecular (Ojha, Tiwari y O'Donnell, 2018).

Como tecnología no térmica al ultrasonido se le atribuye una mejor preservación de propiedades sensoriales, como el caso de Ertugay y Başlar (2014) que encontraron un mejor aroma y sabor en jugo de manzana determinado con panelistas. Debe tomarse en consideración que el ultrasonido también puede liberar compuestos o desintegrar otros, lo que ocasiona una mejora por nuevos componentes aromáticos o consigue degradar sus propiedades y generar productos de calidad inferior (Başlar *et al.*, 2016).

### ***3.6.5. Efecto del ultrasonido sobre calidad nutricional***

El procesamiento con ultrasonido ha demostrado un impacto mínimo en los componentes nutricionales clave de los jugos de frutas. En algunos casos se reporta incluso un aumento de componentes antioxidantes y bioactivos. Del mismo modo, es necesario considerar que los estudios realizados con valores altos de intensidad suelen reportar mayor degradación de valor nutricional (Ojha, Tiwari y O'Donnell, 2018).

Estudios en jugo de manzana (Abid *et al.*, 2013) y pomelo (Aadil *et al.*, 2013) reflejan un aumento significativo en la concentración de ácido ascórbico producto de la aplicación de ultrasonido durante 60 y 90 min y 30, 60 y 90 min respectivamente. En estos casos se conserva por causa de la formación de burbujas que remueven el oxígeno disuelto en el jugo, así se reducen las reacciones de oxidación en el alimento.

En estudios de jugo de naranja el ácido ascórbico logra ser preservado con cambios mínimos, como ejemplo está el experimento realizado por Tiwari *et al.* (2009) que obtiene, con las condiciones más intensas, una reducción máxima inferior a 5%. En otros casos, se nota degradación por la formación de radicales libres y condiciones físicas extremas, generadas al aplicar ultrasonido, que dan lugar a reacciones de oxidación. En general, el comportamiento de la concentración de ácido ascórbico después del tratamiento depende de la matriz y la intensidad del tratamiento (Valdramidis *et al.*, 2010).

La concentración de compuestos fenólicos y carotenoides se ve mejorada en tratamientos realizados en jugo de manzana (Abid *et al.*, 2014 b). En puré de frambuesa se reportan mejoras significativas en el contenido de antocianinas con respecto al blanco, con un contenido total de polifenoles no alterado y mejorado significativamente (Golmohamadi *et al.*, 2013).

Los componentes fenólicos y carotenoides se encuentran en estructuras celulares en forma soluble o ligados a la membrana celular (Zinoviadou *et al.*, 2015). El aumento en la concentración de los componentes bioactivos se atribuye al aumento de temperatura por una frecuencia alta y a la eficiencia de la extracción del ultrasonido que causa disrupción de las paredes celulares biológicas y finaliza en la liberación de dichos componentes bioactivos ligados (Golmohamadi *et al.*, 2013; Zafra-Rojas *et al.*, 2013; Abid *et al.*, 2014 b).

También, en otras matrices como jugo de melón (Fonteles *et al.*, 2012) y jugo de sandía (Rawson *et al.*, 2010) con incrementos de temperatura de 25 °C a 45 °C, se presentan variaciones no significativas y disminuciones importantes en la concentración de polifenoles totales. Algunos carotenoides como el licopeno son también degradados o mejorados ligeramente, obteniendo el segundo efecto al trabajar con ultrasonido a amplitudes bajas (Fonteles *et al.*, 2012).

La degradación de los polifenoles y carotenoides se lleva a cabo por un mecanismo similar al de la degradación del ácido ascórbico. Las condiciones físicas extremas dan lugar a radicales libres que generan reacciones de oxidación sobre los carotenoides y los polifenoles por su naturaleza antioxidante. Los carotenoides también son susceptibles a los efectos intensos de cizalla del tratamiento ultrasónico, por lo que tratamientos intensos pueden dar lugar a su degradación (Santhirasegaram *et al.*, 2013; Zinoviadou *et al.*, 2015).

Es importante destacar el experimento realizado por Santhirasegaram *et al.* (2013) en jugo de mango donde se observó una pérdida en la concentración de carotenoides para el tratamiento con el tiempo más prolongado. Las pérdidas fueron significativamente menores que las procedentes de un tratamiento térmico. De manera preliminar Wong (2010) en su trabajo de tesis doctoral, reportó cerca de un 50% de pérdida de carotenoides totales. Contrario a los resultados anteriores Guerrouj *et al.* (2016) sometieron jugo de naranja a entre

1 – 30 min de sonicación y para todos los tiempos reportaron un incremento significativo en la concentración de carotenoides.

Comparaciones de jugos sometidos a ultrasonido han demostrado mejores cualidades nutricionales que los jugos tratados por métodos térmicos convencionales, en términos de actividad antioxidante, contenido de polifenoles totales, vitamina C, entre otros, demostrando que el ultrasonido es una alternativa eficaz para preservar la calidad nutricional de los productos como se ha comprobado con mora negra, naranja, zanahoria, espinaca y pomelo (Aadil *et al.*, 2013; Aadil *et al.*, 2015; Bevilacqua *et al.*, 2016; Khandpur y Gogate, 2015).

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Localización del proyecto**

El proyecto se llevó a cabo en el campus principal de la Universidad de Costa Rica: Ciudad Universitaria Rodrigo Facio. La sonicación del jugo se realizó en el laboratorio de Química de la Escuela de Tecnología de Alimentos y los análisis fisicoquímicos se realizaron en el laboratorio de Química del Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos (CITA).

### **4.2. Materia prima**

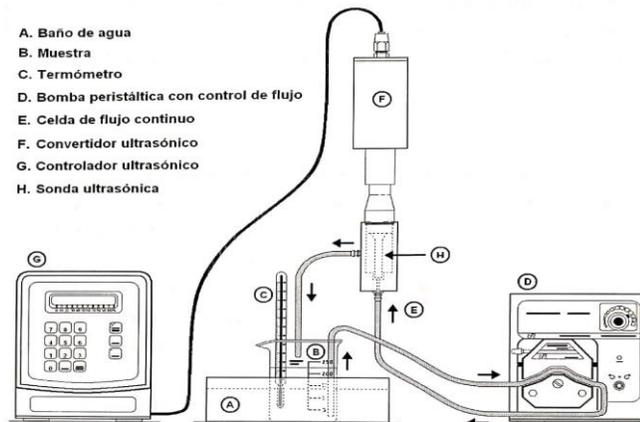
Se utilizaron naranjas de la variedad Valencia. El jugo se exprimió directamente en las instalaciones del supermercado PriceSmart (Zapote, San José, Costa Rica), utilizando un equipo Zumex, modelo Speed S+Plus (ver Figura 12 en Anexos) perteneciente a la marca Fresquita (El Guarco, Cartago, Costa Rica). Esta empresa trabaja con esta variedad de naranja de los proveedores TicoFrut y Cítricos SantaFe. Las cosechas utilizadas corresponden al mes de enero y producidas en los cantones de la provincia Alajuela: Upala, Los Chiles y San Carlos.

Las muestras de jugo comprado fueron exprimidas y compradas el día anterior al procesamiento. El volumen adquirido fue 1,89 L de jugo distribuido en dos botellas plásticas traslúcidas de 945 mL cada una. Se mantuvieron en refrigeración (7 °C) desde la compra, protegidas de la exposición a la luz, hasta el momento de procesamiento donde se mantuvieron a 25 °C. El intervalo de tiempo entre la compra y el uso del jugo fue el mismo para todos los lotes. El contenido de sólidos solubles del jugo se encontró entre 9,12 – 9,34 °Brix, para una acidez total entre 0,787 – 1,086 g ácido cítrico / 100 g de jugo.

### **4.3. Descripción del tratamiento**

#### ***4.3.1. Equipo utilizado***

Se utilizó un procesador ultrasónico modelo CP-750 (Coleman-Parmer Instrument Company, Vernon Hills, IL), que corresponde a las partes E, F, G, H mostradas en la **Figura 2** del diagrama del equipo de sonicación a utilizar.



**Figura 2.** Diagrama del equipo de sonicación con recirculación continua utilizado para la aplicación del tratamiento sobre el jugo de naranja.

Fuente: Wong (2010)

El equipo cuenta con una celda cilíndrica con una capacidad de 60 mL dentro de la cual se colocó una sonda (H) de 13 mm de diámetro posicionada en el centro de la celda que es la encargada de transmitir las ondas ultrasónicas. Se aplicó una frecuencia determinada utilizando un convertidor ultrasónico sobre los 60 mL de muestra directamente contenida dentro de la celda. El controlador ultrasónico cuenta con un panel de control del tiempo, amplitud y frecuencia aplicada. El jugo realizó un recorrido circular, indicado por las flechas en la figura, mediante el bombeo por la bomba peristáltica (D), donde después del tiempo correspondiente vuelve al beaker.

Se controló el tiempo de residencia de la muestra dentro de la celda haciendo uso de las velocidades disponibles en la bomba peristáltica. Los números indicados en el panel de la bomba corresponden a una escala nominal, no cuenta con una unidad de flujo volumétrico definida, solamente corresponde a una escala numérica. Por lo tanto, se trabajó con el flujo volumétrico y el tiempo de residencia dentro de la celda, para determinar el tiempo de tratamiento total para aplicar ultrasonido sobre el volumen de muestra necesario (ver cálculo en Anexos).

#### 4.3.1. Aplicación de los tratamientos

Dado que la temperatura del fluido aumenta durante el tratamiento, el jugo se mantuvo en un beaker en un baño de hielo para mantener una temperatura alrededor de  $25 \pm 2$  °C durante el tratamiento. La muestra de 300 mL fue bombeada a la cámara de tratamiento a un flujo de 106 mL/min utilizando la bomba en la velocidad 1, con un tiempo total de operación para cada tiempo de tratamiento indicado en el Cuadro I.

Todo el circuito se autoclavó antes de la aplicación de los tratamientos sobre el producto de interés. Las condiciones de funcionamiento se basan en el estudio realizado por Wong (2010) donde utiliza tiempos de sonicación dentro de la celda entre 0 min y 30 min. En este experimento los tiempos totales de recirculación se encontraron entre 0 y 105 minutos. Se ha evidenciado que es necesario trabajar dentro de estos ámbitos de tiempo para generar un efecto significativo, en combinación con otras tecnologías, de reducción microbiana para asegurar la inocuidad del producto (Raso y Barbosa, 2003). Por otro lado, tiempos mayores a los seleccionados no son considerados factibles para su aplicación industrial. Los parámetros se resumen en el Cuadro I.

**Cuadro I.** Condiciones de operación definidas para la aplicación del ultrasonido en modo continuo en muestras de 300 mL de jugo de naranja.

<b>Condición de operación</b>	<b>Valor</b>
Volumen de muestra	300 mL
Temperatura del producto	$25 \pm 2$ °C
Flujo volumétrico	106 mL/min
Tiempo de tratamiento total	0, 20, 40, 60, 80 y 105 min
Tiempo efectivo de tratamiento	0, 4, 8, 12, 16, 21 min
Frecuencia	20 kHz
Amplitud de onda máxima	40%
Potencia	$50,0 \pm 0,2$ W
Fuerza de tratamiento	0,83 W/mL

#### **4.4. Descripción del experimento**

##### ***4.4.1. Evaluación del efecto del tiempo de sonicación sobre el perfil y contenido de los principales carotenoides en jugo de naranja***

###### ***4.4.1.1. Diseño experimental estadístico***

Se utilizó un diseño de bloques al azar unifactorial con seis niveles, donde cada nivel corresponde a un tiempo de sonicación aplicado al jugo de naranja. El único factor evaluado es el tiempo como variable continua.

###### ***4.4.1.2. Procedimiento experimental***

Se realizó sonicación de tres lotes independientes de muestras del jugo de naranja extraído el día anterior al experimento, de manera continua a seis tiempos de tratamiento diferentes. Con las muestras tratadas a diferentes tiempos y sus respectivas repeticiones se realizó un análisis del perfil de los principales carotenoides (ver sección 4.5.5.2) y su contenido (ver sección 4.5.5.3).

###### ***4.4.1.3. Análisis estadístico de datos***

Para ver la significancia del tiempo de sonicación sobre el contenido de los principales carotenoides y el total se realizó un análisis de varianza, para el que se utilizó el programa para análisis estadístico JMP 5.0.1.2, con un nivel de significancia del 5% con estos parámetros como variables respuesta, con el tiempo como único factor continuo.

##### ***4.4.2. Evaluación del efecto del tiempo de sonicación sobre la actividad antioxidante lipofílica***

###### ***4.4.2.1. Diseño experimental estadístico***

Se utilizó un diseño de bloques al azar unifactorial con seis niveles, donde cada nivel corresponde a un tiempo de sonicación aplicado al jugo de naranja. El único factor analizado es el tiempo como variable continua.

#### ***4.4.2.2. Procedimiento experimental***

Se realizó sonicación de tres lotes independientes de muestras del jugo de naranja extraído el día anterior a la corrida del experimento, de manera continua a seis tiempos de tratamiento efectivo diferentes, donde cada tiempo se trabajó con tres repeticiones y un jugo de naranja control que no fue sonificado. Con las muestras tratadas a diferentes tiempos y sus respectivas repeticiones se realizó un análisis de la actividad antioxidante lipofílica (ver método en sección 4.5.6).

#### ***4.4.2.3. Análisis estadístico de datos***

Para ver la significancia del tiempo de sonicación sobre la actividad antioxidante lipofílica se realizó un análisis de varianza, para el que se utilizó el programa para análisis estadístico JMP 5.0.1.2, con un nivel de significancia del 5% con estos parámetros como variables respuesta, con el tiempo como único factor continuo.

### ***4.4.3. Evaluación de la sonicación sobre el cambio de color del jugo de naranja***

#### ***4.4.3.1. Diseño experimental estadístico***

Se utilizó un diseño de bloques al azar unifactorial con seis niveles, donde cada nivel corresponde a un tiempo de sonicación aplicado al jugo de naranja. El único factor evaluado es el tiempo como variable continua.

#### ***4.4.3.2. Procedimiento experimental***

Se realizó sonicación de tres lotes independientes de muestras del jugo de naranja extraído el día anterior de corrida del experimento, de manera continua a seis tiempos de tratamiento efectivo diferentes, donde cada tiempo se trabajó con tres repeticiones y un jugo de naranja control que no fue sonificado. Se determinó el color de la muestra control como referencia para el cambio de color de los seis niveles de tiempo (ver sección 4.5.7).

#### ***4.4.3.3. Análisis estadístico de datos***

Para ver la significancia del tiempo de sonicación sobre el cambio de color se realizó un análisis de varianza, para el que se utilizó el programa para análisis estadístico JMP

5.0.1.2, con un nivel de significancia del 5% con estos parámetros como variables respuesta, con el tiempo como único factor continuo.

#### **4.5. Métodos instrumentales de análisis**

##### ***4.5.1. Sólidos solubles***

Se trabajó con el método AOAC 932.12 (AOAC, 2005 a), para lo cual se utilizó un refractómetro de Abbé con control de temperatura. La temperatura de las muestras fue alrededor de 20°C. Los resultados se reportan en °Brix.

##### ***4.5.2. Contenido de humedad***

Se realizó la determinación de la humedad de las muestras y el control empleando el método oficial descrito por AOAC 950.151 (AOAC, 2005 c). Se utilizó una estufa de convección a 60°C.

##### ***4.5.3. Acidez total titulable***

Se determinó la acidez total titulable del jugo de naranja siguiendo el método oficial de AOAC 942.15 (AOAC, 2015 b). El valor se expresó como gramos de ácido cítrico equivalentes por 100 mL de producto. Se utilizó un factor de conversión correspondiente al ácido seleccionado para reportar el valor final.

##### ***4.5.4. pH***

Se determinó el pH de las muestras de jugo de naranja utilizando el procedimiento oficial de AOAC 981.12 de pH para alimentos acidificados, se dejó estabilizar las muestras a temperatura ambiente para sumergir los electrodos (AOAC, 2005 a).

##### ***4.5.5. Carotenoides***

###### ***4.5.5.1. Extracción de carotenoides***

Para la extracción de los carotenoides se utilizaron los pasos indicados por Giuffrida *et al.* (2013) de extracción de carotenoides en jugo, para su cuantificación por HPLC. Se utilizan disoluciones de metanol / acetato de etilo / éter de petróleo con antioxidante, dietil

éter, solución saturada de NaCl y metanol. El equipo HPLC utilizado es LC-10<sup>a</sup> HPLC Series, Shimadzu, Kyoto, Japan. Con detector de arreglo de diodos SPD-M20AV.

#### **4.5.5.2. Perfil de carotenoides**

Mediante inyección en un equipo cromatografía líquida de alta presión acoplado a un detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) de los extractos de carotenoides y el uso de patrones de los principales carotenoides seleccionados de acuerdo con estudios realizados por Aschoff *et al.* (2014), Meléndez, Vicario y Heredia (2007 b), Petry y Mercadante (2017), Wei *et al.* (2018) y Rodrigo *et al.* (2015), se realizó una comparación en el perfil de dichos carotenoides de los jugos de naranja, de acuerdo con la metodología utilizada por Giuffrida *et al.* (2013).

La separación se ejecutó en una columna YMC C30 Carotenoid, 4,6 mm ID x 150 mm, S-3  $\mu$ m y su respectiva precolumna. El sistema de fases móviles consiste en: MeOH / MTBE / Agua (81 / 17 / 2) como fase móvil A y acetonitrilo MeOH / MTBE / Agua (10 / 88 / 2) como fase móvil B. El sistema de gradiente se programó: 0 a 5 min 20% A, 5 a 7 min de 20% a 27% A, 7 a 15 min de 27% a 37,5% A, 15 a 20 min 37,5 % A, 20 a 30 min 37,5% a 55% A, 30 a 35 min a 90% A, 35 a 37 min 90-20% A. Se utilizó un flujo de 0,6 mL/min a 30°C y un volumen de inyección de 10  $\mu$ L.

#### **4.5.5.3. Contenido de los principales carotenoides**

El contenido de los principales carotenoides de las muestras se determinó utilizando la metodología elaborada por Giuffrida *et al.* (2013), donde se emplean patrones y una curva de calibración en un rango de concentración de 10 a 100 mg/mL por medio de HPLC. Para la identificación de los carotenoides se trabajó con patrones de luteína y  $\beta$ -criptoxantina, así como la curva de calibración correspondiente para su cuantificación. Otros cinco carotenoides fueron encontrados en el jugo de naranja, su cuantificación se reportó como equivalente de  $\beta$ -criptoxantina. El contenido total de carotenoides consistió en la sumatoria de las áreas de los picos en consideración y expresados en mg/L como equivalentes de  $\beta$ -criptoxantina.

#### 4.5.6. ORAC L

La determinación de la actividad antioxidante lipofílica del jugo de naranja se realizó mediante el método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) lipofílico, con base en el procedimiento elaborado por Rojas *et al.* (2017) y Huang *et al.* (2002), al cual se le aplicaron una serie de variaciones.

Se trabajó con 100  $\mu\text{L}$  de jugo de naranja que fueron diluidos en 10 mL del disolvente de extracción que consistió en una disolución de agua/MeOH (1:1), 7% RMCD. El RMCD cumple la función de intercambiador de fases, ya que cuenta con la capacidad de mejorar la solubilidad de los antioxidantes lipofílicos en soluciones acuosas (Huang *et al.*, 2002). Se utilizaron patrones de Trolox en concentraciones entre 15 – 75  $\mu\text{mol/L}$  y las disoluciones de trabajo de fluoresceína y de radical libre AAPH se encontraban en concentraciones de 81,87 nmol/L y 0,145 M, respectivamente.

#### 4.5.7. Color

Para esta medición se utilizó un colorímetro Color Flex Hunterlab modelo 45-0 (Hunter Lab, Estados Unidos). Los valores se expresan en la escala CIELAB, utilizando los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . Se utilizó un iluminador tipo D65, con un ángulo de observación de  $10^\circ$  (Gonnet, 1998). El equipo utilizado se encuentra en el Laboratorio de Química de Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos que fue manejado con una cápsula blanca para evitar errores de lectura debido a la calidad translúcida del jugo.

Los valores CIE  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  se utilizaron para calcular la diferencia total de color ( $\Delta E^*$ ) utilizando la fórmula:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Donde  $\Delta L^*$ ,  $\Delta a^*$  y  $\Delta b^*$  son las diferencias entre el color de los jugos de naranja sometidos a diferentes tratamientos (Cortés *et al.*, 2006 a). El  $\Delta$  se utiliza como indicador de cambio para cada parámetro de color. Para todos los valores  $\Delta E$  la comparación se realiza entre el jugo fresco (tiempo 0 min) y alguno de los tiempos de sonicación (20 – 105 min). Es decir, la fórmula se desarrolla de la siguiente manera:

$$\Delta E^* = [(L^*_{0-} - L^*_{t})^2 + (a^*_{0-} - a^*_{t})^2 + (b^*_{0-} - b^*_{t})^2]^{1/2}$$

Donde los valores con el subíndice “0” corresponden a las lecturas del jugo fresco y los del subíndice “t” a las lecturas de los tiempos entre 20 min y 105 min.

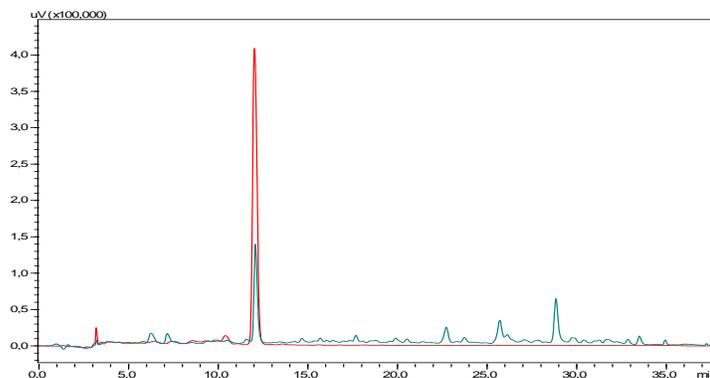
## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Carotenoides en el jugo de naranja

#### 5.1.1 Perfil de carotenoides

El método seleccionado para realizar la extracción de carotenoides de las muestras de jugo de naranja se concentra en la recuperación de carotenoides de jugo, jalea y melocotón. El método comprobó la extracción exitosa de carotenoides en dichas matrices, por lo que es posible respaldar su eficacia (ver Figura 3) (Giuffrida *et al.* 2013). Asimismo, el análisis HPLC se concentra en la separación de carotenoides (referencia método HPLC-CITA). Debido a la presencia de los dobles enlaces conjugados de los carotenoides, la mayoría absorbe en un rango entre 400 – 500 nm (Kopec *et al.*, 2012), por lo que los análisis se realizaron dentro de este intervalo (450 nm).

La identificación del perfil de carotenoides del jugo de naranja se realizó con disoluciones estándares de carotenoides que fueron comparadas con los cromatogramas obtenidos por HPLC-DAD del jugo de naranja fresco. La identificación se basó en los tiempos de retención de los picos. En la Figura 3 se sobreponen las imágenes obtenidas en el HPLC para el jugo fresco y para la disolución estándar de  $\beta$ -criptoxantina:

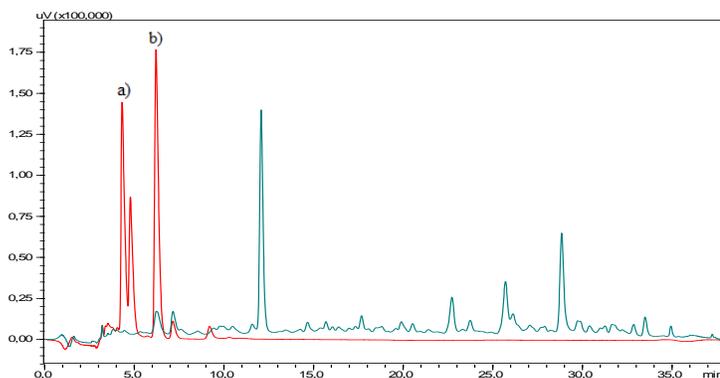


**Figura 3.** Cromatograma a 450 nm de carotenoides en jugo de naranja fresco (verde) sobrepuesto al cromatograma de un estándar de  $\beta$ -criptoxantina a 100 ppm (rojo).

Al comparar los tiempos de retención de los compuestos de jugo de naranja fresco se identifica un pico que coincide con el presente a 12 min de la disolución estándar. Además,

la forma del espectro UV (ver Anexos, Figura 11) del compuesto en el jugo de naranja que coincide, presenta la forma característica de carotenoide. Tomando estos dos aspectos en consideración, se concluye que el compuesto identificado a 12 min corresponde al carotenoide  $\beta$ -criptoxantina.

También se contó con el cromatograma de una mezcla de carotenoides: violaxantina (4,44 min) y luteína (6,18 min). La comparación se realizó de la misma manera que con la  $\beta$ -criptoxantina, por lo que en la Figura 4 se presenta nuevamente el de jugo de naranja fresco sobrepuesto al de la mezcla de carotenoides:



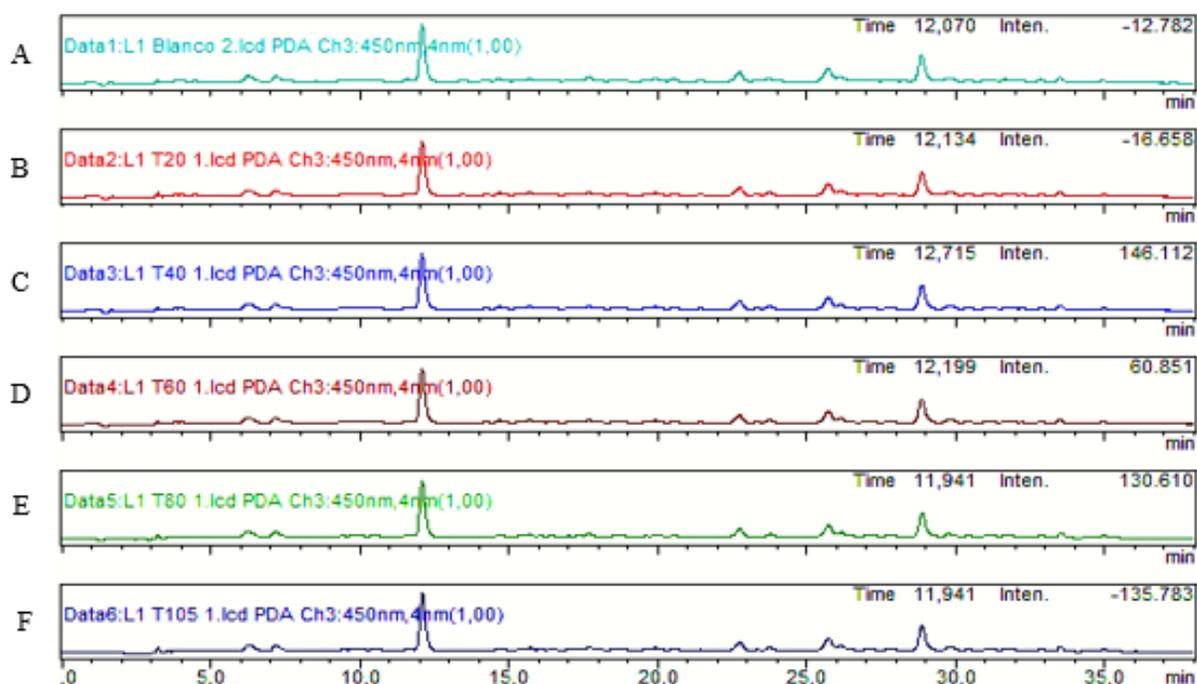
**Figura 4.** Cromatograma a 450 nm de carotenoides en jugo de naranja fresco (verde) sobrepuesto al cromatograma de una disolución de estándares de a) violaxantina y b) luteína a 100 ppm.

En este caso no se observa coincidencia con la violaxantina porque a 4 min el jugo de naranja no posee ningún compuesto. Sin embargo, a 6,24 min el jugo de naranja exhibió un pico que coincidió con el tiempo de retención del estándar de luteína y posee un espectro UV (ver Anexos, Figura 11) con la forma requerida de carotenoide. De esta manera, se identifican los compuestos luteína y  $\beta$ -criptoxantina en el perfil de carotenoides del jugo de naranja.

Además de los dos carotenoides identificados, el cromatograma presentó otros cinco compuestos. Estos compuestos, junto a la luteína y la  $\beta$ -criptoxantina, fueron seleccionados por poseer un tamaño importante, una forma definida y sobresalir de la línea base del cromatograma. Al analizar los espectros UV (ver Anexos, Figura 11) de los otros cinco

compuestos se determina que todos poseen la forma característica de carotenoides, por lo que también fueron tomados en consideración para el resto de análisis aún sin realizar su correspondiente identificación. Es decir, se determinó que la luteína,  $\beta$ -criptoxantina y cinco carotenoides no identificados componen el perfil de carotenoides del jugo de naranja.

A continuación, se presentan los cromatogramas de los jugos de naranja sometidos a diferentes tiempos de sonicación, de manera que resulte más fácil la comparación entre ellos. En la Figura 5 se tomaron en consideración la luteína,  $\beta$ -criptoxantina y los otros cinco carotenoides sin identificar para el análisis de comportamiento.



**Figura 5.** Cromatogramas a 450 nm de carotenoides de jugo de naranja sónico durante A: 0 min, B: 20 min, C: 40 min, D: 60 min, E: 80 min y F: 105 min de sonicación a  $25 \pm 1$  °C.

Para todos los tiempos se mantienen los mismos carotenoides y no se aprecia una variación en tamaño o posición de los picos representativos. De acuerdo con Song *et al.* (2015) y Mercado *et al.* (2018) al tratar jugos con ultrasonido es normal observar variaciones en los carotenoides debido al efecto de cavitación y la suspensión de los carotenoides en el

medio acuoso. Sin embargo, de acuerdo con autores que evaluaron el efecto del ultrasonido en una solución modelo y  $\beta$ -caroteno, el nivel de daño a la estructura de los carotenoides lo determina el tiempo de sonicación y la amplitud aplicada, en ese orden (Carail *et al.*, 2015).

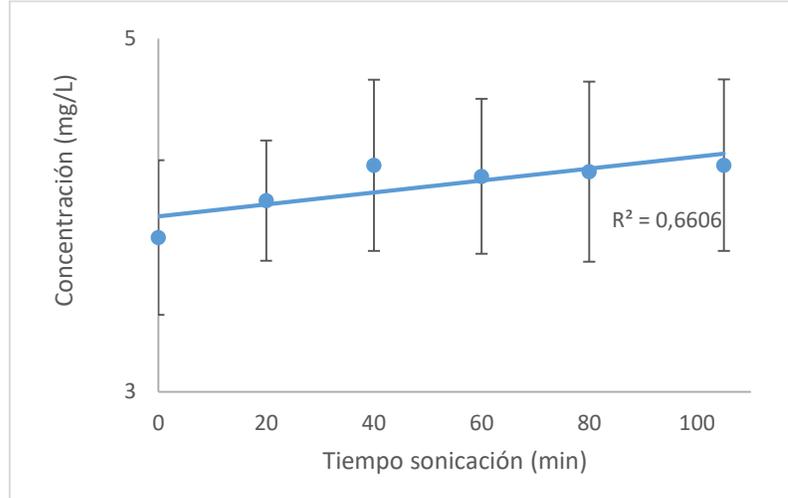
Los resultados observados en el perfil coinciden con los encontrados en un experimento realizado con jugo de mango. Los autores trabajaron con amplitudes entre 30 y 100% y la menor amplitud tuvo una menor variación con respecto al jugo fresco (Mercado *et al.*, 2018). Esto se puede relacionar con los resultados obtenidos con el jugo de naranja, ya que la amplitud utilizada fue de 40% con tiempos de sonicación similares.

Para generar cambios de isomerización por medio de presión, corte y gradiente de temperatura es necesario utilizar frecuencias mayores a 20 kHz-50 (Singh & Kumar, 2019). Se puede asumir que el tratamiento aplicado al jugo de naranja no proporcionó la suficiente intensidad para provocar cambios en el perfil de carotenoides al comparar con lo encontrado por Eh y Teoh (2012) con tomate y Sun *et al.* (2010) con  $\beta$ -caroteno quienes, al aplicar tratamientos más potentes (140 W y 950 W), observaron isomerización de carotenoides.

Finalmente, los experimentos realizados por Song *et al.* (2015) directamente sobre carotenoides, Abid *et al.* (2014 b) en jugo de manzana y Buniowska *et al.* (2019) con batidos de papaya, mango y jugo de zanahoria respaldan que, al aplicar tratamientos de baja intensidad, el perfil de carotenoides no se ve afectado negativamente y sus propiedades nutricionales son conservadas o en algunos casos pueden mejorar. Se puede afirmar con este experimento que las estructuras de los carotenoides del jugo de naranja no se destruyen al aplicar estas condiciones de ultrasonido.

### ***5.1.2 Contenido de los principales carotenoides***

Se determinó que existe un efecto significativo del tiempo de sonicación sobre el contenido de luteína en el jugo de naranja ( $p > 0,0064$ ). Conforme aumenta el tiempo de sonicación se aprecia un incremento significativo en el contenido de luteína como se ilustra en la Figura 6. Este cambio observado no es muy grande, mas sí es el suficiente (mayor a 10%) para ser significativo.



**Figura 6.** Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido sobre el contenido de luteína en extracto de jugo de naranja a  $25 \pm 1$  °C.

El ultrasonido es utilizado en la industria, entre otras funciones, para mejorar el porcentaje de extracción de materiales intracelulares al desintegrar las estructuras celulares. El incremento de la concentración de luteína en el jugo de naranja refleja esta utilidad con una relación positiva entre la liberación de componentes y el tiempo de aplicación de ultrasonido (Rana, Mena y Shweta, 2017).

De manera similar ocurrió en el experimento de Muhammad *et al.* (2019) con jugo de zanahoria donde con una frecuencia de 20 kHz (la misma aplicada al jugo de naranja en este experimento) se percibe un aumento significativo de 28% en el contenido de luteína. También Eitzbach *et al.* (2020), en jugo de naranja, provocaron un aumento significativo en el grupo de carotenoides dentro del cual agruparon la luteína. Los autores atribuyen el incremento a la disrupción mecánica de las paredes celulares y Eitzbach *et al.* (2020) concluyen que el ultrasonido es una tecnología prometedora para mejorar la bioaccesibilidad y el valor nutricional del jugo de naranja.

A una frecuencia alrededor de 20 kHz se producen fenómenos de presión, cizalla y gradiente de temperatura en el medio conforme las burbujas de aire explotan. Estas variaciones alteran las membranas y contribuyen a la liberación de nutrientes (Singh & Kumar, 2019; Delgado *et al.*, 2012). Los efectos de la cavitación por el ultrasonido sobre los

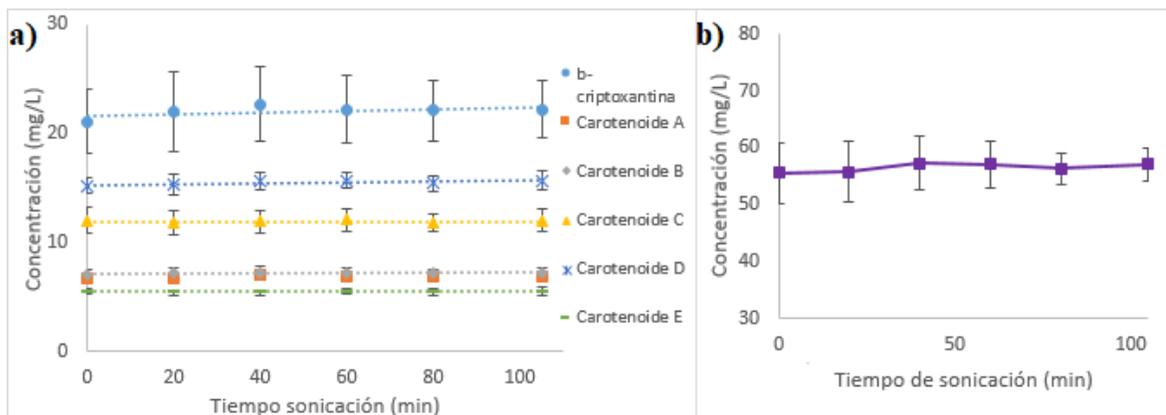
componentes nutricionales son enormemente dependientes de la matriz alimentaria, por lo que es necesario analizar cada matriz para optimizar las condiciones de ultrasonido (Zinoviadou *et al.*, 2015).

Por otro lado, Buniowska *et al.* (2019) no observaron diferencias significativas en la luteína de batidos de zanahoria, calabaza y mango al aplicar ultrasonido durante 20 minutos y Mercado *et al.* (2018) tuvieron disminuciones significativas en bebidas de mango al utilizar una frecuencia de 24 kHz y amplitudes entre 30 - 80%. Tomando en consideración estos estudios y que la concentración de luteína tiende a decrecer conforme aumenta la frecuencia y amplitud del ultrasonido (Song *et al.*, 2015), se entiende la importancia de conocer la matriz y seleccionar las condiciones adecuadas para el resultado deseado.

Se concluye que las condiciones de este tratamiento son favorecedoras para aumentar ligeramente la concentración del carotenoide luteína de manera significativa. A pesar de que en concentración no es una diferencia muy grande, el obtener una diferencia significativa implica una ganancia que no suele ser parte de los tratamientos convencionales.

En la Figura 7 se agrupan los resultados del contenido de  $\beta$ -criptoxantina y los cinco carotenoides analizados por su contenido, así como el contenido total de carotenoides. Como  $\beta$ -criptoxantina fue el carotenoide mayoritario en el jugo de naranja, se seleccionó para cuantificar el resto de carotenoides individuales y el contenido total como sus equivalentes.

En la figura se observa que al aumentar el tiempo de sonicación no hay cambio en el contenido de carotenoides, representado por las líneas de tendencia planas. El análisis indica que no existe un efecto significativo del tiempo de aplicación de ultrasonido para el contenido de  $\beta$ -criptoxantina ( $p=0,1685$ ;  $1-\beta=1,00$ ), carotenoides equivalentes de  $\beta$ -criptoxantina A ( $p=0,1350$ ;  $1-\beta=1,00$ ), B ( $p=0,1055$ ;  $1-\beta=1,00$ ), C ( $p=0,9427$ ;  $1-\beta=1,00$ ), D ( $p=0,2630$ ;  $1-\beta=1,00$ ), E ( $p=0,6569$ ;  $1-\beta=1,00$ ) y carotenoides totales ( $p=0,3640$ ;  $1-\beta=1,00$ ).



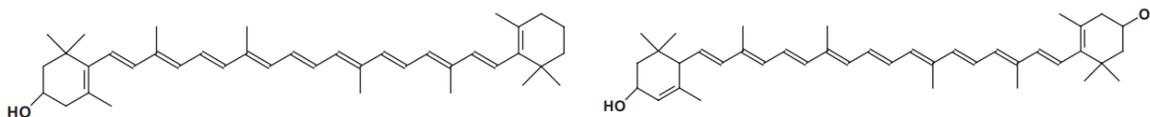
**Figura 7.** Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido sobre el contenido de a)  $\beta$ -criptoxantina y cinco carotenoides y b) el contenido total de carotenoides expresados como equivalentes de  $\beta$ -criptoxantina en extracto de jugo de naranja a  $25 \pm 1$  °C.

La luteína y la  $\beta$ -criptoxantina tuvieron un comportamiento diferente a pesar de pertenecer al mismo grupo de carotenoides (xantofilas). Este comportamiento constante para todos los tiempos de sonicación se mantiene para el resto de equivalentes de  $\beta$ -criptoxantina analizados y el contenido total de carotenoides. Al ser una suma de los demás componentes, es esperable que tampoco presente una diferencia significativa.

De acuerdo con estudios de carotenoides con ultrasonido, hay dos explicaciones posibles para este resultado. Kumcoglu, Yilmaz y Tavman (2014) explican que el ultrasonido con 24 kHz de frecuencia produce calor que da inicio a la degradación térmica de componentes carotenoides, esto en combinación con los estudios de Aparicio, Mínguez y Gandul (2011) y Xiao *et al.* (2017) donde concluyen que la luteína posee mayor resistencia a la degradación por calor que la  $\beta$ -criptoxantina, podría indicar que mientras la cavitación libera componentes de las paredes celulares, igualmente da lugar a su degradación.

La diferencia reside en la configuración geométrica entre la luteína y la  $\beta$ -criptoxantina. Xiao *et al.* (2017) exponen que la presencia de grupos hidroxilo en carotenoides disminuye su reactividad ante la oxidación y como se aprecia en la Figura 8, la luteína posee un grupo en cada anillo, mientras la  $\beta$ -criptoxantina solamente posee uno. Esto corrobora que la luteína es una estructura más estable y las condiciones extremas no

representan tanto peligro de degradación. De los equivalentes de  $\beta$ -criptoxantina detectados no es posible realizar un análisis de estabilidad porque se desconocen sus estructuras.



**Figura 8.** Estructura de  $\beta$ -criptoxantina (izquierda) y luteína (derecha).

Adaptado de Meléndez, Vicario y Heredia (2007 a)

Por otro lado, estudios como los elaborados por Buniowska, *et al.* (2019), Adadi, Barakova y Krivoshapkina (2018) y Mercado *et al.* (2017) respaldan que el efecto del ultrasonido sobre los carotenoides es exclusivo de las condiciones de cada tratamiento y la matriz a trabajar. En otras palabras, los resultados observados en el contenido de carotenoides para el jugo de naranja son propios de esta matriz, sus características, estos carotenoides y las condiciones de procesamiento.

La importancia de la matriz y todas las condiciones de tratamiento es respaldada por la conclusión de estudios de ultrasonido sobre jugos de otras frutas, como manzana, con condiciones de frecuencia 20 kHz (Muhammad *et al.*, 2019) y 25 kHz (Abid *et al.*, 2013), zanahoria a una frecuencia de 40 kHz (Zou y Jiang, 2016), mango a una frecuencia de 40 kHz a 15 y 30 minutos (Santhirasegaram, Razali y Somasundram, 2013) y pomelo a 28 kHz (Aadil *et al.*, 2015) que han conseguido un aumento significativo en el contenido de carotenoides, producto de la liberación de componentes de las paredes celulares deshechas.

El tratamiento seleccionado para aplicar sobre este jugo de naranja específico, incluyendo la variedad de la naranja, madurez, condiciones de cultivo y procesamiento, no fue el necesario para generar una liberación suficiente. Es decir, al tomar en consideración que la variedad de la fruta afecta la estructura celular de los carotenoides (Murador, da Cunha y de Rosso, 2014), se evidencia que el tratamiento no es tan potente para llevar a una disminución del contenido de carotenoides y permite que se preserven incluso después de tiempos prolongados de tratamiento.

Los resultados obtenidos al sonicar el jugo de naranja resultan favorecedores al comparar con otros experimentos de jugo de naranja sometido a sonicación. Etzbach *et al.*

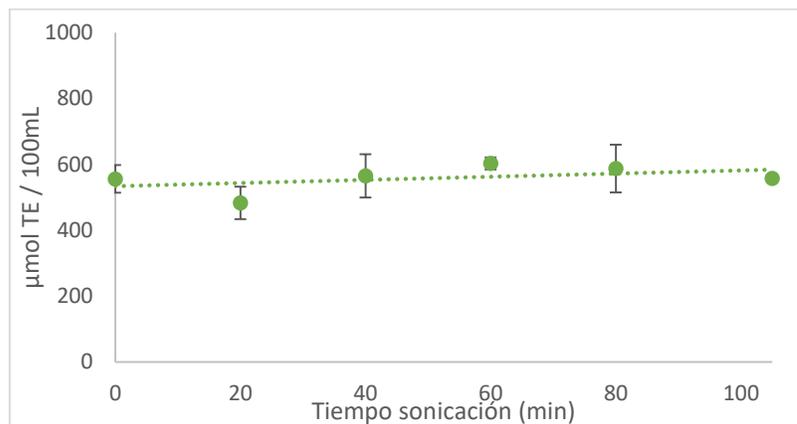
(2020) encontraron una disminución del contenido total de carotenoides al sonicar a una frecuencia de 26 kHz y Tiwari *et al.* (2009; 2008) a una frecuencia de 20 kHz y amplitudes entre 40-100% también encontraron degradación de carotenoides que afectaban el color del jugo final. Asimismo, puede tomarse en consideración que, en el jugo de mango mencionado anteriormente, al aumentar el tiempo de sonicación a 60 min se generó una disminución significativa del contenido de carotenoides (Santhirasegaram, Razali y Somasundram, 2013) y en el jugo de naranja trabajado este problema no se observó aún duplicando el tiempo de tratamiento.

La diferencia no significativa del contenido de carotenoides totales sí coincide con el experimento de Martínez *et al.* (2015) de termosonicación sobre jugo de zanahoria a una frecuencia de 24 kHz, al igual que como concluyeron los autores, apunta a que es posible utilizar el ultrasonido como tecnología de preservación que, en conjunto con métodos tradicionales o alternativos, permita la protección de la calidad nutricional de jugos de frutas o vegetales.

En general, el tratamiento demostró que, aunque se apliquen tiempos de sonicación prolongados, las componentes bioactivos del jugo de naranja son preservados con los parámetros de frecuencia y amplitud empleados. De esta manera, es posible trabajar en procedimientos de sonicación en combinación con otros métodos para garantizar la inocuidad del producto, en vista de que los carotenoides del jugo de naranja y, por consiguiente, sus cualidades funcionales, se ven levemente mejorados o son completamente preservadas a lo largo del procesamiento.

## **5.2. Capacidad antioxidante lipofílica del jugo de naranja**

Se encontró que no existe un efecto significativo del tiempo de sonicación sobre la capacidad antioxidante lipofílica del jugo de naranja ( $p=0,4151$ ;  $1-\beta=0,7906$ ). En la Figura 9 se grafica la capacidad antioxidante en términos de Trolox equivalente y se observa que a diferentes tiempos de sonicación se obtiene un comportamiento constante con variaciones no lo suficientemente amplias para ser significativas.



**Figura 9.** Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido sobre la capacidad antioxidante lipofílica de jugo de naranja a  $25 \pm 1$  °C.

La capacidad antioxidante lipofílica de los jugos de naranja se asocia con componentes carotenoides, terpenos y vitaminas liposolubles, así como efectos sinérgicos que se den entre estos (Pulido, Hernández y Saura, 2003). Este comportamiento es el esperado al comparar con el contenido de carotenoides durante el tiempo. El ultrasonido no generó un cambio en los principales componentes responsables de la capacidad antioxidante lipofílica, por lo que es normal no observar una variación en este parámetro.

Preservar esta cualidad nutricional representa una ventaja en comparación con los métodos térmicos tradicionales, principalmente porque se ha demostrado que los componentes antioxidantes lipofílicos son especialmente sensibles al deterioro por procesamiento (Tommonaro *et al.*, 2015). Rodríguez-Roque *et al.* (2016) al comparar la actividad antioxidante lipofílica entre jugos de fruta procesados concluyeron que se obtuvo una capacidad antioxidante lipofílica menor con las bebidas tratadas térmicamente.

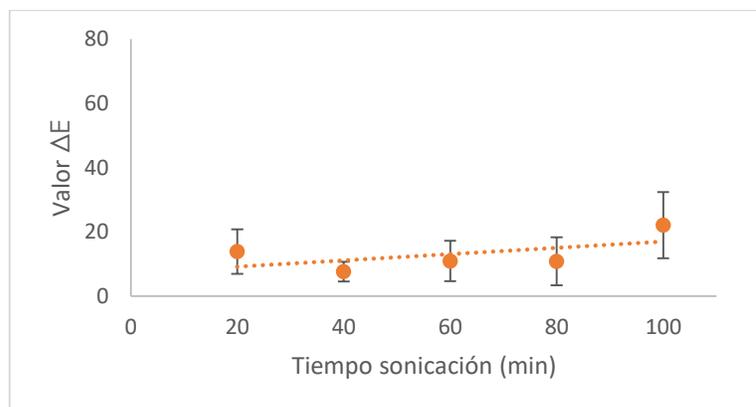
Existen pocos estudios evaluando la capacidad antioxidante lipofílica de jugos antes y después del procesamiento, pero estudios en jugo de mango (Santhirasegaram *et al.*, 2015) y mora (Jiang *et al.*, 2014) analizan la actividad antioxidante total y determinaron una diferencia importante en los jugos sometidos a tratamientos térmicos contra tecnologías alternativas como microondas, luz ultravioleta y ultrasonido. Ambos grupos de autores encuentran valores deficientes para los tratamientos térmicos tanto después del

procesamiento como durante el almacenamiento del producto, apuntando hacia una mejor retención de nutrientes para los jugos sonicados.

Las tecnologías alternativas como la sonicación parecen dar mejores resultados, con respecto a los componentes bioactivos, que las tecnologías utilizadas normalmente en la industria. Con base en los resultados obtenidos puede afirmarse que, bajo las condiciones utilizadas, aún después de aplicar tratamientos tan largos (105 min) a muestras de jugo de naranja es posible preservar la calidad antioxidante de los componentes lipofílicos presentes en el jugo fresco, lo que abre una oportunidad para ofrecer jugos procesados más cercanos a sus características naturales y sus beneficios para la salud.

### 5.3. Color de jugo de naranja

Al evaluar el efecto del tiempo de sonicación sobre el cambio de color en el jugo de naranja no se encontró diferencia significativa entre los niveles ( $p=0,2443$ ;  $1-\beta=0,9663$ ). Como se contempla en la Figura 10 el valor de cambio de color ( $\Delta E$ ), calculado utilizando la ecuación de la sección 4.5.7, del jugo de naranja al aplicar ultrasonido se mantiene en un ámbito que indica que el cambio de color de jugo se mantiene constante a todos los tiempos de sonicación.



**Figura 10.** Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonido a  $25 \pm 1$  °C en el cambio de color de jugo de naranja con respecto al jugo fresco.

Por otra parte, a pesar de que el cambio de color no aumenta con el tiempo de sonicación, sí hay un cambio de color en un ámbito entre 10 y 20 unidades. Dicho cambio de color, observado en el jugo de naranja, se encuentra dentro del rango del umbral de percepción visual de “perceptible a la vista” ( $\Delta E = 10$ ) y “colores similares” ( $\Delta E = 11-49$ ), es decir, que hay variaciones importantes con respecto al jugo de naranja fresco (Brainard, 2003; Sharma, Wi y Dalal, 2004). Al hacer un análisis preliminar visual del cambio de color del jugo de naranja este no fue perceptible a simple vista para el analista, pero es necesario un análisis sensorial para comprobar si esta observación es relevante.

Al evaluar visualmente es difícil establecer el verdadero umbral de diferencia entre muestras, además la literatura no aporta información relevante sobre la diferenciación visual de color entre dos jugos de naranja (con base en muestras reales) por consumidores (Fernández *et al.*, 2013). De ahí que sea difícil realizar una distinción entre las muestras sonicadas, 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 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.

El color del jugo de naranja se asocia principalmente con el contenido de compuestos carotenoides. Tiwari *et al.* (2009) exponen que los cambios de color suelen ser producto de la cavitación y las reacciones aceleradas de isomerización o degradación de carotenoides que genera. No obstante, el contenido de carotenoides ni el perfil tuvieron un cambio significativo, por lo que la variación de color es producto de otro tipo de reacciones.

La variación de color puede ser explicada apoyándose en los resultados de Lozano e Ibarz (2007) quienes expresan que los cambios de color por pardeamiento no enzimático predominan sobre el deterioro de pigmentos. Después de la sonicación del jugo de naranja suelen verse aumentos significativos en el índice de pardeamiento (Tiwari *et al.*, 2008). Asimismo, Valero *et al.* (2007), al sonicar en un sistema de flujo continuo, observaron un aumento significativo de pigmentos pardeados y una reducción en el tamaño de partícula de jugos. Esta mayor concentración de pigmentos pardeados y el rompimiento de partículas

afectan la percepción de color. Probablemente estos fenómenos se desarrollaron en el jugo de naranja y dieron lugar a los valores de cambio de color encontrados.

Parámetros propios de la fruta como sólidos solubles, contenido de humedad, acidez total titulable o pH pueden influenciar los cambios de color o estructurales del jugo. Dichas características pueden acelerar o retrasar las reacciones de pardeamiento o rompimiento de partículas (Tiwari *et al.*, 2009). Estas variables se analizaron solamente para el jugo fresco a manera de complemento para la caracterización, se encuentran en la sección de Anexos, por lo que no fue posible desarrollar y relacionarlas con los resultados. En la misma sección se incluyen los parámetros de L\*, a\* y b\* para el jugo a diferentes tiempos de sonicación, pero debido a la gran variabilidad de estas mediciones no fueron tomadas en consideración para el análisis de resultados.

El hecho de que no haya un efecto significativo del tiempo de sonicación sobre el cambio de color es un resultado prometedor porque es posible desarrollar procedimientos a tiempos prolongados para aprovechar los demás beneficios del ultrasonido, con la certeza de que el cambio inicial se mantendrá constante y el color no tendrá un impacto negativo a tiempos más altos. Además, se ha demostrado que, una vez sucedido el cambio de color inicial, no se producen más cambios de color durante varias semanas de almacenamiento en jugo de naranja sonicado (Tiwari *et al.*, 2009).

Este parámetro es muy importante porque el color del jugo es la primera característica y usualmente la clave para capturar la atención de los consumidores e influenciar la decisión de compra. También las valoraciones visuales pueden influenciar la percepción del sabor de los alimentos (Spence *et al.*, 2010). Considerando que los consumidores no suelen ser capaces de percibir el cambio de color en el jugo de naranja y que este cambio es constante en todos los tiempos de sonicación, es seguro afirmar que la aceptabilidad del jugo de naranja no se verá afectada negativamente si fuese necesario utilizar tiempos largos de sonicación. Aparte de la ventaja que supone el cambio no perceptible, se añade la estabilidad del color producto de la sonicación y el logro que significa la preservación de los componentes nutricionales del jugo.

#### **5.4. Consideraciones finales**

El ultrasonido se ha estudiado en muchas investigaciones como sustituto parcial de los tratamientos térmicos. Dicha sustitución cuenta con la ventaja de preservar los compuestos nutricionales y bioactivos de los jugos de fruta, a diferencia de los tratamientos térmicos que se ha demostrado los afectan negativamente. 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 de sonicación sobre los compuestos nutricionales de interés y no sobre su inocuidad.

Los resultados obtenidos en esta investigación complementan los de investigaciones previas y apoyan la hipótesis de que los niveles de sonicación utilizados no afectan negativamente los componentes lipofílicos estudiados. A pesar de que en la industria costarricense no existen equipos de ultrasonido para su aplicación industrial en preservación de jugos, el conocer las ventajas de preservación o mejora de componentes nutricionales importantes contribuye con el diseño de alternativas de procesamiento en jugos de naranja, o jugos con características y compuestos lipofílicos similares, que aprovechen el ultrasonido y la conservación de las propiedades funcionales en cuanto a compuestos lipofílicos.

## 6. CONCLUSIONES

Se determinó el efecto del tiempo de sonicación sobre el perfil de carotenoides, contenido de luteína,  $\beta$ -criptoxantina y equivalentes de  $\beta$ -criptoxantina, contenido de carotenoides totales, capacidad antioxidante lipofílica y cambio de color de jugo de naranja.

- El tiempo de sonicación no tiene efecto sobre el perfil de carotenoides de jugo de naranja. Todos los carotenoides identificados en el cromatograma preservaron su forma y posición a diferentes tiempos de sonicación.
- La concentración de luteína en el jugo de naranja tiene una relación significativa directamente proporcional al tiempo de sonicación. Se presentó un aumento en su contenido al aumentar el tiempo de tratamiento.
- El tiempo de sonicación no tuvo un efecto significativo en la concentración de  $\beta$ -criptoxantina y sus cinco equivalentes analizados en el jugo de naranja. Los compuestos fueron preservados y el tiempo de tratamiento no implicó un efecto negativo.
- El contenido total de carotenoides en el jugo de naranja no presentó cambios significativos por efecto del tiempo de sonicación. Se evidencia que tiempos prolongados de procesamiento, hasta 105 minutos, no poseen implicaciones negativas en la calidad de los compuestos carotenoides, preservando las cualidades nutricionales del jugo fresco.
- La capacidad antioxidante lipofílica del jugo de naranja no se ve afectada significativamente al aplicar tratamientos de hasta 105 minutos de sonicación.
- El tiempo de aplicación de ultrasonido no generó cambios significativos en el cambio de color del jugo de naranja sonificado con respecto al jugo fresco.
- En general, tiempos de hasta 105 minutos de sonicación no presentan un efecto negativo sobre las cualidades nutricionales del jugo de naranja. Los componentes analizados se preservan o mejoran.
- Sustituir parcialmente el tratamiento térmico por tratamiento con ultrasonido permitiría una preservación o menor deterioro de los componentes nutricionales lipofílicos del jugo de naranja.

## 7. RECOMENDACIONES

- Para analizar de manera más exacta el comportamiento de los carotenoides es necesaria una identificación completa de cada carotenoide encontrado en el jugo de naranja. Pueden utilizarse más estándares de carotenoides, como auroxantina, zeaxantina,  $\alpha$ -criptoxantina y  $\alpha$ -caroteno, para realizar el reconocimiento y comparación correspondiente.
- Al igual que en otros experimentos con ultrasonido, podrían aplicarse condiciones más potentes de frecuencia y amplitud permitidas por el equipo, 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.
- Se recomienda realizar la medición 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 entre las medidas de los parámetros de color. Dicha variabilidad no afectó los resultados debido a que no fueron tomados en consideración para el análisis de resultados, pero de ser necesario es imprescindible trabajar en la precisión de la prueba.
- Se propone la evaluación sensorial del color de jugo de naranja fresco con 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.
- Otorgaría información sustancial para realizar la comparación del comportamiento de los compuestos bioactivos analizados del jugo de naranja al ser sometido al tratamiento de ultrasonido contra una pasteurización tradicional, con el propósito de respaldar los beneficios de esta tecnología como método complementario para reducir la exposición a calor.
- Se sugiere realizar estudios de almacenamiento del jugo de naranja sometido a sonicación en comparación con jugo fresco y/o pasteurizado. Esto indicaría si los beneficios nutricionales del ultrasonido involucran cambios durante almacenamiento.
- Se recomienda evaluar otros métodos de determinación de actividad antioxidante lipofílica en jugos, como ensayos ABTS<sup>+</sup> (Cano *et al.*, 2013) poder antioxidante

reductor férrico (FRAP, por sus siglas en inglés) o actividad quelante de hierro (II) (ICA, por sus siglas en inglés) (Jiménez-Álvarez *et al.*, 2008), con el fin de identificar el método que genere los resultados más confiables y precisos, ya que es un área con poca investigación.

- Una comparación entre métodos de cuantificación de actividad antioxidante lipofílica permitiría una selección más exacta de análisis.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AADIL, R.; ZENG, X.; SUN, D.; WANG, M.; LIU, Z. & ZHANG, Z. 2015. Combined effects of sonication and pulsed electric field on selected quality parameters of grapefruit juice. *LWT-Food Science and Technology*. 62(1): 890-893.
- AADIL, R.; ZENG, X.; HAN, Z. & SUN, D. 2013. Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*. 141(2013): 3201-3206.
- ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M.; HU, B.; SAEEDUDDIN, M. & ZENG, X. 2014 a. Qualitative assessment of sonicated apple juice during storage. *Journal of Food Preserving and Preservation*. 39(6): 1299-1308.
- ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M.; HU, B.; LEI, S. & ZENG, X. 2014 b. Sonication enhances polyphenolic compounds, sugars, carotenoids and mineral elements of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 21(1): 93-97.
- ABID, M.; JABBAR, S.; WU, T.; HASHIM, M.; HU, B.; LEI, S.; ZHANG, X. & ZENG, X. 2013. Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20(2013): 1182-1187.
- ADADI, P.; BARAKOVA, N. & KRIVOSHAPKINA, E. 2018. Selected methods of extracting carotenoids, characterization and health concerns: A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018(66): 5925-5947.
- ADEKUNTE, A.; TIWARI, B.; CULLEN, P.; SCANNEL, A. & O'DONNELL, C. 2010. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. *Food Chemistry*. 122(2010): 500-507.
- ADUBOFUOR, J.; AMANKWAH, E.; ARTHUR, B. & APPIAH, F. 2010. Comparative study related to physico-chemical properties and sensory qualities of tomato juice and cocktail juice produced from oranges, tomatoes and carrots. *African Journal of Food Science*. 4(7): 427-433.
- AIJN. 2018. AIJN 2018 Liquid fruit market report. Bélgica. INTERNET. [https://aijn.eu/files/attachments/.598/2018\\_Liquid\\_Fruit\\_Market\\_Report.pdf](https://aijn.eu/files/attachments/.598/2018_Liquid_Fruit_Market_Report.pdf). Recuperado el 6 de marzo de 2020.

- AKUSO, O.; KIIN-KABARI, D. & EBERE, C. 2016. Quality characteristics of orange/pineapple fruit juice blends. *American Journal of Food Science and Technology*. 4(2): 43-47.
- ANTHON, G.; LESTRANGE, M. & BARRETT, D. 2011. Changes in pH, acids, sugars and other quality parameters during extended vine holding of ripe processing tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 91(7): 1175-1181.
- AOAC. 2005 a. Official methods of analysis. 16a ed. Método 932.12. Association of Official Analytical Chemists. Estados Unidos.
- AOAC. 2005 b. Official methods of analysis. 16a ed. Método 942.15. Association of Official Analytical Chemists. Estados Unidos.
- AOAC. 2005 c. Official methods of analysis. 16a ed. Método 950.151. Association of Official Analytical Chemists. Estados Unidos.
- AOAC. 2005 d. Official methods of analysis. 16a ed. Método 981.12. Association of Official Analytical Chemists. Estados Unidos.
- APARICIO, R.; MÍNGUEZ, M. & GANDUL, B. 2011. Thermal degradation kinetics of lutein,  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -cryptoxanthin in virgin olive oils. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24(6): 811-820.
- ARNAO, M.; CANO, A. & ACOSTA, M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*. 73(2001): 239-244.
- ARNOLDI, A. 2001. Thermal processing and food quality: analysis and control. *In* Richardson, P., ed. *Thermal technologies in food processing*. CRC Press, Boca Ratón. p. 138-154.
- ARORA, S. & CHAUHAN, O. 2019. High-pressure processing: Principles and engineering aspects. *In* Chauhan, O. *Non-thermal processing of foods*. CRC Press, Boca Ratón.
- ASCHOFF, J.; KAUFMANN, S.; KALKAN, O.; NEIDHART, S.; CARLE, R. & SCHWEIGGERT, R. 2014. In vitro bioaccessibility of carotenoids, flavonoids, and vitamin C from differently processed oranges and orange juice [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(2015): 578-587.
- AWUAH, G.; RAMASHWAMY, H. & TANG, J. 2015. Radio-frequency heating in food processing. CRC Press, Boca Ratón.

- AWUAH, G.; RAMASWAMY, H. & ECONOMIDES, A. 2007. Thermal processing and quality: Principles and overview. *Chemical Engineering and Processing*. 46(2007): 584-602.
- BARBA, F.; ALEXANDRE, J.; CRAVOTTO, G. & LORENZO, J. 2019. Innovative thermal and non-thermal processing, bioaccessibility and bioavailability of nutrients and bioactive compounds. Woodhead Publishing, Reino Unido.
- BATES, R.; MORRIS, J. & CRANDALL, P. 2001. Principles and practices of small and medium scale fruit juice processing. FAO, Roma.
- BATES, D. & PATISTS, A. 2010. Industrial applications of high power ultrasonics in the food, beverage and wine industry. *In* Doona, C. Case studies in novel food processing technologies. Woodhead Publishing, San Diego. p. 119-138.
- BAŞLAR, M.; BIRANGER, H.; TEKIN, Z. & ERTUGAY. 2016. Ultrasonic application for juice making. *In* Ashokkumar, M. Handbook of ultrasonics and sonochemistry. Springer Science & Business Media, Singapore. p. 1226-1241.
- BEGUM, S.; CHANDRA, P. & KARMOKER, P. 2018. Fundamental and applied agriculture. *Food Technology*. 3(2): 440-445.
- BENZIE, I. & WACHTEL, S. 2013. Bioactives in fruit: health benefits and functional foods. John Wiley & Sons, Reino Unido.
- BERENDSCHOT, T. & PLAT, J. 2014. Handbook of nutrition, diet and the eye. Academic Press, London.
- BEVILACQUA, A.; SPERANZA, B.; IORIO, M.; LOI, M.; SINIGAGLIA, M. & CORBO, M. 2016. US-INACTIVATION of foodborne bacteria: Screening in distilled water and combination with citrus extract in skim milk. *LWT – Food Science and Technology*. 70(2016): 135-141.
- BHAT, R.; KAMARUDDIN, N.; MIN-TZE, L. & KARIM, B. 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18(6): 1295-1300.
- BOYD, C.; TUCKER, C. & VIRIYATUM, R. 2011. Interpretation of pH, acidity, and alkalinity in aquaculture and fisheries. *North American Journal of Aquaculture*. 73(4): 403-408.

- BRAINARD, D. 2003. The science of color. Elsevier Ltd, Nueva York.
- BRASIL, E.; CHAVES, D.; XAVIER, A.; MERCADANTE, A.; HASSIMOTTO, N.; LAJOLO, F. 2017. Effect of pasteurization on flavonoids and carotenoids in *Citrus sinensis* (L.) Osbeck cv. "Cara cara" and "Bahia" juices. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 65(7): 1371-1377.
- BRITISH SOFT DRINKS ASSOCIATION. 2016. Fruit juice: Technical guidance. London. Departamento de Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales. Fruit Juice Guidance no. 1.
- BRITTON, G. 1995. Structure and properties of carotenoids in relation to function. The FASEB Journal. 9(15): 1551-1558.
- BUB, A.; WATZL, B.; BLOCKHAUS, M.; BRIVIBA, K.; LIEGIBEL, U.; MULLER, H.; POOL, B.; RECHKEMMER, G. 2003. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. The Journal of Nutritional Chemistry. 14(2): 90-8.
- BUNIEWSKA, M.; ARRIGONI, E.; ZNAMIROWSKA, A.; BLESKA, J.; FRÍGOLA, A. & ESTEVE, M. 2019. Liberation and micellarization of carotenoids from different smoothies after thermal and ultrasound treatments. Foods. 8(10): 492-514.
- BUTZ, P. & TAUSCHER, B. 2002. Engineering technologies: chemical aspects. Food Research International. 35(2/3): 279-284.
- CAMERON, R. 1999. Cloud of citrus juices and juice drinks. Food Technology. 53(1): 64-69.
- CANTOR, J. 2008. Progress in food engineering research and development. Nova Publishers, New York.
- CANO, A.; ALCARAZ, O.; ACOSTA, M. & ARNAO, M. 2013. On-line antioxidant activity determination: Comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS+ assay. Redox Report. 7(2): 103-109.
- CANO, A. & ARNAO, M. 2004. Actividad antioxidante hidrofílica y lipofílica y contenido en vitamina C de zumos de naranja comerciales: relación con sus características organolépticas. Ciencia y Tecnología Alimentaria. 4(3): 185-189.

- CANO, A.; ALCARAZ, O.; ACOSTA, M. & ARNAO, M. 2002. On-line antioxidant activity determination: Comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS<sup>+</sup> assay. *Redox Report*. 7(2): 103-109.
- CARAIL, M.; FABIANO-TIXIER, A.; MEULLEMIESTRE, A.; CHEMAT, F. & CARIS-VEYRAT, C. 2015. Effects of high power ultrasound on all-E- $\beta$ -carotene, newly formed compounds analysis by ultra.high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*. 26(2015): 200-209.
- CHANSON, A.; BRAESCO, V.; CHUPIN, J. & BOUILLOT, L. 2016. Nutritional composition of orange juice: A comparative study between French commercial and home-made juices. *Food and Nutrition Sciences*. 7(2016): 252-261.
- CHAR, C.; MITILINAKI, E.; GUERRERO, S. & ALZAMORA, S. 2010. Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. *Food and Bioprocess Technologies*. 3(6): 797-803.
- CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; MEULLEMIESTRE, A.; TURK, M.; PERINO, S.; FABIANO-TIXIER, A. & ABERT-VIAN, M. 2017 a. Review of green food processing techniques. Preservation, transformation and extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 41(2017): 357-377.
- CHEMAT, F.; ROMBAUT, N.; SICAIRE, A.; MEULLEMIESTRE, A.; FABIANO-TIXIER, A. & ABERT-VIAN, M. 2017 b. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications: a review. *Ultrasonics Sonochemistry*. 34(1): 540-560.
- CHEMAT, F.; ZILL-E-HUMA & KHAN, M. 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonic Sonochemistry*. 18(4): 813-835.
- CHEN, Y.; YU L.; RUPASINGHE, H. 2013. Effect of thermal and non-thermal pasteurization on the microbial inactivation and phenolic degradation in fruit juice: A mini-review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(5): 981-986.
- CIESLIK, E.; GREDA, A. & ADAMUS, W. 2006. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chemistry*. 94(1): 135-142.

- CORTÉS, C.; STEVE, M. & FRÍGOLA, A. 2008. Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food Control*. 19(2008): 151-158.
- CORTÉS, C.; ESTEVE, M.; RODRIGO, D.; TORREGROSA, F. & FRÍGOLA, A. 2006 a. Changes of colour and carotenoids contents during high intensity pulsed electric field treatment in orange juices. *Food and Chemical Toxicology*. 44(2006): 1932-1939.
- CORTÉS, C.; TORREGROSA, F.; ESTEVE, M. & FRÍGOLA, A. 2006 b. Carotenoid profile modification during refrigerated storage in untreated and pasteurized orange juice and orange juice treated with high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54(17): 6247-6254.
- CODEX ALIMENTARIUS. 2005. Norma general del Codex para zumos y néctares de frutas (CODEX STAN 247-2005). INTERNET. [http://www.codexalimentarius.org/download/standards/10154/CXS\\_247s.pdf](http://www.codexalimentarius.org/download/standards/10154/CXS_247s.pdf). Recuperado el 5 de marzo de 2020.
- CONDÓN, S.; MAÑAS, P. & CEBRIÁN, G. 2011. Novel technologies in combined processes. *In* Zhang, H.; Barbosa, G.; Balasubramaniam, V.; Dunne, C.; Farkas, D. & Yuan, J. *Nonthermal processing technologies for food*. Blackwell Publishing Ltd, Reino Unido. p. 379-405.
- CSEPREGI, K.; NEUGART, S.; SCHEREINER, M. & HIDEG, E. 2016. Comparative evaluation of total antioxidant capacities of plant polyphenols. *Molecules*. 21(2): 208-225.
- CULLEN, P.; BRIJESH, K. & VALDRAMIDIS, V. 2011. Status and trends of novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods. *In* Cullen, P.; Brijesh, K. & ValDRAMIDIS, V. *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods*. Food Science and Technology, Nebraska. p. 1-6.
- CUEVAS, F.; PEREIRA, G.; MORENO, J.; MUÑOZ, J. & RUIZ, M. 2017. Assesment of Premium organic orange juices authenticity using HPLC-HR-MS and HS-SPME-GC-MS combining data FUSION and chemometrics. *Food Control*. 82: 203-211.

- CURI, P.; ALMEIDA, A.; TAVARES, B.; NUNES, C.; PIO, R.; PASQUAL, M. & SOUZA, V. 2017. Optimization of tropical fruit juice based on sensory and nutritional characteristics. *Food Science and Technology*. 37(2): 308-314.
- DASENAKI, M. & THOMAIDIS, N. 2019. Quality and authenticity control of fruit juices – A review. *Molecules*. 24(6): 1-35.
- DELGADO, A.; KULISIEWICZ, L.; RAUH, C. & WIERSCHEM, A. 2011. Fluid dynamics in novel thermal and non-thermal processes. *In* Cullen, P.; Tiwari, B. & Valdramidis, V. *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods*. Food Science and Technology, Nebraska. p. 7-33.
- DENG, Y.; BI, H.; YIN, H.; YU, J.; DONG, J.; YANG, M. & MA, Y. 2017. Influence of ultrasound assisted thermal processing on the physicochemical and sensorial properties of beer. *Ultrasonics Sonochemistry*. 40(2018): 166-173.
- DEMÍRDÖVEN, A. & BAYSAL, T. 2009. The use of ultrasound and combined technologies in food preservation. *Food Reviews International*. 25(1): 1-11.
- DHUIQUE, C.; FANCIULLINO, A.; DUBOIS, C. & OLLITRAULT, P. 2009. Effect of genotype and environment on citrus juice carotenoid content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(19): 9160-9168.
- 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(2015): 883-889.
- EDWARD, M. & SHIKE, M. 2006. *Modern nutrition in health and disease*. 10 ed. Lippincott Williams & Wilkins, Nueva York.
- EH, A. & TEOH, S. 2012. Novel modified ultrasonication technique for the extraction of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*. 19(1): 151-159.
- EL OBSERVADOR. 2019. Costa Rica es el tercer país que más exporta jugo de naranja a Estados Unidos. Costa Rica. INTERNET. <https://observador.cr/noticia/costa-rica-es-el-tercer-pais-que-mas-exporta-jugo-de-naranja-a-estados-unidos/>. Recuperado el 20 de marzo de 2020.
- ERCAN, S. & SOYSAL, Ç 2013. Use of ultrasound in food preservation. *Natural Science*. 5(8): 5-13.

- ERCAN, S. & SOYSAL, Ç. 2011. Effect of ultrasound and temperatura on tomato peroxidase. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18(2): 689-695.
- ERTUGAY, M. & BAŞLAR, M. 2014. The effect of ultrasonic treatment on cloudy quality-related quality parameters in apple juice. *Food Science & Emerging Technologies*. 26(2014): 226-231.
- ESCOBEDO-AVELLANEDA, Z.; GUTIÉRREZ-URIBE, J.; VALDEZ-FRAGOSO, A.; TORRES, J. & WELTI-CHANES, J. 2014. Phytochemicals and antioxidant activity of juice, flavedo, albedo and communited orange. *Journal of Functional Foods*. 6(2014): 470-481.
- 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.
- FANCIULLINO, A.; CERCÓS, M.; DHUIQUE, C.; FROELICHER, Y.; TALÓN, M.; OLLITRAULT, P. & MORILLON, R. 2008. Changes in carotenoid content and biosynthetic gene expression in juice sacs of four orange varieties (*Citrus sinensis*) differing in flesh fruit color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2008(56): 3628-3638.
- FAO. 2019. Consumo de frutas disminuye impacto de enfermedades crónicas. INTERNET. <http://www.fao.org/costarica/noticias/detail-events/es/c/1192547/>. Recuperado 16 de mayo de 2020.
- FAO. 2017. Recuperado de FAOSTAT Base de Datos. Roma. INTERNET. <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC>. Recuperado 13 de abril de 2019.
- FAVAS, M. 2018. World orange juice consumption falls again. Sao Paulo. INTERNET. <http://citrusindustry.net/2018/10/03/world-orange-juice-consumption-falls-again/>. Recuperado el 6 de marzo de 2020.
- FDA (Food and Drug Administration, EEUU)/CFSAN (Center for Food Safety & Applied Nutrition, EEUU). 2004. Guidance for Industry: Juice HACCP hazard and controls guidance, first edition; Final guidance. Estados Unidos. INTERNET. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance->

- documents/guidance-industry-juice-hazard-analysis-critical-control-point-hazards-and-controls-guidance-first. Recuperado el 5 de marzo de 2020.
- FERNÁNDEZ, A.; BARROS, L.; CARVALHO, A. & FERREIRA, I. 2010. Lipophilic and hydrophilic antioxidants, lipid peroxidation inhibition and radical scavenging activity of two Lamiaceae food plants. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 112(10): 1115-1121
- FERNÁNDEZ, R.; STINCO, C.; HERNANZ, D.; HEREDIA, F. & VICARIO, I. 2013. Colour training and color differences thresholds in orange juice. *Food Quality and Preference*. 30(2013): 320-327.
- FERNÁNDEZ, R.; STINCO, C.; MELÉNDEZ, A.; HEREDIA, F. & VICARIO, I. 2011. Visual and instrumental evaluation of orange juice color: a consumer's preference study. *Journal of Sensory Studies*. 26(2011): 436-444.
- FONTELES, T.; COSTA, M.; DE JESÚS, A.; DE MIRANDA, M.; FERNANDES, F. & RODRIGUES, S. 2012. Power ultrasound processing of cantaloupe melon juice: Effects on quality parameters. *Food Research International*. 48(2012): 41-48.
- FRANKE, A.; COONEY, R.; HENNING, S. & CUSTER, L. 2005. Bioavailability and antioxidant effects of orange juice components in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(2005): 5170-5178.
- FRATIANNI, A.; CINQUANTA, L. & PANFILI, G. 2010. Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. *LWT – Food Science and Technology*. 43(2010): 867-871.
- FRIEDRICH, J. 2001. Titratable activity of acid tastants. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 0(1): G2.1.1-G2.1.7.
- GAMA, J. & SYLOS, C. 2007 a. Effect of the thermal pasteurization and concentration on carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice. *Food Chemistry*. 100(2007): 1686-1690.
- GAMA, J. & SYLOS, C. 2005 b. Major carotenoid composition of Brazilian Valencia orange juice: identification and quantification by HPLC. *Food Research International*. 35(2005): 899-903.

- GIL, A. 2010. Tratado de Nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Editorial Médica Panamericana, Caracas.
- GIUFFRIDA, D.; TORRE, G.; DUGO, P. & DUGO, G. 2013. Determination of the carotenoid profile in peach fruits, juice and jam. *Fruits*. 68(1): 39-44.
- GOLMOHAMADI, A.; MÖLLER, G.; POWERS, J. & NINDO, C. 2013. Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20(2013): 1316-1323.
- 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.
- GONNET, J. 1998. Colour effects of co-pigmentation of anthocyanins revisited – 1.A. colorimetric definition using the CIELBAC scale. *Food Chemistry*. 63(3): 409-415.
- GUERROUJ, K.; SÁNCHEZ-RUBIO, M.; TABOADA-RODRIGUEZ, A.; CAVA-RODA, R. & MARÍN-INIESTA, F. 2016. Sonication at mild temperatures enhances bioactive compounds and microbiological quality of orange juice. *Food and Bioproducts Processing*. 99: 20-28.
- GUERRERO, S.; TOGNON, M. & ALZAMORA, S. 2005. Modeling the response of *S. cerevisiae* to combined action of ultrasound and low weight chitosan. *Food Control*. 16(2): 131-139.
- HAYTOWITZ, D. & BHAGWAT, 2010. USDA database for the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of selected foods, release 2. U.S. Department of Agriculture, Maryland.
- HENNING, S.; YANG, J.; SHAO, P.; LEE, R.; HUANG, J.; LY, A.; HSU, M.; LU, Q.; THAMES, G.; HEBER, D. & LI, Z. 2017. Health benefit of vegetable/fruit juice-based diet: Role of microbiome. *Scientific Reports*. 7(1): 1-9.
- HERRERO, A. & ROMERO, M. 2006. Innovaciones en el proceso de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*. 50(4): 71-74.
- HOLDSWORTH, S. 2009. Principles of thermal processing: sterilization. *In* Simpson, R. Engineering aspects of thermal food processing. CRC Press, Boca Ratón. p. 3-11.

- HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL; FLANAGAN, J. & DEEMER, E. 2002. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated  $\beta$ -cyclodextrin as the solubility enhancer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(2002): 1815-1821.
- HUI, Y. 2006. *Handbook of food science, technology and engineering*. CRC Press, Boca Ratón.
- IBARZ, A.; PAGÁN, J.; PANADÉS, R. & GARZA, S. 2005. Photochemical destruction of color compounds in fruit juices. *Journal of Food Engineering*. 69(2): 155-160.
- INEC. 2018. Resultados encuesta nacional agropecuaria 2017. Costa Rica. INTERNET. <https://www.inec.cr/sites/default/files/documentos-biblioteca-virtual/coena20112018.pdf>. Recuperado el 20 de marzo de 2020.
- JAN, A.; SOOD, M.; SOFI, A. & NORZOM, T. 2017. Non-thermal processing in food applications: A review. *International of Food Science and Nutrition*. 2(6): 171-180.
- JIANG, B.; MANTRI, N.; HU, Y.; LU, J.; JIANG, W. & LU, H. 2014. Evaluation of bioactive compounds of black mulberry juice after thermal, microwave, ultrasonic processing, and storage at different temperatures. *Food Science and Technology International*. 21(5): 392-399.
- JIMÉNEZ-ÁLVAREZ, D.; GIUFFRIDA, F.; VANROBAEYS, F.; GOLAY, P.; COTTING, C.; LARDEAU, A. & KEELY, B. 2008. High-throughput methods to assess lipophilic and hydrophilic antioxidant capacity of food extracts in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(10): 3470-3477.
- JOHNSON, G. & FAIRCHILD, M. 2003. *Digital color imaging handbook*. CRC Press, Boca Ratón.
- KARADENIZ, F. 2003. Main organic acid distribution of authentic citrus juices in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture*. 28(2004): 267-271.
- KARMAS, E. & HARRIS, R. 2012. *Nutritional evaluation of food processing*. Springer Science & Business Media, Berlín.
- KAROVICOVÁ, J. KOHAJDOVÁ, Z.; KUKOROVÁ, K. & LEHKOZIVOVÁ, J. 2007. Evaluation of orange juice on the base of selected authenticity markers. *Zywnoc-nauka Technologia Jakosc*. 2(51): 155-165.

- KEAN, R.; LAMPORT, D.; DODD, G.; FREEMAN, J.; WILLIAMS, C.; ELLIS, J.; BUTLER, L. & SPENCER, J. 2015. Chronic consumption of flavanone-rich orange juice is associated with cognitive benefits: An 8-wk randomized, double-blind, placebo-controlled trial in healthy older adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 101(3): 506-514.
- KELEBEK, H.; SELLI, S.; CANBAS, A. & CABAROGLU, T. 2009. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*. 91(2009): 187-192.
- KHANDPUR, P. & GOGATE, P. 2015. Evaluation of ultrasound based sterilization approaches in terms of shelf life and quality parameters of fruit and vegetable juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 29(2016): 337-353.
- KHO, H.; PRASAD, K.; KONG, K.; JIANG, Y. & ISHMAIL, A. 2011. Carotenoids and their isomers: Color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*. 16(2): 1710-1738.
- KHOSRAVI, F.; RASTAKHIZ, N.; IRANMANESH, B. & OLIA, S. 2015. Determination of organic acids in fruit juices by UPLC. *International Journal of Life Sciences*. 9(5): 41-44.
- KOPEC, R.; COOPERSTONE, J.; CICHON, M. & SCHWARTZ, S. 2012. Analysis methods of carotenoids. *In* Xu, Z. & Howard, L. *Analysis of antioxidant – Rich phytochemicals*. John Wileys & Sons, New Jersey. p. 105-148.
- KUMAR, M.; KUMAR, S. & KAUR, S. 2011. Investigations on DNA protective and antioxidant potential of chloroform and ethyl acetate fractions of *Koultreuteria paniculata* Laxm. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 5(3): 421-427.
- KUMCUOGLU, S.; YILMAZ, T. & TAVMAN, S. 2014. Ultrasound assisted extraction of lycopene from tomato processing wastes. *Journal of Food Science and Technology*. 51(12): 4102-4107.
- LEE, H. & COATES, G. 2003. Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. *LWT – Food Science and Technology*. 36(2003): 153-156.
- LEONG, T.; ASHOKKUMAR, M. & KENTISH, S. 2011. The fundamentals of power ultrasound – A review. *Acoustic Australia*. 39(2): 54-63.

- LOZANO, J. & IBARZ, A. 2007. Colour changes in concentrated fruit pulps during heating at high temperatures. *Journal of Food Engineering*. 34(2007): 365-373.
- LIU, J.; DONG, H.; CHEN, B.; ZHAO, P. & LIU, R. 2009. Fresh apples suppress mammary carcinogenesis, proliferative activity and induce apoptosis in the mammary tumors of the Sprague-Dawley rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(1): 297-304.
- LU, Q.; PENG, Y.; ZHU, C. & PAN, S. 2018. Effect of the thermal treatment on carotenoids, flavonoids and ascorbic acid in juice of orange cv. Cara Cara. *Food Chemistry*. 265: 39-48.
- MAGWAZA, L. & OPARA, U. 2015. Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products – A review. *Scientia Horticulturae*. 184(2005): 179-192.
- MAIANI, G.; PERIAGO CASTÓN, M.; CATASTA, G.; TOTI, E.; CAMBRODÓN, I.; BYSTED, A.; GRANADO-LORENCIO, F.; OLMEDILLA-ALONSO, B.; KNUTHSEN, P.; VALOTI, M.; BÖHM, V.; MAYER-MIEBACH, E.; BEHSNILIAN, D. & SCHLEMMER, U. Carotenoides: Actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular Nutrition & Food Research*. 53(S2): S194-S218.
- MANACH, C.; MORAND, C.; GIL, A.; BOUTELOUP, C. & REMESY, C. 2003. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *European Journal of Clinical Nutrition*. 57(2): 235-242.
- MARCUS, J. 2013. *Culinary nutrition: the science and practice of healthy cooking*. Elsevier, Illinois.
- MARTÍNEZ, H.; GARNICA, M.; BERMÚDEZ, D.; POKHREL, P. & BARBOSA, G. 2015. Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermosonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*. 172(2015): 650-656.
- MELÉNDEZ, J. 2005. Estudio de los carotenoides y del color de zumos de naranja. Tesis Dr. en Farmacia. Universidad de Sevilla, Área de Nutrición y bromatología del Departamento de Bioquímica, Bromatología, Toxicología y Medicina General. Sevilla.

- MELÉNDEZ, A.; VICARIO, I.; HEREDIA, 2007 a. Review: Analysis of carotenoids in orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20(2007): 638-649.
- MELÉNDEZ, A.; VICARIO, I. & HEREDIA, J. 2007 b. Provitamin A carotenoids and ascorbic acid contents of the different types of orange juices marketed in Spain. *Food Chemistry*. 101(1): 177-184.
- MELÉNDEZ, A.; BRITTON, G.; VICARIO, I. & HEREDIA, F. 2005 a. Color and carotenoid profile of Spanish Valencia late ultrafrozen orange juices. *Food Research International*. 38(2005): 931936.
- MELÉNDEZ, A.; VICARIO, I. & HEREDIA, J. 2005 b. Instrumental measurement of orange juice colour: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 85(6): 894-901.
- MELÉNDEZ, A.; VICARIO, I. & HEREDIA, F. 2003. A routine high-performance liquid chromatography method for carotenoid determination in ultrafrozen orange juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003(51): 4219-4224.
- MERCADO, G.; LÓPEZ, V.; MONTALVO, E.; GONZÁLEZ, M.; GONZÁLEZ, G.; ÁLVAREZ, P. & SÁYAGO, S. 2018. Efecto de la extracción asistida por ultrasonido en la liberación y bioaccesibilidad *in vitro* de carotenoides, en bebidas elaboradas con mango (*Mangifera indica* L. ‘Ataulfo’). *Revista de Investigación de la Universidad de la Salle Vajío*. 10(20): 100-132.
- MERCADO, G.; MONTALVO, E.; GONZÁLEZ, E.; ÁLVAREZ, E. & SÁYAGO, S. 2017. Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from mango (*Mangifera indica* L. ‘Ataulfo’) by-products on *in vitro* bioaccessibility. *Food Bioscience*. 21(2017): 125-131.
- MENZE, E.; TADROS, M.; ABDEL-TAWED, A. & KHALIFA, A. 2012. Potential neuroprotective effects of hesperidin on 3-nitropropionic acid-induced neurotoxicity in rats. *Neurotoxicology*. 33(2012): 1265-1275.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA. 2018. Boletín estadístico agropecuario. Costa Rica. INTERNET. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/BEA-0029.PDF>. Recuperado el 6 de marzo de 2020.

- MINISTERIO DE COMUNICACIÓN. 2019. Sector agro convoca a 40 mil puestos para recolección de cosechas. Costa Rica. INTERNET. <https://www.presidencia.go.cr/comunicados/2019/09/sector-agro-convoca-a-40-mil-puestos-para-recoleccion-de-cosechas/>. Recuperado el 20 de marzo de 2020.
- MISRA, N.; MARTYNENKO, A.; CHEMAT, F.; PANIWNKYK, L.; BARBA, F. & REZEK, A. 2018. Thermodynamics, transport phenomena and electrochemistry of external field assisted non-thermal food technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 58(11): 1832-1863.
- MOHARRAM, H. & YOUSSEF, M. 2014. Methods for determining the antioxidant activity: A review. *Journal of Food Science and Technology*. 11(1): 31-42.
- MOULY, P.; GAYDOU, E.; LAPIERRE, L. & CORSETTI, J. 1999. Differentiation of several geographical origins in single-strength Valencia orange juices using quantitative comparison of carotenoid profiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47(10): 4038-4045.
- MUHAMMAD, U.; SAQIB, J.; SENAN, A.; SULTANA, T.; NASIRU, M.; SHAH, A.; ZHUANG, H. & JIANHAO, Z. 2019. Influence of combined effect of ultrasonication and high-voltage cold plasma treatment on quality parameters of carrot juice. *Foods*. 8(11): 593-607.
- MURADOR, D.; DA CUNHA, D. & DE ROSSO, V. 2014. Effects of cooking techniques on vegetable pigments: A meta-analytic approach to carotenoid and anthocyanin levels. *Food Research International*. 65(Part B): 177-183.
- MUREDZI, P. 2012. *Emerging non-thermal food processing technologies*. CBH Books, Massachusetts.
- NDIFE, J.; AWOGBENJA, D. & ZAKARI, U. 2013. Comparative evaluation of the nutritional and sensory quality of different brands of orange-juice in Nigerian market. *African Journal of Food Science*. 4(2): 43-47.
- NEPOMUCENO, J. 2011. Antioxidants in cancer treatment: Current cancer treatment – novel beyond conventional approaches. INTERNET. <https://www.intechopen.com/books/current-cancer-treatment-novel-beyond->

- conventional-approaches/antioxidants-in-cancer-treatment. Recuperado el 11 de marzo de 2020.
- OHLSSON, T. & BENGTSSON, N. 2002. Minimal processing technologies in the food industries. Elsevier, Boston.
- OJHA, K.; TIWARI, B. & O'DONNELL, C. 2018. Effect of ultrasound technology on food and nutritional quality. *In* Toldra, F. *Advances in Food and Nutrition Research*. Academic Press, Dublín. p. 207-240.
- ORTEGA, E. 2011. *Non-thermal food engineering operations*. Springer, Nueva York.
- PANCHE, A.; DIWAN, A.; CHANDRA, S. 2016. Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*.5(47): 1-15.
- PATHARE, P.; OPARA, U. & AL-SAID, F. 2012. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and Bioprocess Technology*. 6(1): 36-60.
- PIYASENA, P.; MOHAREB, E. & MCKELLAR, R. 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: A review. *International Journal of Food Microbiology*. 87(3): 207-216.
- PLAZA, L.; ELEZ, P. & MARTÍN, O. 2006. Effect of refrigerated storage on vitamin C and antioxidant activity of orange juice processed by high-pressure or pulsed electric fields with regard to low pasteurization. *European Food Research and Technology*. 223(2006): 487-493.
- PÉREZ, A.; BELTRAN, F.; SERRANO, M.; SAURA, D. & CARBONELL, A. 2005. Changes in orange juice color by addition of mandarin juice. *European Food Research and Technology*. 2006(222): 516-520.
- PERUMALLA, V. & HETTIARACHCHY, N. 2011. Green tea and grape seed extracts – Potential application in food safety and quality. *Food Research International*. 44(4): 827-839.
- PETRY, F. & MERCADANTE, A. 2017. New method for carotenoid extraction and analysis by HPLC-DAD-MS/MS in freeze-dried citrus and mango pulps. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 26(1): 205-215.
- PFISTER, R.; SHARP, S.; LUBEN, R; WAREHAM, N. & KHAW, K. 2011. Plasma vitamin C predicts incident heart failure in men and women in European Prospective

- Investigation into cancer and nutrition-norfolk prospective study. *American Heart Journal*. 162(2): 246-453.
- PRAKASH, D. & GUPTA, C. 2014. Carotenoids: chemistry and health benefits. *Phytochemicals of Nutraceutical Importance*. In Prakash, D. & Sharma, G. *Phytochemical and nutraceutical importance*. CAB International, Reino Unido. p. 181-195.
- PRICHARD, E. 2003. *Measurement of pH*. LGC Limited, Cambridge, Reino Unido.
- PRINGET, D.; FABIANO-TIXIER, A. & CHEMAT, F. 2013. Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food Control*. 31(2): 593-606.
- PRIOR, R.; HOANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL.; HUANG, D.; OU, B. & JACOB, R. 2003. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(11): 3273-3279.
- PROCTOR, A. 2018. *Alternatives to conventional food processing*. 2 ed. Royal Society of Chemistry, Reino Unido.
- PROCOMER. 2019. Portal estadístico de comercio exterior: Exportaciones de jugos y concentrados de fruta. Costa Rica. INTERNET. <http://sistemas.procomer.go.cr/estadisticas/inicio.aspx>. Recuperado el 6 de marzo de 2020.
- PROCOMER. 2018. *Estadística de comercio exterior*. Dirección de Inteligencia Comercial, San José.
- PULIDO, R.; HERNÁNDEZ, M. & SAURA, F. 2003. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical Nutrition*. 57(10): 1275-1282.
- PUPIN, A.; DENNIS, M. & TOLEDO, M. 1999. HPLC analysis of carotenoids in orange juice. *Food Chemistry*. 64(1999): 269-275.

- QUIGLEY, J.; LAGO, A.; CHAPMAN, C.; ERICKSON, P. & POLO, J. 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. *Journal of Dairy Science*. 96(2): 1148-1155.
- RANA, A.; MENA & SHWETA. 2017. Ultrasonic processing and its use in food industry: A review. *International Journal of Chemical Studies*. 5(6): 1961-1968.
- RASO, J. & BARBOSA, G. 2003. Nonthermal preservation of foods using combined processing techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43(3): 265-285.
- RAVIKUMAR, M.; SUTHAR, H.; DESAI, C. & GOWDA, S. 2017. Ultrasonication: an advanced technology for food preservation. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*. 5(6): 363-371.
- RAWSON, A.; PATRAS, A.; TOWARO, B.; NOCI, F.; KOUTCHMA, T. & BRUNTON, N. 2011. Effect of thermal and non-thermal processing technologies on the bioactive content of exotics fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*. 44(7): 1875-1887.
- RAWSON, A.; TIWARI, B.; PATRAS, A.; BRUNTON, N.; BRENNAN, C.; CULLEN, P. & O'DONNELL, C. 2010. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. *Food Research International*. 44(2011): 1168-1173.
- ROJAS, C.; GLEICHENHAGEN, M.; HELLER, A.; ESQUIVEL, P.; SCHULZE, N. & SCHIEBER, A. 2017. Carotenoid profile, antioxidant capacity, and chromoplasts of pink guava (*Psidium guajava* L. Cv. 'Criolla') during fruit ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017(65): 3737-3747.
- ROJAS, C.; PÉREZ, A.; BUSTOS, J. & VAILLANT, F. 2011. Identification and quantification of carotenoids by HPLC-DAD during the process of peach palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) flour. *Food Research International*. 44(2011): 2377-2384.
- RODRIGO, M.; CILLA, A.; BARBERÁ, R. & ZACARÍAS, L. 2015. Carotenoid bioaccessibility in pulp and fresh juice from carotenoid-rich sweet oranges and mandarins. *Food & Function*. 6(6): 1950-1959.
- RODRIGUEZ, D. 1999. A guide to carotenoids analysis in foods. International life Sciences Institute Press, Washington DC.

- RODRÍGUEZ-ROQUE, M.; DE ANCOS, B.; SÁNCHEZ-VEGA, R.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; CANO, M.; ELEZ-MARTÍNEZ, P. & MARTÍN-BELLOSO, O. 2016. Food matrix and processing influence on carotenoid bioaccessibility and lipophilic antioxidant activity of fruit juice-based beverages. *Food & Function*. 7(1): 380-389.
- ROSELLÓ, E.; THIRUMDAS, R.; LORENZO, J.; SICHETTI, P.; PUTNIK, P.; ROOHINEJAD, S.; MALLIKARJUNAN, K. & BARBA, F. 2019. An integrated strategy between gastronomic science, food science and technology, and nutrition in the development of healthy food products. *In* Barba, D.; Alexandre, J.; Cravotto, G. & Lorenzo, M. Innovative thermal and non-thermal processing, bioaccessibility and bioavailability of nutrients and bioactive compounds. Woodhead Publishing, Reino Unido. p. 3-21.
- ROOBHA, J.; SARAVANAKUMAR, M.; ARAVINDHAN, K. & SUGANYA, P. 2011. The effect of light temperatura, pH on stability of the anthocyanin pigments in *Musa acuminata* bract. *Research in Plant Biology*. 1(5): 5-12.
- RUBIO C.; HERNÁNDEZ, J.; MARTÍNEZ, S.; TVARIJONAVICIUTE, A. & CERON, J. 2016. Spectrophotometric assays for total antioxidant capacity (TAC) in dog serum: an update. *BMC Veterinary Research*. 12(1): 166-173.
- SÁNCHEZ, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B. & CANO, M. 2003 a. Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83(5): 430-439.
- SÁNCHEZ, C.; PLAZA, L.; DE ANCOS, B. & CANO, M. 2003 b. Vitamin C, provitamin A carotenoid, and other carotenoids in high-pressure orange juice during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(3): 647-653.
- SANDEEP, K. 2011. Thermal processing of foods: Control and automation. John Wiley & Sons, Iowa.
- SANTHIRASEGARAM, V.; RAZALI, Z. & SOMASUNDRAM, C. 2013. Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes on Chokanan mango (*Mangifera inidica* L.) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 20(2013): 1276-1282.

- SANTOS, N.; SALAS, R.; VILLANUEVA, C. & HERNÁNDEZ, B. 2019. Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. *Antioxidants*, Cairo.
- SANTOS, A.; BOTTONI, S.; SILVA, D.; SAO JOSE, J. & SILVA, E. 2018. Study of the consumer of ready-to-drink juices and fruit nectars. *Food Science and Technology*. 38(5): 504-512.
- SEGURA, M. 2011. *Manipulador de comidas preparadas*. Editorial Club Universitario, San Vicente.
- SEPSA. 2018. Boletín estadístico agropecuario. Costa Rica. INTERNET. <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/BEA-0028.PDF>. Recuperado el 20 de marzo de 2020.
- SHACHMAN, M. 2004. *The soft drinks companion: A technical handbook for the beverage industry*. CRC Press, Boca Ratón.
- SHARMA, G.; WU, W. & DALAL, E. The CIEDE2000 color difference formula: Implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Color Research & Application*. 30(1): 21-30.
- SHEHANAZ, A. 2013. The antioxidant effect of certain fruits: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(12): 265-268.
- SIMUNEK, M.; JAMBRAK, A.; PETROVIC, M.; JURETIC, H.; MAJOR, N.; HERCEG, Z.; HRUSKAR, M. & VUKUSIC, T. 2013. Aroma profile and sensory properties of ultrasound-treated apple juice and nectar. *Food Technology and Biotechnology*. 51(1): 101-111.
- SINGH, P. & KUMAR, N. 2019. Application of ultrasonic in food processing. *In* Chauhan, O. *Non-thermal processing of foods*. CRC Press, Boca Ratón. 145-172.
- SONG, J.; LI, D.; PANG, H. & LIU, C. 2015. Effects of ultrasonic waves on the stability of all-trans lutein and its degradation kinetics. *Ultrasonics Sonochemistry*. 27(2015): 602-608.
- 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.

- SUAREZ, S. 2018. Effect of ultrasound technology on structure, physical properties and lycopene *in vitro* accessibility in guava juice. São Paulo, University of São Paulo.
- SUN, D. 2011. Thermal food processing: New technologies and quality issues. 2 ed. CRC Press, Boca Ratón.
- SUN, Y.; MA, G.; YE, X.; KAKUDA, Y. & MENG, R. 2010. Stability of all-trans-[beta]-carotene under ultrasound treatment in a model system: Effects of different factors, kinetics and newly formed compounds. *Ultrasonics Sonochemistry*. 17(4): 654-661.
- STATISTA CONSUMER MARKET OUTLOOK. 2019. Non-alcoholic drinks report 2019 – juices. Nueva York. INTERNET. <https://www.statista.com/outlook/20030000/100/juices/worldwide#market-globalRevenue>. Recuperado el 6 de marzo de 2020.
- STINCO, C.; FERNÁNDEZ-VÁZQUES, R.; ESCUDERO-GILETE, M.; HEREDIA, F.; MELÉNDEZ, A. & VICARIO, I. 2012. Effect of orange juice's processing on the color, particle size, and bioaccessibility of carotenoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 60(2012): 1447-1455.
- TAO, Y.; SUN, D.; HOGAN, E. & KELLY, A. 2014. High-pressure processing of foods: an overview. *In* Sun, D. *Emerging technologies for food processing*. Elsevier, London. p. 3-24.
- TEREFE, N.; SIKES, A. & JULIANO, P. 2016. Ultrasound for structural modification of food products. *In* Knoerzer, K.; Juliano, P. & Smithers, G. *Innovative Food Processing Technologies*. Woodhead Publishing, Cambridge. p. 209-230.
- TEWARI, G. 2007. High-pressure processing of foods. *In* Tewari, G. & Juneja, V. *Advances in thermal and non-thermal food preservation*. Blackwell Publishing, Iowa. p. 203-240.
- THE FOOD INSTITUTE. 2019. Americans are drinking less orange juice. New Jersey. INTERNET. <https://foodinstitute.com/focus/americans-are-drinking-less-orange-juice>. Recuperado el 20 de marzo de 2020.
- TIWARI, B.; O'DONNELL, C.; MUTHUKUMARAPPAN, K. & CULLEN, P. 2009. Effect of sonication on orange juice quality parameters during storage. *International Journal of Food Science & Technology*. 44(3): 586-595.

- TIWARI, B.; O'DONNELL, C.; PATRAS, A. & CULLEN, P. 2008. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(2008): 10071-10077.
- TOMMONARO, G.; DE PRISCO, R.; PERGAMO, R.; IODICE, C.; ABBAMONDI, G.; SPAGNUOLO, A. & NICOLAUS, B. 2015. Effects of industrial processes on antioxidant power and polyphenols profile in cherry tomato cultivar. *Journal of Medicinal Food*. 18(10): 1173-1178.
- TUCKER, G. & FEATHERSTONE, S. 2011. *Essentials of thermal processing*. John Wiley & Sons, Reino Unido.
- TURNER, T. & BURRI, B. 2013. Potential nutritional benefits of current citrus consumption. *Agriculture*. 2013(3): 170-187.
- VALDRAMIDIS, V.; CULLEN, P.; TIWARI, C. & O'DONNELL, C. 2010. Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing. *Journal of Food Engineering*. 96(2010): 449-454.
- VALERO, M.; RECROSIO, N.; SAURA, D.; MUÑOZ, N.; MARTÍ, N. & LIZAMA, V. 2006. Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering*. 80(2007): 509-516.
- WAHEEDA, F. 2011. Comparison of thermally pasteurized and ultrasonically pasteurized blueberry juice (*Vaccinium corymbosum*) and an investigation of blueberry juice effect on lipid oxidation during microencapsulation of poly-unsaturated fish oils. Tesis Maestría en Ciencias de Alimentos. Louisiana State University, Agricultural and Mechanical College. Louisiana
- WEI, X.; SONG, M.; CHEN, C.; TONG, H.; LIANG, G. & GMITTER, F. 2018. Juice volatile composition differences between Valencia orange and its mutant Rohde Red Valencia are associated with carotenoid profile differences. *Food Chemistry*. 245(2017): 223-232.
- WILSON, D.; NASH, P.; SINGH, H.; GRIFFITHS, K.; SINGH, R.; DE MEESTER, F.; HORIUCHI, R. & TAKAHASHI, T. 2017. The role of food antioxidants, benefits of

- functional foods, and influence of feeding habits on the health of the older person: and overview. *Antioxidants*. 6(4): 1328-1331.
- WONG, E. 2010. Combinación de sonicación y almacenamiento en alta presión osmótica: Una alternativa de procesamiento para obtener jugos de frutas inocuos y de alta calidad. Tesis Dr. en Ciencias. Universidad de Costa Rica, Programa de Doctorado en Ciencias. San José.
- XIAO, Y.; HUANG, W.; LI, D.; SONG, J.; LIU, C.; WEI, Q.; ZHANG, M. & YANG, Q. 2017. Thermal degradation kinetics of all-trans and cis-carotenoids in a light-induced model system. *Food Chemistry*. 15(239): 360-368.
- YIKMIS, S. 2016. New approaches in non-thermal processes in the food industry. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*. 5(5): 344-351.
- ZAFRA-ROJAS, Q.; CRUZ-CANSINO, N.; RAMÍREZ-MORENO, E.; DELGADO-OLIVARES, L.; VILLANUEVA-SÁNCHEZ, J. & ALANÍS-GARCÍA, E. 2013. Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Pontiac ficus-indica*) juice. *Ultrasonic Sonochemistry*. 20(5): 1283-1288.
- ZEPKA, L.; BORSARELLI, C.; DA SILVA, M. & MERCADANTE, A. 2009. Thermal degradation kinetics of carotenoids in a cashew apple juice model and its impact on the system color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57(17): 7841-7845.
- ZHANG, H.; BARBOSA, G.; BALASUBRAMANIAM, V.; DUNNE, C.; FARKAS, D. & YUAN, J. 2011. Non-thermal processing technologies for food. Blackwell Publishing Ltd, Rein Unadon.
- ZINOVIADOU, K.; GALANAKIS, C.; BRNCIC, M.; GRIMI, N.; BOUSSETTA, N.; MOTA, M.; SARAIVA, J.; PATRAS, A.; TIWARI, B. & BARBA, F. 2015. Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*. 77(4): 743-752.
- ZOU, Y. & HOU, X. 2017. Sonication enhances quality and antioxidant activity of blueberry juice. *Food Science and Technology*. 37(4): 599-603.

## 9. ANEXOS

### 9.2. Cálculo del tiempo de tratamiento total de ultrasonido sobre jugo de naranja

#### 9.2.1 *Tiempo de residencia de jugo en la celda ( $t_R$ ):*

$$t_R(\text{min}) = \frac{\text{Volumen de la celda (mL)}}{\text{Flujo volumétrico } \left(\frac{\text{mL}}{\text{min}}\right)}$$

Al considerar que la celda de sonicación cuenta con un volumen de 60 mL y el flujo volumétrico seleccionado corresponde a 106 mL/min, el cálculo indica que, para 1 min de circulación del jugo de naranja en el sistema, este ha recibido el tratamiento ultrasónico por un tiempo efectivo de 0,566 min.

$$t_R(\text{min}) = \frac{60 \text{ mL}}{106 \frac{\text{mL}}{\text{min}}} = 0,566 \text{ min}$$

#### 9.2.2 *Tiempo necesario para circulación total de la muestra ( $t_V$ )*

$$t_V(\text{min}) = \frac{\text{Volumen de muestra (mL)}}{\text{Flujo volumétrico } \left(\frac{\text{mL}}{\text{min}}\right)}$$

Al considerar un volumen total de jugo de naranja de 300 mL para cada tratamiento y que el flujo volumétrico seleccionado corresponde a 106 mL/min, el cálculo indica que le toma 2,83 min al sistema circular todo el volumen de muestra.

$$t_V(\text{min}) = \frac{300 \text{ mL}}{106 \left(\frac{\text{mL}}{\text{min}}\right)} = 2,83 \text{ min}$$

#### 9.2.2 *Tiempo total de operación del ultrasonido ( $t_T$ )*

$$t_T(\text{min}) = \frac{\text{tiempo de tratamiento efectivo (min)} \times t_V(\text{min})}{t_R(\text{min})}$$

Al suponer que se busca un tiempo de tratamiento efectivo de 4 min y tomando en consideración los valores calculados de tiempo necesario para la circulación total de la muestra y tiempo de residencia se obtiene que se debe circular el jugo en el sistema durante 20 min.

$$t_T(\text{min}) = \frac{4 \text{ min} \times 2,83 \text{ min}}{0,566 \text{ min}} = 20 \text{ min}$$

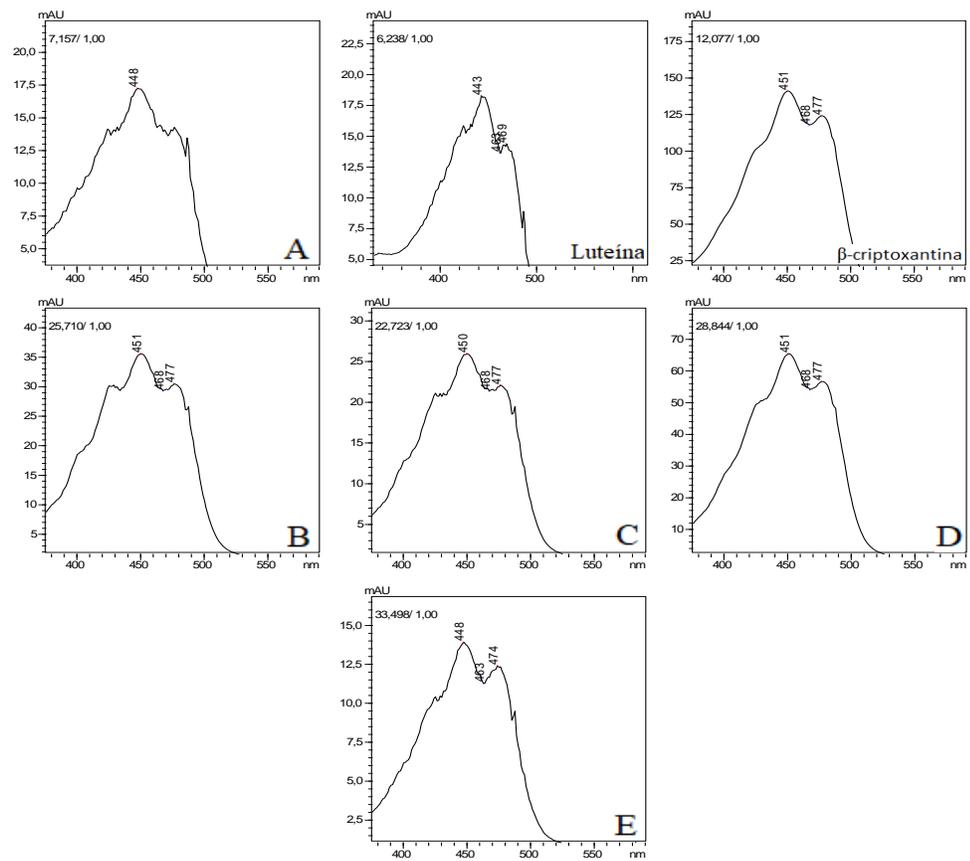
**Cuadro II.** Valores de contenido de humedad, pH, acidez total titulable, sólidos solubles y parámetros de color del jugo de naranja fresco obtenidos para su caracterización.

Acidez total <sup>1</sup>	Brix	Humedad	pH
(0,90 ± 0,16) g / 100g	9,37 ± 0,27	(90,67 ± 0,58) g / 100g	3,53 ± 0,13

<sup>1</sup> expresado como ácido cítrico

**Cuadro III.** Parámetros de color determinados para el jugo de naranja utilizando un colorímetro 45-0 a diferentes tiempos de aplicación de ultrasonido.

Tiempo de sonicación	L*	a*	b*
0 min	38 ± 10	0,42 ± 2,20	32 ± 22
20 min	34 ± 12	-0,70 ± 2,43	26 ± 18
40 min	41 ± 14	1,50 ± 1,45	37 ± 20
60 min	43 ± 5	1,17 ± 1,45	36 ± 12
80 min	35 ± 11	-0,37 ± 2,77	26 ± 21
10 min	38 ± 14	0,86 ± 2,85	32 ± 20



**Figura 11.** Espectros UV de los carotenoides encontrados en jugo de naranja fresco.



**Figura 12.** Equipo marca Zumex utilizado para la extracción del jugo de naranja. Modelo Speed S+Plus, Zumex Group S.A.