



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias de la Salud
Área Académica de Nutrición

“Propiedades microbiológicas, fisicoquímicas, enzimáticas y antioxidantes en néctar de guanábana (*Annona muricata*) termoultrasonicado”.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN NUTRICIÓN

PRESENTA

P.L.N. Jiménez Hernández José Luis

No. cuenta: 317166

Bajo la Dirección de:

Dra. Nelly Del Socorro Cruz Cansino

Profesor de tiempo completo del Instituto de Ciencias de la Salud

Codirector:

Dr. Ernesto Alanís García

Profesor de tiempo completo del Instituto de Ciencias de la Salud

Pachuca de Soto, Hgo., noviembre del 2020





**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**



De acuerdo con el artículo 40 del Reglamento de Titulación vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

"Propiedades microbiológicas, fisicoquímicas, enzimáticas y antioxidantes en néctar de guanábana (*Annona muricata*) termoultrasonicado"

Que para obtener el Título de Licenciado en Nutrición sustenta el Pasante

C. José Luis Jiménez Hernández

A T E N T A M E N T E
Pachuca, Hidalgo, 22 de octubre de 2020
"Amor, Orden y Progreso"

| | |
|-------------------|-------------------------------------|
| PRESIDENTE: | DRA. GUADALUPE LÓPEZ RODRÍGUEZ |
| SECRETARIO: | DRA. QUINATZIN YADIRA ZAFRA ROJAS |
| PRIMER VOCAL: | DR. JOSÉ ALBERTO ARIZA ORTEGA |
| SEGUNDO VOCAL: | DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA |
| TERCER VOCAL: | DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO |
| PRIMER SUPLENTE: | MTRO. TEODORO SUÁREZ DIÉGUEZ |
| SEGUNDO SUPLENTE: | DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO |

Dedicatoria

En los momentos más difíciles suelo recordar una frase muy poco escuchada, pero de absoluta certeza y es la siguiente: El hombre no puede obtener nada sin primero dar algo a cambio. Para crear, algo de igual valor debe darse a cambio. Está es la “Ley de equivalencia”. La llevo a la mente cada que pienso en rendirme por no obtener lo deseado o cuando las cosas no resultan, y con esa frase me obligo a crecer, a trabajar más duro, tanto en el ámbito material, profesional y sentimental.

Mi primer dedicatoria como agradecimiento es al creador, la mayoría solemos agradecer a algo más grande que nosotros mismos, y es a un Dios o a un creador, aún desconozco mi función en este mundo, pero, todos los días me esmero en ser una mejor persona, en no fallar a mi cometido de vida sin dejar a un lado mis deseos y objetivos, siempre agradeceré por cada una de las pruebas vividas a través del tiempo y de las personas que he conocido. Y así ser del agrado del creador.

A mis padres, no solo les debo mucho en el ámbito económico (broma), les debo esfuerzos físicos, lagrimas, sangre y sudor. Ellos me conocen más que nadie y saben que no soy un ser expresivo por abrazos, caricias o besos, que suelo estar acorazado, sin embargo, también saben que el amor que les tengo es muy grande, que si pudiese dar mi vida por ellos lo haría, que siempre he querido que se sientan orgullosos de traerme al mundo, que todos sus sacrificios han sido aprovechados, que solo he de llevar todo lo bueno que son y que me han enseñado, el ejemplo en el sentido del amor y esfuerzo a un hijo. El día que la vida me confiera la responsabilidad de ser un padre buscaré su guía y todas las bases que me brindaron. Un hijo es la mayor tesis que uno trae sobre este plano existencial y ustedes aún no acaban de concluirla. Diría Gustavo Cerati: “Gracias totales”.

Hermano, a pesar de ser tan pequeño, me demostraste más que ningún otro ser, el sentido de la vida, la misión de vivir y que el amor puede ser uno de los mayores motores para hacer aún mejor las cosas, que solo debemos detenernos para descansar y seguir intentando, es muy difícil escribirte sobre todo porque físicamente no puedo mirarte e inspirarme, tengo que hacer insight y observar todo lo que dejaste dentro de mí... Espero que en donde estés, te sientas orgulloso de mí, esta tesis va dedicada con mucho esfuerzo a ti hermano. Te extraño y te mando un enorme abrazo y recuerda que algún día nos volveremos a encontrar.

A Lumi, mi compañera, amiga y amor de la carrera, te recuerdo apoyándome en los momentos más difíciles durante mi vida universitaria, como en la escritura de esta tesis, te dedico los esfuerzos invertidos en este trabajo. Gracias por las desveladas, por aguantar las exposiciones y que, en muchas ocasiones no entendías, pero, con atención observabas y preguntabas, hoy te estoy muy agradecido por todas las atenciones, la comida, las vivencias y malos ratos que hemos vivido juntos, todo ello me ha ayudado a crecer y contribuir a la persona que actualmente soy, sin ti no hubiese roto mis límites, y si he llegado tan lejos es por creer en mí, por depositar tu fe y confianza, no te fallaré, seré un gran compañero de vida en tu camino. Te dedico todo esto, con mucho amor y esfuerzo.

Esta tesis también va dedicada a ti, que estás leyendo para apoyarte en alguna metodología o en la redacción, espero que te sirva, que cuestiones lo escrito y conozcas más a fondo, que te incite a investigar como a aprender. Si estás en una situación frustrante o estresante recuerda que solo estas rompiendo tus límites y que aún no has dado todo tu potencial. Siempre puedes dar más que ayer.

Por último, dedico estas letras a mis maestros, que con sus lecciones y motivaciones han sido de mucha ayuda para seguir estudiando y creer en mí. A mi familia cercana, que con sus convivencias me hacían olvidar cualquier conflicto, que muchas veces apoyaron a mis padres y hermano, hoy también estoy aquí por ustedes, gracias tíos, primos, sobre todo a Jeleni que no solo fue mi prima-hermana, si no mi amiga, roomie y psicóloga de base. En especial a mi tía y abuelita que perdí durante el término de esta tesis, pensé decirles de frente con tesis en mano lo mucho que les agradecía por apoyar a mis padres, pero, hoy están en un lugar mejor y espero que vean los frutos de su amor, como apoyo y disciplina. Siempre les estaré agradecido con toda mi alma.

Agradecimiento

En primera instancia, le estoy muy agradecido a usted Dra. Nelly, por la confianza y el tiempo depositado con el fin de culminar este trabajo. Le agradezco por las enseñanzas y la disciplina que instruyo en la estancia de mi servicio social, por ayudarme a romper mis límites, mostrarme que todo el mundo trabaja bajo presión, pero, bajo la presión adecuada. Gracias por los buenos momentos y charlas, usted es una gran líder y humano. De nuevo muchas gracias por hacerme llegar más lejos.

A mis dos grandes amigos, Catty y Max, siempre creyeron en mí a pesar de ser muy autodestructivo, me ayudaron a crecer, en confiar en mí, siempre y no había día que las risas faltarán, con ustedes viví mis mejores días de universidad, paseos, comidas y fiestas, pasamos de todo y por ello los considero mis hermanos, los quiero mucho, así como espero que sigamos siendo los grandes amigos, compañeros y hermanos en esta vida, como las que siguen. También a un nuevo, pero, no menos amigo, Paco (senpai)... eres una gran maestro de vida, apoyo y consejero, te estoy agradecido doctor, siempre llegan personas a nuestras vidas para crecer.

El siguiente agradecimiento es para mis compañeros de laboratorio. Chicos sinceramente las pláticas y el café por la mañana son mejor con ustedes, Traspaña (senpai), te convertiste en un gran amigo y un hermano, siempre vas a contar conmigo, muchas gracias por ayudarme con mis metodologías y también dejarme aprender por mi propia mano, gracias por los podcast y lugares garnacheros que conocí por ti, por las sesiones de videojuegos, por los aventones que terminaban hasta Téllez, por los regaños cuando tomaba café, gracias por ser un gran amigo y compañero de laboratorio, también te consideró mi hermano. Liss (senpai), como describir tus enojos y regaños, que al final de cuentas ayudaban a no cometer errores en las metodologías, me enseñaste la importancia de ser perseverante con nuestros sueños, gracias por dejarme escuchar tus conflictos y hacerme tu amigo, sigue siendo una mujer trabajadora, llegarás muy lejos, ya verás. Mary Cry-baby (senpai), eres uno de los seres más sentimentales que hay en la tierra, gracias por recibirme en tu casa, por ser una amiga que esta cuando se le necesita y darme grandes consejos para mi desarrollo, así como regaños y risas en el coche camino a casa, Betty bebé, sabes que siempre te llevo en mi corazón no solo por ser la más pequeña si no por que también me diste tu mano leal cuando lo necesité, así como barbacoa. Los quiero mucho y los admiro.

Jess, Iris, Majito, gracias niñas por su cariño, por las bromas, consejos, series, podcast, películas y anécdotas, ustedes alegraban mis días, las quiero mucho a pesar del corto tiempo de convivencia, siempre rompan sus límites.

A los chicos de posgrado, maestra Claudia siempre le he tenido una enorme admiración por su manera de enseñar y guiar, tanto que en este proceso usted siguió haciéndolo, siempre le agradeceré, no dudó que serán usted y el maestro Omar, los mejores padres para su hermoso bebé. Maestro Salvador, muchas gracias por ayudarme en el laboratorio, personales, los consejos de imagen, de emprendimiento y tips para sobrevivir en la vida foránea.

Maestra Gloria, muchas gracias por ayudarme a entender conceptos y sus enseñanzas, Lili también estoy muy agradecido contigo aunque me robará tus galletas, algún día te regresaré esas galletas, doctora Alice hasta procuraba cumplir sus antojos de comida en las reuniones, gracias por sus consejos y risas que me brindó, usted con la doctora Quina son nuestro ejemplo a seguir, Quina como usted, digo tú querías que te dijéramos, me ayudó mucho con mis resultados y en su análisis, estoy muy agradecido con usted doctora Quina. Por último, a la maestra Eli, a quien más lata le di para el análisis de mis resultados, le debo mucho y parte de que hoy este terminada esta tesis es por su gran apoyo, consejos y acompañamiento, le estaré siempre agradecido.

¡Muchas gracias a todos, por ayudarme a cruzar mis límites, por desarrollarme y adquirir conocimientos!, no pude tener un mejor lugar para hacer mi servicio que a lado de grandes profesionales y seres humanos.

Índice general

| | |
|---|----|
| Resumen | 1 |
| Summary | 3 |
| 1. Marco teórico..... | 5 |
| 1.1 Generalidades de la guanábana | 5 |
| 1.1.2 Producción de guanábana | 7 |
| 1.2 Composición de la pulpa de la guanábana | 7 |
| 1.3 Compuestos bioactivos en la guanábana y sus beneficios | 9 |
| 1.4 Procesamiento de la guanábana..... | 11 |
| 1.5 Néctar | 11 |
| 1.6 Pasteurización..... | 12 |
| 1.7 Ultrasonido | 12 |
| 1.8 Termoultrasonificación..... | 14 |
| 1.9 Consumo de bebidas edulcoradas en México..... | 15 |
| 2.0 Inulina como propiedad prebiótica y tecnológica..... | 16 |
| 2.1 Alimento de diseño y funcional..... | 17 |
| 3. Planteamiento del problema..... | 18 |
| 4. Justificación..... | 19 |
| 5. Objetivos | 20 |
| 5.1 Objetivo general | 20 |
| 5.2 Objetivos específicos | 20 |
| 6. Metodología..... | 21 |
| 6.1 Tratamientos por termoultrasonido en néctar de guanábana..... | 24 |
| 6.2 Diseño experimental | 24 |
| 6.3 Obtención de la muestra | 26 |
| 6.4 Preparación del néctar | 26 |
| 6.5 Análisis microbiológico | 26 |
| 6.6 Propiedades fisicoquímicas..... | 27 |
| 6.6.1 pH | 27 |
| 6.6.2 Sólidos Solubles Totales (SST) | 27 |
| 6.6.3 Acidez Titulable (AT)..... | 27 |

| | |
|---|----|
| 6.6.4 Color | 28 |
| 6.6.5 Viscosidad | 29 |
| 6.6.6 Porcentaje de estabilidad..... | 29 |
| 6.6.7 Índice de turbidez..... | 30 |
| 6.6.8 Índice de oscurecimiento no enzimático | 30 |
| 6.7 Actividad enzimática | 31 |
| 6.7.1 Actividad residual de Pectinmetilesterasa (PME)..... | 31 |
| 6.8 Determinación de contenido de fenoles total (CFT) | 31 |
| 6.9 Determinación de actividad antioxidante..... | 32 |
| 6.9.1 Actividad antioxidante por ABTS•+ | 32 |
| 6.9.2 Actividad antioxidante por DPPH•..... | 32 |
| 6.9.3 Actividad antioxidante por FRAP | 33 |
| 7.0 Microscopía electrónica de barrido | 33 |
| 7.1 Contenido de fibra..... | 34 |
| 7.2 Bioaccesibilidad intestinal <i>in vitro</i> | 37 |
| 7.3 Análisis estadístico..... | 37 |
| 8. Resultados y discusiones | 38 |
| 8.1 Microbiología..... | 38 |
| 8.2 Propiedades fisicoquímicas..... | 40 |
| 8.2.1 pH | 40 |
| 8.2.2 Sólidos Solubles Totales..... | 42 |
| 8.2.3 Acidez Titulable..... | 42 |
| 8.2.4 Viscosidad | 43 |
| 8.2.5 Estabilidad | 43 |
| 8.2.6 Índice de Turbidez | 44 |
| 8.2.7 índice de oscurecimiento no enzimático | 45 |
| 8.2.8 Color | 45 |
| 8.3 Actividad enzimática | 49 |
| 8.3.1 Actividad residual de pectinmetilesterasa (PME) | 49 |
| 8.4 Contenido de antioxidantes..... | 50 |
| 8.4.1 Contenido de fenoles totales (CFT) | 50 |

| | |
|---|----|
| 8.5 Actividad antioxidante | 53 |
| 8.5.1 Actividad antioxidante por ABTS•+ | 53 |
| 8.5.2 Actividad antioxidante por DPPH•..... | 55 |
| 8.5.3 Actividad antioxidante por FRAP | 56 |
| 8.6 Optimización del proceso de termoultrasonido del néctar de guanábana | 58 |
| 8.7 Reproducibilidad del estudio | 60 |
| 8.8 Comparación del néctar de guanábana optimizado con pasteurización. | 60 |
| 8.8.1 Efecto del termoultrasonido sobre la microestructura del néctar de guanábana por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB). | 61 |
| 8.8.2 Contenido de fibra dietética | 63 |
| 8.8.3 Microbiología..... | 64 |
| 8.8.4 Viscosidad y Estabilidad | 66 |
| 8.8.5 Color | 69 |
| 8.8.6 Actividad Enzimática..... | 73 |
| 8.8.7 Contenido antioxidante, actividad antioxidante y bioaccesibilidad <i>in vitro</i> . | 74 |
| 8.8.8 Contenido de fenoles totales | 74 |
| 8.8.9 Actividad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP | 77 |
| 9. Conclusiones..... | 81 |
| 10. Referencias bibliográficas | 83 |

Índice de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Contenido nutrimental de la porción comestible de guanábana. | 8 |
| Tabla 2. Diseño experimental de tratamiento por termoultrasonido | 25 |
| Tabla 3. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre el contenido de microorganismos en el néctar de guanábana..... | 39 |
| Tabla 4. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas del néctar de guanábana | 41 |
| Tabla 5. Efecto de la amplitud y tiempo del termoultrasonido sobre el color del néctar de guanábana | 46 |
| Tabla 6. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de parámetros de color del néctar de guanábana termoultrasonificado | 47 |
| Tabla 7. Efecto de la amplitud y tiempo del termoultrasonido sobre pectinmetilesterasa (PME). | 49 |
| Tabla 8. Efecto de la amplitud y tiempo del termoultrasonido sobre el contenido fenólico total y actividad antioxidante | 51 |
| Tabla 9. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta del contenido fenólico total del néctar de guanábana termoultrasonificado | 52 |
| Tabla 10. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de ABTS, DPPH y FRAP del néctar de guanábana termoultrasonificado .. | 54 |
| Tabla 11. Reproducibilidad del modelo de superficie de respuesta | 60 |
| Tabla 12. Porcentajes del contenido de fibra dietética | 63 |
| Tabla 13. Características colorimétricas en muestras de néctar de guanábana | 69 |

Índice de figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1. Partes de <i>Annona muricata</i> | 5 |
| Figura 2. Parte interna del fruto, exposición de semillas y mesocarpio | 6 |
| Figura 3. Diagrama de flujo de las etapas metodológicas en primera fase | 22 |
| Figura 4. Diagrama de flujo de la etapa metodológica en segunda fase | 23 |
| Figura 5: Efecto del termoultrasonido sobre luminosidad (a), b^* (b) y Croma (c) en el néctar de guanábana | 47 |
| Figura 6. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido fenólico total en el néctar de guanábana | 52 |
| Figura 7. Efecto del termoultrasonido sobre actividad antioxidante por ABTS en el néctar de guanábana | 54 |
| Figura 8. Efecto del termoultrasonido sobre actividad antioxidante por DPPH en el néctar de guanábana | 56 |
| Figura 9. Efecto del termoultrasonido sobre actividad antioxidante por FRAP en el néctar de guanábana | 58 |
| Figura 10. Traslape de figuras de contorno de las variables de respuesta en la optimización por termoultrasonido del néctar de guanábana. | 59 |
| Figura 11. Microscopía electrónica de barrido de néctar de guanábana liofilizado ... | 62 |
| Figura 12. Análisis microbiológico en néctar de guanábana. MA: mesófilos aerobios; EB: enterobacterias. | 65 |
| Figura 13. Viscosidad de néctar de guanábana | 67 |
| Figura 14. Estabilidad en néctar de guanábana | 68 |
| Figura 15. Espacio de color CIE $L^* a^* b^*$ (CIELAB)..... | 71 |
| Figura 16. Actividad enzimática de pectinmetilesterasa (PME) en néctar de guanábana | 74 |
| Figura 17. Contenido fenólico total en muestra original y fracción bioaccesible de néctar de guanábana | 75 |
| Figura 18. Actividad antioxidante por ABTS a), DPPH b) y FRAP c), en muestra original y fracción bioaccesible de los tratamientos de néctar de guanábana. | 78 |

Índice de ecuaciones

| | |
|--|----|
| Ecuación 1: Cálculo de modelo polinomial | 25 |
| Ecuación 2: Porcentaje de ácido málico (AT) | 27 |
| Ecuación 3: Croma (C)..... | 28 |
| Ecuación 4: Hue ($^{\circ}h$) | 28 |
| Ecuación 5: Diferencia total de color (ΔE)..... | 29 |
| Ecuación 6: Porcentaje de estabilidad (%) | 30 |
| Ecuación 7: Unidades de pectinmetilesterasa (PME)..... | 31 |
| Ecuación 8: Porcentaje de fibra dietética total..... | 35 |
| Ecuación 9: Porcentaje de fibra dietética soluble | 36 |
| Ecuación 10: Blanco (fibra) | 36 |
| Ecuación 11: Porcentaje de fibra dietética insoluble | 36 |

Glosario de abreviaturas

| | |
|---|--|
| %AR: Porcentaje de Actividad Residual | IO: Índice de Oscurecimiento no Enzimático |
| °C: Grados Celsius | IT: Índice de Turbidez |
| °h: Hue | Kcal: Kilocalorías |
| ABTS•+: 2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-ácido sulfónico) | L*: Luminosidad |
| AOAC: Association of Official Analytical Chemist | Log UFC/mL: Logaritmo de Unidades Formadoras de Colonia por Mililitro |
| AT: Acidez Titulable | MA: Mesófilos Aerobios |
| C*: Cromaticidad | MEB: Microscopía Electrónica de Barrido |
| CFT: Contenido de Fenoles Totales | NaCl: Cloruro de Sodio |
| DPPH•: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil | NaOH: Hidróxido de Sodio |
| EAG: Equivalente de Ácido Gálico | OH⁻: Hidroxilo |
| EB: Enterobacterias | p/v: Peso sobre Volumen |
| ECA: Enzima Convertidora de Angiotensina-1 | PCA: Agar para Métodos Estándar |
| ET: Equivalente de Trolox | PME: Pectinmetilesterasa |
| FDI: Fibra Dietética Insoluble | RSM: Response Surface Methodology |
| FDS: Fibra Dietética Soluble | SIAP: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera |
| FDT: Fibra Dietética Total | SST: Sólidos Solubles Totales |
| FeCl₃: Cloruro de hierro (III) | TCD: Total Color Difference |
| FOS: Fructooligosacáridos | TPTZ: Ferric ²⁺ , 4, 6-tripyridyl-s-Triazine |
| FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power Assay | VRBG: Agar Bilis Rojo Violeta |
| GOS: Galactooligosacáridos | UPME: Unidades de Pectinmetilesterasa |
| H⁺: Ión Hidrógeno | XOS: Xilooligosacáridos |
| H₂O₂: Peróxido de Hidrógeno | ΔE: Diferencia Total de Color |
| H₃O⁺: Iones Hidronio | |
| ILSI: International Life Sciences Institute | |

Unidades de medida

μL: Microlitro

μmol: Micromol

cP: Centipoise

g: Gramos

kHz: Kilohertz

M: Molar

mg: miligramos

min: minutos

mL: mililitro

mm: milímetro

mM: milimolar

nm: nanómetro

rpm: revoluciones por minuto

W: Vatio

Resumen

La guanábana (*Annona muricata*) es un fruto al cual se le atribuyen compuestos bioactivos (compuestos fenólicos y acetogeninas) relacionados a la prevención de enfermedades no transmisibles. Este es consumido usualmente como jugos y néctares, no obstante, el proceso para su conservación (pasteurización) produce cambios en color, olor, textura y sabor, así como sus propiedades nutricionales, por ello se busca la implementación de tecnologías emergentes, como la termoultrasonificación (TUS), el cual evita mínimas alteraciones en las propiedades fisicoquímicas, propicia la retención de nutrientes, la liberación de compuestos bioactivos y genera inocuidad. El objetivo del presente trabajo fue determinar la condición óptima de TUS sobre las propiedades microbiológicas, fisicoquímicas, enzimáticas y antioxidantes del néctar de guanábana mediante la metodología de superficie de respuesta y su comparación con néctar pasteurizado sobre la bioaccesibilidad *in vitro* de antioxidantes. El néctar fue adicionado con inulina y stevia, se usaron variables de amplitud (75-90%) y tiempo (5-13min). El néctar termoultrasonificado presentó disminución en mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB) (3.54 y 3.88 Log UFC/mL, respectivamente), aumentó su viscosidad (309.33 a 432.67 cP) e índice de turbidez (0.16 a 0.25), una disminución en la actividad enzimática de pectinmetilesterasa (PME), se incrementó tanto el contenido fenólico total (CFT) (30.12 a 43.45 mg EAG/100 mL) como la actividad antioxidante por FRAP (2.13 a 3.59 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ mL}$). Las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático ($R^2 > 0.90$), fueron L^* , b^* , C^* , CFT, actividad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP. La condición óptima del proceso fue de 82 % de amplitud durante 9 minutos con 15 segundos (82/9.15) (45.48 en L^* , 3.55 en b^* , 3.62 en C^* , 38.40 mg EAG/100 mL en CFT, 31.28 y 124.22 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$ en ABTS y DPPH, respectivamente y 3.06 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ mL}$ en FRAP). El néctar termoultrasonificado optimizado en comparación con el control y pasteurizado, arrojó un alto contenido de fibra dietética total (3.58 %), así como una total inactivación de microorganismos y baja actividad de PME. Obtuvo un mayor contenido fenólico total (26.63 mg EAG/100 mL) y actividad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP (22.03, 129.21 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$ y 3.10 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ mL}$, respectivamente). Respecto a

bioaccesibilidad *in vitro*, la muestra optimizada mostró una mayor ($p<0.05$) absorción de compuestos fenólicos totales (57.29%), así como mayores incrementos en la actividad antioxidante (58% en ABTS y 154% en FRAP), en comparación con las muestras pasteurizada y control. Estos resultados sugieren que el termoultrasonido es una opción factible para el proceso del néctar de guanábana, sin alteraciones en las propiedades fisicoquímicas, presentando inocuidad, manteniendo el contenido de fibra dietética, aumentando los compuestos bioactivos como su actividad antioxidante y una mayor bioaccesibilidad *in vitro* de estas propiedades.

Palabras clave: Guanábana, termoultrasonido, pasteurización, microbiología, antioxidantes, bioaccesibilidad.

Summary

Soursop (*Annona muricata*) is a fruit which is attributed to bioactive compounds (phenolic compounds and acetogenins) related to non-communicable disease prevention. It is commonly consumed in nectars and juices, nevertheless, the process for its conservation (pasteurization) produces changes in color, odor, texture and taste, as well as its nutritional properties, for that the implementation of emerging technologies is being sought, such as thermoultrasonication (TS) to avoid alterations in the physicochemical properties, promotes retention of nutrients, release the bioactive compounds and generate safety. The objective of the present work was determined the optimal condition of TS on microbiological, physicochemical, enzymatic and antioxidant properties of soursop nectar by means of the response surface methodology and its comparison with pasteurized nectar on its *in vitro* bioaccessibility of antioxidants. To the nectar inulin and stevia were added, parameters of amplitude (75-90%) and time (5-13min) were used. The thermoultrasonicated nectar presented decrease in mesophilic aerobes (MA) and enterobacteriaceae EB (3.54 and 3.88 Log CFU/mL, respectively), viscosity (309.33 to 432.67 cP) and cloud index (0.16 to 0.25) increased, the enzymatic activity of pectinmethylesterase (PME) decreased, while the total phenolic compounds (TPC) (30.12 to 43.45 mg GAE / 100 mL) as well as the antioxidant activity by FRAP (2.13 to 3.59 $\mu\text{mol Fe (II)}$ / 100 mL) increased. The response variables that were adjusted to the mathematical model of the response surface ($R^2 > 0.90$), were L^* , b^* , C^* , TPC, antioxidant activity by ABTS, DPPH and FRAP. The optimal process condition was 82 % of amplitude during 9 minutes and 15 seconds (82/9.15) (45.48 to L^* , 3.55 to b^* , 3.62 to C^* , 38.40 mg GAE /100 mL to CFT, 31.28 and 124.22 $\mu\text{mol TE}/100$ mL to antioxidant activity by ABTS and DPPH, respectively and 3.06 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ mL to FRAP). The thermoultrasonicated optimized nectar in comparison with control and pasteurized, showed high content of total dietary fiber (3.58 %), as well as total microorganisms inactivation and low PME activity. A highest total phenolic content (26.63 mg GAE/100 mL) and antioxidant activity by ABTS, DPPH and FRAP (22.03, 129.21 $\mu\text{mol TE}/100$ mL and 3.10 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ mL, respectively) was obtained. Regarding *in vitro* bioaccessibility, the optimized sample showed a higher ($p < 0.05$) absorption of total phenolics compounds,

as well as increases in antioxidant activity (58% to ABTS and 154% to FRAP) than pasteurized and control samples. These results suggest that the thermoultrasound is a feasible option for the process of soursop nectar, without alterations in the physicochemical properties, presenting safety, maintaining the content of dietary fiber, increasing bioactive compounds and their antioxidant activity and a high *in vitro* bioaccessibility of these properties.

Keywords: Soursop, thermoultrasound, pasteurization, microbiology, antioxidants, bioaccessibility.

1. Marco teórico

1.1 Generalidades de la guanábana

Annona muricata conocida comúnmente como guanábana, es una fruta de la familia *Annonaceae* que comprende aproximadamente 130 géneros y 2,300 especies, es originaria de la cuenca del Amazonas en América del Sur, Sureste de Asia (Mishra *et al.*, 2013; Gavamukulya *et al.*, 2014), Venezuela, Nicaragua y México (Gavamukulya *et al.*, 2017). La guanábana proviene de un árbol (figura 1a) que presenta hojas verdes y brillantes (figura 1b) con una altura que varía entre 8 a 10 metros, sus flores (figura 1c) aparecen en cualquier parte del tronco o rama, el fruto es una baya ovoide espinosa en forma de corazón, de color verde oscuro en su exterior (figura 1d; figura 2) (Badrie & Schauss, 2010), la epidermis presenta suaves y pequeñas espinas, el mesocarpio se encuentra lleno de segmentos fibrosos, con una consistencia jugosa y de color crema, con semillas de color café oscuro y brillante, la pulpa rodea al núcleo de textura blanda que se extiende en todo el fruto (Hernández *et al.*, 2017). En la figura 1, se aprecia el árbol frutal de guanábana, así como hojas, flores y fruto, en la figura 2, se muestra el mesocarpio y semillas del fruto.



Figura 1. Partes de *Annona muricata*. Árbol (a), hojas (b), flor en tronco (c) y frutos (d).

En México, Venezuela y Nicaragua el peso puede oscilar entre 0.4 kg a 1 kg (Gavamukulya *et al.*, 2017). Por su sabor ligeramente ácido es utilizada para elaborar jugos, néctares, helados, batidos e incluso polvos también, suele consumirse en fresco (Dias *et al.*, 2015; Neta *et al.*, 2018). La guanábana es considerada climatérica, con altas producciones de etileno, lo que la hace altamente perecedera y su cosecha se realiza en un estado inmaduro para evitar una disminución en su calidad (Jiménez-Zurita *et al.*, 2017), las bayas que componen un solo fruto maduran en momentos diversos considerándose una fruta climatérica múltiple (Badrie & Schauss, 2010). La guanábana también es susceptible a actividad enzimática, lo que genera oscurecimiento y deterioro del fruto de igual manera afecta sus propiedades nutricionales y sensoriales (Lima De Oliveira *et al.*, 1994).



Figura 2. Parte interna del fruto, exposición de semillas y mesocarpio

1.1.2 Producción de guanábana

México es el mayor productor a escala mundial con una producción de 30,790.70 toneladas al año (SIAP, 2019) en 6,010.5 hectáreas que, por su posición geográfica lo hace el principal exportador de guanábana a los Estados Unidos de América (Reyes-Montero *et al.*, 2018). Nayarit y Colima son los estados productores más importantes, con el 78 % de la producción nacional en una superficie de 2,353 ha (Hernández *et al.*, 2017). Otros estados productores son Michoacán, Guerrero, Veracruz y Puebla (SIAP, 2019).

1.2 Composición de la pulpa de la guanábana

La guanábana, es un fruto tropical con una porción comestible del 67.5% (Badrie & Schauss, 2010), presenta nutrientes como carbohidratos, proteína, así como fibra dietética (Degnon *et al.*, 2013), e importantes valores de hierro (Fe) (Hernández *et al.*, 2017) y zinc (Zn) (Akomolafe & Ajayi, 2015), comparada con frutos de alto consumo como: plátano (Fe 0.26 mg/100g, Zn 0.15 mg/100g), naranja (Fe 0.1 mg/100g, Zn 0.07 mg/100g) y guayaba (Fe 0.26 mg/100g, Zn 0.23 mg/100g) (USDA, 2020), entre otros minerales (magnesio y calcio). En la tabla 1, se muestra las cantidades de nutrientes pertenecientes a la guanábana. El fruto también cuenta con compuestos considerados como bioactivos.

Tabla 1. Contenido nutrimental de la porción comestible (base fresca) de guanábana por 100 g.

| Compuesto | Cantidad | Cita |
|----------------------------------|-----------------|----------------------------------|
| Energía (Kcal) | 364.72 | |
| Proteína (g) | 1 | |
| Lípidos (g) | 0.97 | (Badrie & Schauss, 2010) |
| Carbohidratos totales (g) | 14.63 | |
| Glucosa (g) | 5.37 | |
| Fructosa (g) | 7.19 | (Hernández <i>et al.</i> , 2017) |
| Sacarosa (g) | 1.82 | |
| Fibra (g) | 0.79 | (Badrie & Schauss, 2010) |
| Potasio (mg) | 46.24 | |
| Sodio (mg) | 34.63 | |
| Zinc (mg) | 28.66 | |
| Hierro (mg) | 7.3 | |
| Magnesio (mg) | 20.03 | (Hernández <i>et al.</i> , 2017) |
| Calcio (mg) | 13.99 | |
| Polifenoles totales (mg) | 39.57 | |
| Carotenoides (mg) | 0.28 | |
| Vitamina C (mg) | 33.24 | |

1.3 Compuestos bioactivos en la guanábana y sus beneficios

Diversos estudios muestran que los principales componentes bioactivos de la *Annona muricata* son las acetogeninas, incluyendo a más de 100 de éstas, aisladas en hojas, semillas, raíces y fruto (Patel & Patel, 2016), relacionadas con la prevención de enfermedades no transmisibles (Yang *et al.*, 2015; Fernández *et al.*, 2017). La pulpa también contiene antioxidantes lipófilos como la vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles), hidrosolubles (vitamina C) y carotenoides (β -criptoxantina, luteína, α -caroteno y β -caroteno) los cuales están relacionados a la prevención de enfermedades (Gordillo *et al.*, 2012; Coria-Téllez *et al.*, 2018).

Otros compuestos presentes en la guanábana y de gran importancia son los fenoles, estos poseen un anillo aromático que contiene uno o más grupos hidroxilo (OH-), con estructuras que van desde moléculas fenólicas simples hasta polímeros de alta masa molecular (Balasundram *et al.*, 2006), estos compuestos presentan una actividad antioxidante basada en la donación de hidrógeno, confiriendo actividad quelante en metales y reductora del oxígeno singlete (Ignat *et al.*, 2011). De acuerdo al número de anillos fenólicos y diferencias en las estructuras se clasifican en grupos, como los ácidos fenólicos que tienen un anillo fenol y los flavonoides presentan un anillo central pirano (anillo C) (D'Archivio *et al.*, 2007).

La pulpa contiene compuestos fenólicos y derivados del ácido gálico, cinámico cumárico, clorogénico y ferúlico (Jiménez *et al.*, 2014), también se han hallado altos porcentaje de flavanoles (procianidinas B1, B2, catequina y epicatequina) (Dantas *et al.*, 2019), con acción moduladora en el estrés oxidativo, también inhiben moléculas proinflamatorias y actúan como mediadores inflamatorios en modelos de cáncer *in vitro* (Aguilar-Hernández *et al.*, 2019).

En la actualidad existe un aumento en el consumo y demanda de la guanábana por la atribución de efectos preventivos en diferentes patologías (Yang *et al.*, 2015; Fernández *et al.*, 2017), estos beneficios están relacionados a sus fitoquímicos (Agu & Okolie, 2017). Desde la planta hasta el fruto se han utilizado en la medicina tradicional para tratar fiebre, reumatismo, inflamación, espasmos, artritis e infecciones parasitarias hasta efectos comprobados, como actividad hipotensiva, actividad hipoglucémica, actividad inmunomoduladora y anticancerígena (Pieme *et al.*, 2014; Syed *et al.*, 2016; Yajid *et al.*, 2018).

Se ha observado relación entre los compuestos fenólicos de la guanábana con la prevención de distintas enfermedades no transmisibles como la obesidad, diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas (Costa *et al.*, 2013), autores como Adefegha *et al.*, (2015) encontraron efectos terapéuticos en hipertensión y diabetes mellitus tipo 2, por parte de los fenoles, al reducir la actividad de la α -amilasa y α -glucosidasa, y al inhibir la actividad de la enzima convertidora de angiotensina-I (ECA). Por otro lado, se han encontrado efectos antidepresivos y anticancerígenos por parte de las acetogeninas contenidas en la pulpa (Patel & Patel, 2016). Sin embargo, a pesar de sus múltiples benéficos en la salud, poco se ha estudiado debido a su escaso procesamiento en la industria y comercialización.

1.4 Procesamiento de la guanábana

Este fruto por su sabor y olor característico es idóneo para la elaboración de jugos en la industria, en las zonas donde se produce, la pulpa es comercializada fresca y congelada para adicionar en yogurt, batidos y cócteles, también para preparar mermeladas y helados (Badrie & Schauss, 2010; Jiménez-Zurita *et al.*, 2017). En Venezuela el jugo es concentrado y enlatado para su consumo (Hoyos, 1994). En México, la venta solo es en pulpa y fruta fresca (Hernández *et al.*, 2017). Pese a la mayor demanda de los consumidores por productos basados en ingredientes naturales y con beneficios en la salud, como es la guanábana (Ojeda *et al.*, 2007; Dias *et al.*, 2015, su venta en el área comercial es poco común (Olagunju & Sandewa, 2018) por lo que hay un bajo aprovechamiento de su valor nutritivo (Othman *et al.*, 2014). Ante esta situación se ha implementado el proceso de pasteurización para obtener una mayor vida de almacenamiento en productos como jugo (Ampofo-Asiama & Quaye, 2019) y pulpa (Umme *et al.*, 1997). Esta última es empleada para producir néctar, mismo que requiere de la generación de conocimiento para su desarrollo tecnológico e incrementar su comercialización y consumo.

1.5 Néctar

Por néctar de fruta se entiende al producto sin fermentar obtenido tras la adición de agua, con o sin la adición de azúcares, miel y jarabes. A los cuáles se les puede añadir sustancias aromáticas, componentes aromatizantes volátiles y pulpa, todos estos deberán proceder del mismo tipo de fruta y obtenerse por procedimientos físicos, el producto deberá satisfacer los requisitos para los néctares de fruta (CODEX STAN 247). Comúnmente para la producción de esta bebida se emplean tratamientos convencionales como la pasteurización.

1.6 Pasteurización

La pasteurización es un tratamiento térmico rápido utilizado ampliamente en la industria de alimentos, con el propósito de destruir microorganismos patógenos, así como de reducir los no patógenos a niveles menores, evitando el deterioro de los alimentos durante su almacenamiento, usando generalmente una temperatura menor de los 100 °C (Peng *et al.*, 2017). Sin embargo, la pasteurización por su alta temperatura puede producir cambios en las características organolépticas y sensoriales (textura, sabor y color), al igual que reducciones en componentes bioactivos, como la vitamina C y polifenoles (Etzbach *et al.*, 2019). La pulpa de guanábana ha sido tratada por pasteurización (78°C/69 s) (Umme *et al.*, 1997), así como el jugo (83°C/5 min) (Ampofo-Asiama & Quaye, 2019) y néctar (65°C/30 min), donde se ha reportado que el tratamiento térmico disminuye la cantidad de compuestos bioactivos (Anaya-Esparza *et al.*, 2017c), también modifica su color y sabor, lo que conlleva a una menor aceptabilidad (Umme *et al.*, 2001). Por lo anterior, se buscan alternativas menos agresivas como son las tecnologías emergentes, en donde se ha reportado que no afectan las propiedades nutricionales y reducen tanto la actividad enzimática como microbiológica como lo son: la irradiación ultravioleta, campo de pulsos eléctricos, alta presión y el ultrasonido el cual genera menores cambios que la pasteurización (Roobab *et al.*, 2018).

1.7 Ultrasonido

El proceso de ultrasonido se define como la producción de ondas acústicas inaudibles u ondas de presión con una frecuencia igual o superior a 20 kHz, mismas que crean un fenómeno denominado cavitación, el cual trata sobre la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido (Mason *et al.*, 2005). Esta se produce en aquellas regiones con un medio líquido y sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente (Zheng & Sun, 2006), generando implosiones, que se entienden como la liberaciones de energía acumulada, que ocasiona incrementos de temperatura instantánea y focal con choques mecánicos, disipándose y sin que supongan una alta elevación de la temperatura del líquido tratado, todos estos aspectos afectan la estructura celular del medio a tratar (Herrero, 2006); por lo que es utilizada para la

liberación de compuestos (González *et al.*, 2009). Se han realizado estudios sobre la extracción asistida por ultrasonido en algunos de alimentos, como epicarpio de mango (Safdar *et al.*, 2017), semilla de tuna (Ortega-Ortega *et al.*, 2017) y residuo de zarzamora, a fin de obtener compuestos antioxidantes por medio de la cavitación generada por el ultrasonido (Zafra-Rojas *et al.*, 2016); también se han tratado en jugos de naranja (Tiwari *et al.*, 2008), fresa (Tiwari *et al.*, 2009a), sandía (Rawson *et al.*, 2011), y guanábana (Dias *et al.*, 2015) con el fin de lograr la inactivación enzimática y conservar las propiedades fisicoquímicas. En estudios recientes, para su optimización se han empleado la metodología de superficie de respuesta (RSM), la cual es un análisis tanto estadístico como matemático, con el fin de desarrollar, mejorar y optimizar procesos, tanto en productos nuevos como ya existentes (Myers *et al.*, 2016), está también analiza los efectos de las variables independientes y describe los procesos químicos como bioquímicos (Baş & Boyaci, 2007). Su aplicación brinda ventajas como mayor eficiencia, economía y objetividad (Bezerra *et al.*, 2008). En el área de alimentos e investigación se emplea para la aplicación de ultrasonido en subproductos de frutas y vegetales (Tiwari *et al.*, 2008), con la finalidad de obtener una condición óptima que reduzca la carga microbiológica y actividad enzimática, conserve las características fisicoquímicas e incremente las propiedades antioxidantes (Cruz-Cansino *et al.*, 2015). Otra de las aplicaciones de la metodología de superficie de respuesta es en bebidas y jugos termoultrasonificados como en el jugo de zarzamora (Cervantes-Elizarrarás *et al.*, 2017), jugo combinado de tuna verde y púrpura (Cruz-Cansino *et al.*, 2016), jugo de betabel (Ramírez-Melo, 2020) y aguamiel (López-Martínez, 2018). Debido a que el ultrasonido no es eficaz por sí mismo, ya que su aplicación genera un aumento en la temperatura, se ha definido al termoultrasonido como la combinación controlada de temperatura con ultrasonido (Hercerg *et al.*, 2013).

1.8 Termoultrasonificación

La termoultrasonificación (TS) tiene la finalidad de mejorar la calidad del alimento ya que, una de las ventajas con las que cuenta, es utilizar temperaturas más bajas que evitan la degradación de compuestos termosensibles y en un tiempo reducido (Piyasena *et al.*, 2003). La termoultrasonificación es una tecnología emergente que combina el ultrasonido y calor, donde el control de la temperatura busca no exceder los 50°C, la combinación de ambos genera un efecto adicional que aumenta la inactivación bacteriana y enzimática en comparación con la pasteurización, pero, sin cambios en las propiedades fisicoquímicas, sensoriales y retención de nutrientes (Zenker *et al.*, 2003; Anaya-Esparza *et al.*, 2017b). La termoultrasonificación es una opción al tratamiento térmico, dado que se ha comprobado que tiene un efecto mínimo en la calidad de los jugos de frutas como en el de naranja y néctares como el de la guanábana (Evelyn & Silva, 2016; Anaya-Esparza *et al.*, 2018), en este último se reporta que no causa cambios en proteínas y grasas, no encontrando diferencias entre el termoultrasonido y control; así como en los parámetros fisicoquímicos (sólidos solubles totales, acidez titulable y pH), como contenido de fibra soluble, siendo una excelente alternativa para elaborar productos del fruto de guanábana como el néctar (Anaya-Esparza *et al.*, 2018). No obstante, en la industria, los néctares son adicionados con altas cantidades de azúcar, cuyo consumo está relacionado con el sobrepeso, obesidad y en consecuencia el desarrollo de diabetes Mellitus tipo 2 y enfermedades cardiovasculares (Imamura *et al.*, 2015).

1.9 Consumo de bebidas edulcoradas en México

Las bebidas edulcoradas o endulzadas, son aquellas bebidas frías o calientes que contienen azúcar añadido, entre las más comunes se encuentran los refrescos, bebidas frutales como energéticas, té y café (von-Philipsborn *et al.*, 2019), donde el azúcar añadido puede ser sacarosa o jarabe de maíz de alta fructosa (Schulze *et al.*, 2004). México es el mayor consumidor de bebidas endulzadas en todo el mundo, con un promedio de consumo anual de 163 litros (Rodríguez-Burelo *et al.*, 2014), su ingesta representa el 70% de los azúcares totales de la dieta y el 10% del total de calorías consumidas (Braverman-Bronstein *et al.*, 2020; Sánchez-Pimienta *et al.*, 2016). La evidencia muestra que el consumo de estos productos se relaciona con la ganancia de peso y el riesgo de padecer sobrepeso y obesidad (Malik *et al.*, 2010), padecer diabetes Mellitus tipo 2 y síndrome metabólico (Guerrero-López *et al.*, 2018; Barrientos-Gutierrez *et al.*, 2017) e incluso se ha estimado que el 12% de muertes por enfermedades cardiovasculares y cáncer, es atribuible a la ingesta de bebidas edulcoradas (Singh *et al.*, 2010).

En México donde las tasas de obesidad y sobrepeso en la población adulta representan el 75.2 % y diabetes del 10.3 % (INSP, 2018), se han establecido políticas de salud como el aumento de impuesto en bebidas con azúcar añadido (Colchero *et al.*, 2017), disminución en la promoción y venta de estos productos a menores de edad (Rivera-Dommarco *et al.*, 2018), modificaciones en el etiquetado de alimentos (NOM-051-SCFI, 2020). También se requiere de la implementación de edulcorantes que no solo disminuyen la ingesta de azúcar, sino que, beneficie a la salud de quien lo consume. Como lo es la inulina, que ha mostrado ser un edulcorante de bajas calorías, con propiedades tecnológicas y funcionales como la actividad prebiótica (Canbulat & Ozcan, 2015).

2.0 Inulina como propiedad prebiótica y tecnológica

La inulina es un fructooligosacárido (FOS) que se encuentra presente en una gran variedad de plantas, como la *agavaceae*, no obstante, sólo unas especies que contienen inulina se utilizan en la industria de alimentos, incluyendo la achicoria (*Cichorium intybus*), la alcachofa de Jerusalén (*Helianthus tuberosus*) y el agave (*Agave tequilana*), este posee una estructura ramificada, que en un medio acuoso desarrolla disoluciones de baja viscosidad similar a un azúcar simple (Sosa-Herrera & Delgado-Reyes, 2016). A nivel tecnológico es usada para generar estabilidad y viscosidad, obteniendo una consistencia aceptable en productos alimenticios con azúcares reducidos (Alizadeh *et al.*, 2018). La inulina es una fibra dietética que resiste a la digestión y absorción (Shoaib *et al.*, 2016), esta es incluida dentro de las fibras funcionales (dextrinas, almidones resistentes, psyllium, polidextrosa, gomas y FOS) (Slavin *et al.*, 2013), algunas tienen actividad prebiótica como los β -glucanos, goma guar, lactulosa, maltodextrina, xilooligosacáridos (XOS), galactooligosacáridos (GOS) y FOS o fructanos (Carlson *et al.*, 2018).

Este último compuesto no solo presenta actividad tecnológica para los alimentos, simultáneamente aporta efectos funcionales, como disminución en el estreñimiento, colitis ulcerosa e incluso mejora la absorción de calcio, magnesio y hierro (Shoaib *et al.*, 2016), reducen los niveles de glucosa y modula la microbiota intestinal (actividad prebiótica) (Madrigal & Sangronis, 2007). Un prebiótico es un compuesto no digerible que, a través de su metabolización por los microorganismos a nivel intestinal, regulan la composición y actividad de la microbiota, modificando el pH y aumentando la población de bacterias bifidogénicas, con dosis terapéuticas de 2.5 a 10 g (Davani-Davari *et al.*, 2019), brindando un efecto fisiológico en el huésped (Carlson *et al.*, 2018). La industria alimentaria ha mostrado interés en los prebióticos, introduciendo y mencionando sus beneficios en la salud, que van desde modular el sistema inmune hasta disminuir la respuesta glucémica (Hutkins *et al.*, 2016). Como se ha mencionado anteriormente, una de las formas en las que se consume la guanábana es en néctar, siendo un medio idóneo para añadir un compuesto funcional como la inulina y con ello formular un alimento de diseño.

2.1 Alimento de diseño y funcional

Los alimentos funcionales están basados en compuestos bioactivos que han demostrado beneficios a la salud, estos alimentos se encuentran tanto de manera natural como sintética (Sarethy & Pan, 2017). El concepto de alimento funcional, nació en Japón en 1980, como Foods Specific Health Use (FOSHU), y se espera que estos muestren efectos específicos en la salud; así mismo el ILSI (International Life Sciences Institute), menciona que se requieren pruebas tanto en el componente funcional como en el alimento final (Ashwell, 2004). Dentro de los alimentos funcionales se encuentran los nutracéuticos, farmalimentos, vitaminalimentos, alimentos nutricionalmente modificados, genéticamente modificados y alimentos de diseño (Manjula & Suneetha, 2011, Ashwell, 2004, Goldberg & Hasler, 1996). Los alimentos de diseño son aquellos que han sido procesados y adicionados con ingredientes naturales que benefician a la salud (Manjula & Suneetha, 2011), pero siguen siendo similares en apariencia al alimento base, con funciones fisiológicas involucradas en la reducción del riesgo a padecer enfermedades no transmisibles, algunos ejemplos son: huevos enriquecidos con omega 3, leche enriquecida con ácido linoleico conjugado, brócoli enriquecida y yogurt probiótico (Rajasekaran & Kalaivani, 2013). El añadir una fibra prebiótica como la inulina de agave, cuyos efectos en la salud han sido demostrados, cumpliría con los aspectos para denominarlo un alimento de diseño.

3. Planteamiento del problema

México es conocido como el líder mundial en el consumo de bebidas edulcoradas, ya que las bebidas procesadas son adicionadas con sacarosa y jarabe de alta fructosa con la finalidad de asegurar la aceptación de los consumidores. Lo anterior involucra resultados del 75.2 % de tasas de obesidad y sobrepeso en la población adulta, y se relaciona con el desarrollo de enfermedades no transmisibles, lo que ha generado el 12 % de la mortalidad en enfermedades cardiovasculares y cáncer a la ingesta de estos productos. Usualmente las bebidas son obtenidas de frutos con importantes compuestos bioactivos, sin embargo, con un elevado contenido de edulcorantes. El fruto de la guanábana, por ejemplo, es conocido por su aporte nutricional y compuestos bioactivos que están relacionados con la prevención de enfermedades no transmisibles. Es un fruto que suele consumirse en fresco y se comercializa en estado de congelación, también es utilizado para la elaboración de bebidas por su sabor y olor característicos. Por su condición climática y susceptibilidad enzimática, se ha implementado la pasteurización desde la pulpa hasta el jugo e incluso en concentrados y enlatados, a fin de aumentar su vida de almacenamiento, sin embargo, su comercialización es poco común. Si bien el empleo de la pasteurización, que es una tecnología que permite la conservación de bebidas de frutos, disminuyendo la actividad enzimática y microbiológica, la aplicación de esta tecnología convencional genera altas temperaturas produciendo cambios en la textura, color y sabor, afectando sus propiedades nutricionales y el contenido de compuestos bioactivos, además de la adición de edulcorantes con alto valor calórico en el producto final.

4. Justificación

México es el principal productor de guanábana, está es consumida en bebidas y en fresco, sin embargo, para su venta es necesario implementar algún tratamiento como la pasteurización a fin de evitar su deterioro, no obstante, el empleo de altas temperaturas produce cambios en el contenido de vitaminas y antioxidantes, al mismo tiempo se adicionan edulcorantes que afectan el estado de salud en la población. Por lo que la necesidad de implementar tecnologías emergentes para obtener resultados similares o mejores a la pasteurización en materia de inocuidad, fisicoquímica, enzimática y antioxidantes es de gran importancia. Una de estas tecnologías a implementar es el termoultrasonido, que ha sido empleado para tratar jugos y néctares de diversos frutos, cuyos estudios han demostrado resultados positivos, no sólo en apariencia física, sino que genera daños mínimos en las propiedades nutricionales, favorece la liberación de compuestos bioactivos, así como la bioaccesibilidad de éstos en comparación con la tecnología convencional como es la pasteurización. Por lo que utilizar el termoultrasonido como tecnología emergente, podría evitar la pérdida de compuestos bioactivos e incluso un aumento en el contenido de antioxidantes en bebidas procedentes de la guanábana como es el néctar. Por otro lado, la implementación de ingredientes como la inulina de agave, el cual es una fibra, contribuiría a la textura, sabor y en sus propiedades tecnológicas como la viscosidad, además de su comprobada actividad prebiótica, no solo se sustituirá la adición de azúcares como la sacarosa o jarabe de maíz, también permitiría una alternativa en el consumo de esta bebida que podría aportar mayores efectos positivos fisiológicos en la salud del consumidor.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar la condición óptima de termoultrasonificación sobre las propiedades microbiológicas, fisicoquímicas, enzimáticas y antioxidantes del néctar de guanábana adicionado con inulina y su comparación con una muestra pasteurizada sobre la bioaccesibilidad *in vitro* de antioxidantes.

5.2 Objetivos específicos

- Realizar trece tratamientos de proceso (combinación de amplitud y tiempo) de termoultrasonificación en el néctar de guanábana utilizando la metodología de superficie de respuesta (RSM), considerando las siguientes variables de respuesta de: microbiología, fisicoquímicas, actividad enzimática, contenido y actividad antioxidante.
- Determinar la condición óptima de termoultrasonido a partir del predicho del programa JMP y de la superposición de figuras de contorno.
- Comprobar la reproducibilidad de las variables ajustadas al modelo matemático con los valores predichos.
- Comparar la condición óptima de termoultrasonido de néctar de guanábana, con néctar pasteurizado y un néctar control evaluando microscopía electrónica de barrido, fibra dietética, microbiología, propiedades fisicoquímicas, actividad enzimática, contenido y actividad antioxidante, así como su bioaccesibilidad intestinal *in vitro*.

6. Metodología

En la figura 3 se muestra la primera fase, que consistió en 13 tratamientos de termoultrasonificación a diferentes condiciones de amplitud y tiempo (obtenidos por el programa JMP versión 7.0.2), también se utilizó una muestra no tratada (control) para monitorear el comportamiento de los tratamientos. Las variables de respuestas (determinaciones) fueron analizadas con el programa JMP para identificar cuales se ajustaron al modelo matemático alcanzando una $R^2 > 0.90$, así como el coeficiente de regresión y el valor predicho de la condición óptima. Utilizando el programa SigmaPlot 12.0 se realizaron figuras tridimensionales para observar el comportamiento de los resultados de coeficiente de regresión de cada variable de respuesta. Así como un traslape de las figuras de contorno para visualizar la condición óptima de proceso de termoultrasonido. Se realizó la reproducibilidad de la condición óptima de proceso y se comparó con los valores predichos, usando t-student, para establecer si la condición óptima de proceso que se obtuvo es reproducible (SPSS versión 15.0).

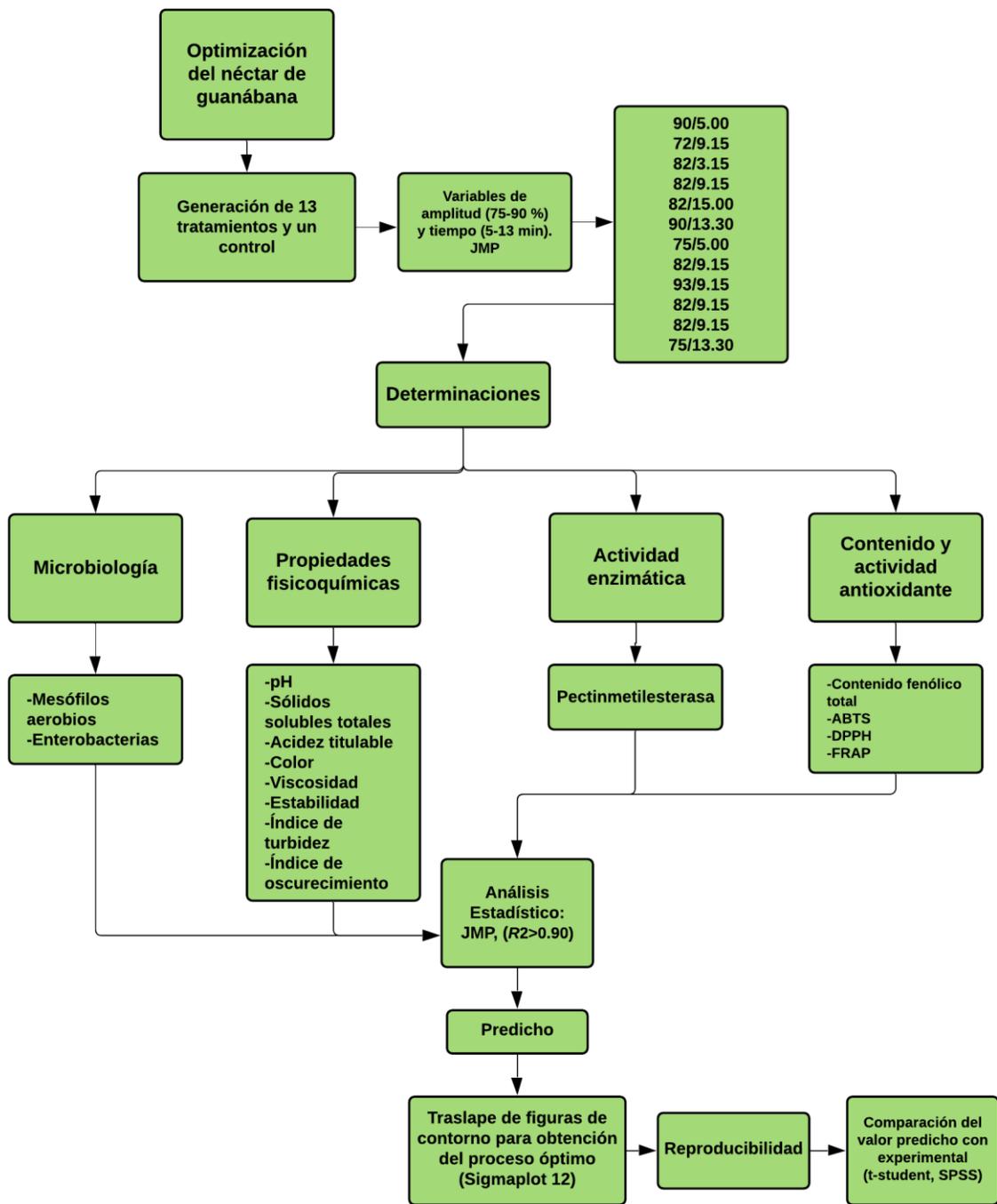


Figura 3. Diagrama de flujo de las etapas metodológicas en primera fase.

En la fase dos (figura 4), el néctar de guanábana optimizado se comparó con un control y pasteurizado, por medio de una microscopía electrónica de barrido (MEB) se observaron los cambios estructurales. Se evaluaron las determinaciones que se ajustaron a una $R^2 > 0.90$, así como también algunas determinaciones para evaluar la calidad del néctar (mesófilos aerobios, enterobacterias, color (L^* , a^* , b^* , C , $^{\circ}h$, ΔE), estabilidad, viscosidad y PME. Así mismo se realizó el estudio de bioaccesibilidad *in vitro*, se determinó fibra dietética (soluble, insoluble y total), los resultados se compararon mediante las pruebas estadísticas ANOVA y Duncan por el programa estadístico SPSS 15.0, con excepción de fibra dietética y diferencia total de color (ΔE).

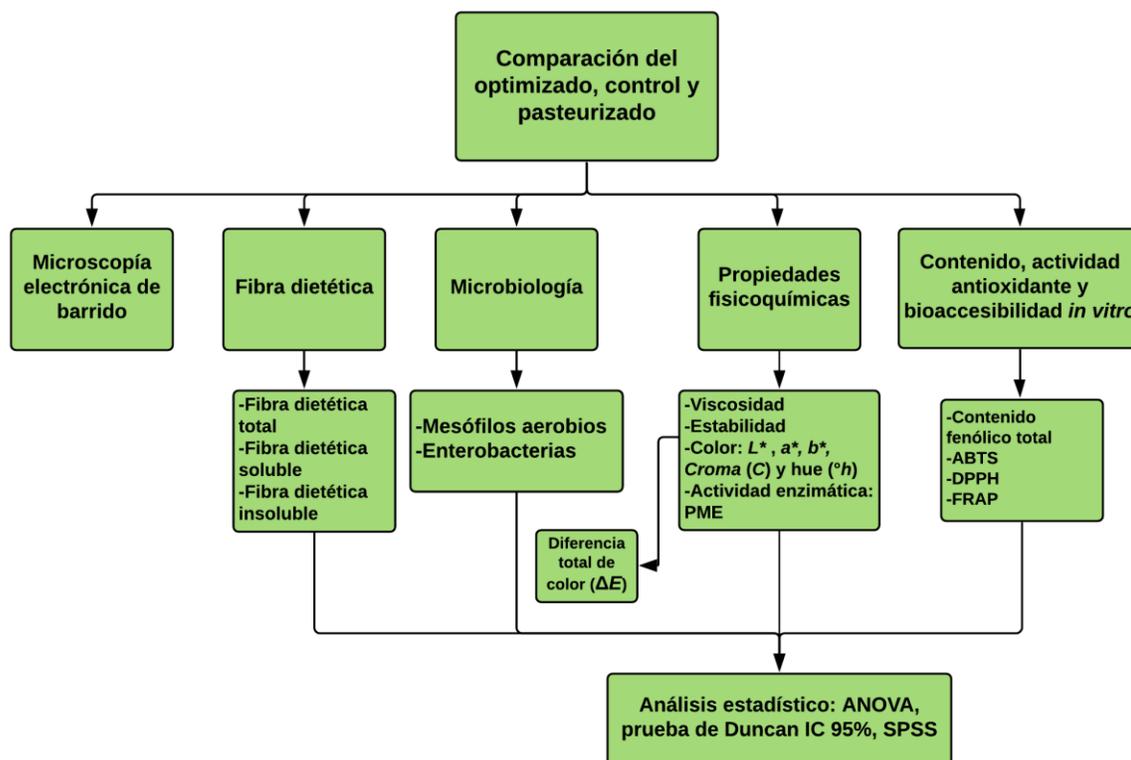


Figura 4. Diagrama de flujo de la etapa metodológica en segunda fase.

6.1 Tratamientos por termoultrasonido en néctar de guanábana

Se utilizó un equipo de ultrasonido modelo (VCX-1500, Sonics Materials, Inc. Newtown, CT, USA) de 1,500 W de potencia y una frecuencia constante de 20 KHz, con una sonda de 13 mm y un recipiente de doble pared, con una capacidad de 400 mL y un control de temperatura utilizando un baño de agua (COLE-PARMER, 12108-10, USA), con la finalidad de obtener una temperatura de salida de $50 \pm 2^\circ\text{C}$. La amplitud usada fue de 75-90 %, en un tiempo de 5-13 min, con segundos de impulso de 4 s para el encendido y 2 s de apagado. El proceso de pasteurización se efectuó a 65°C durante 30 min (Anaya-Esparza *et al.*, 2018) y una muestra de néctar como control para la comparación de la condición óptima.

6.2 Diseño experimental

En el diseño experimental se llevó a cabo un diseño central rotatorio compuesto por las variables independientes de amplitud y tiempo, cada una en cinco niveles, ordenados de manera aleatoria utilizando metodología de superficie de respuesta o RSM (por sus siglas en inglés: Response Surface Methodology). Las variables de amplitud de 75-90 % (X_1 , %) y tiempo de 5-13 min (X_2 , min), se eligieron en base a valores obtenidos en experimentos preliminares y similares. Los valores codificados de las variables independientes fueron $-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$. El diseño arrojó 13 tratamientos (tabla 2), de los cuales 5 fueron los puntos centrales, 4 puntos factoriales y 4 puntos axiales, con una distancia de 1.414 entre cada diseño central. El análisis de regresión se realizó sobre los datos de las variables dependientes obtenidos por triplicado, como observaciones efectuadas por las condiciones de termoultrasonido y el valor medio de cada atributo se tomó como la respuesta (Y_i).

Tabla 2. Diseño experimental de tratamiento por termoultrasonido

| Tratamiento | Patrón | Amplitud (%) | Tiempo (min.seg) |
|-------------|--------|--------------|------------------|
| 1 | +- | 90 | 5.00 |
| 2 | a0 | 72 | 9.15 |
| 3 | 0a | 82 | 3.15 |
| 4* | 00 | 82 | 9.15 |
| 5* | 00 | 82 | 9.15 |
| 6 | 0A | 82 | 15.00 |
| 7 | ++ | 90 | 13.30 |
| 8 | -- | 75 | 5.00 |
| 9* | 00 | 82 | 9.15 |
| 10 | A0 | 93 | 9.15 |
| 11* | 00 | 82 | 9.15 |
| 12* | 00 | 82 | 9.15 |
| 13 | -+ | 75 | 13.30 |

*Puntos centrales

Los datos experimentales se sometieron a análisis de regresión lineal múltiple utilizando JMP® 5.1 software estadístico (SAS Institute, Cary, NC, USA) y se ajustaron a un modelo polinomial de segundo orden, dado por la siguiente ecuación 1.

Ecuación 1: Cálculo de modelo polinomial

$$Y_j = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_i \sum_{j=i+1} \beta_{ij} X_i X_j$$

Donde:

Y_i = respuesta prevista

β_0 = coeficiente constante

β_i = coeficiente lineal

β_{ij} = coeficiente de interacción

β_{ii} = coeficiente cuadrático

X_i y X_j = variables independientes

Las variables de respuesta o determinaciones que se ajustaron al modelo matemático con una $R^2 \geq 0.90$, se interpretaron con la elaboración de figuras tridimensionales y de contorno, estas últimas, para una mayor apreciación de la condición óptima del proceso mediante un traslape, ambas figuras se diseñaron con el programa SigmaPlot 12.3 (Systat Software Inc).

6.3 Obtención de la muestra

La guanábana se adquirió en la central de abastos de la ciudad de Pachuca, Hidalgo, provenientes de la ciudad de Puerto Vallarta, Jalisco, se seleccionaron solo aquellos que no presentaban daños en su exterior, el fruto fue lavado y desinfectado en condiciones asépticas con un desinfectante comercial (Microdyn®), se dejaron secar a temperatura ambiente, posterior a ello se hizo el despulpado removiendo cáscara y semillas.

6.4 Preparación del néctar

Para su elaboración se adicionó la pulpa obtenida en agua purificada en relación de 25 % : 75 % (p/v) como lo indica el CODEX STAN 247 (2005), se homogeneizó con un extractor de alimentos (Nutribullet, LLC, USA) durante 30 segundos, seguido del proceso de ultrasonificación, se añadió 2 % de edulcorante comercial stevia y 6 % de inulina de agave basado en el método de Alizadeh *et al.*, (2018).

6.5 Análisis microbiológico

La determinación se efectuó mediante la técnica de microgota de acuerdo a Strahsburger *et al.*, (2016), usando 100 μ L de néctar de guanábana diluido en agua peptonada 0.1 % previamente esterilizada. Se obtuvieron 3 diluciones decimales a 1:10, 1:100, 1:1000 y una inoculación directa, todas las inoculaciones fueron de 20 μ L. El recuento de mesófilos aerobios (MA) fue en agar cuenta estándar (PCA), incubados (LSI-3016A, Labtech, Korea) durante 48 horas a una temperatura de 30 °C. Para enterobacterias (EB) se usó agar bilis rojo violeta glucosado (VRBG) con un tiempo de 24 horas a 37 °C para su incubación. Al término de las incubaciones se realizó el conteo en placa de las colonias observadas, los datos obtenidos se calcularon obteniendo el logaritmo base 10 y se expresaron como logaritmo de unidades formadoras de colonias por mililitro (Log UFC/mL).

6.6 Propiedades fisicoquímicas

6.6.1 pH

El pH indica el logaritmo negativo (base 10) de la concentración de iones hidronio (H_3O^+) e hidroxilo (OH^-) presentes en la muestra, con valores de 0 a 14 (AOAC & Horwitz, 1995). Para su medición se utilizó un potenciómetro (HANNA, PH210, Rumania) y previo a la medición se calibró con soluciones buffer de pH 4.0 y 7.0, ya estandarizadas.

6.6.2 Sólidos Solubles Totales (SST)

Los sólidos solubles hacen referencia a los azúcares contenidos en la muestra, mismos que, se determinaron con un refractómetro con una escala de 0 a 32 (Trading Co., Brix/ATC FG-113, Chincan) y los resultados fueron expresados en °Brix (AOAC & Horwitz, 1995), a temperatura ambiente, se limpió el prisma del refractómetro con agua desionizada entre cada lectura.

6.6.3 Acidez Titulable (AT)

La acidez titulable es debido a la concentración de ácidos intrínsecos del alimento y se mide por su neutralización a partir de una solución base (Sadler & Murphy, 2010). Esta se realizó por el método de la AOAC & Horwitz (1995). Se colocaron 1 mL de muestra y 9 mL de agua destilada en matraz Erlenmeyer, se adicionaron 3 gotas de fenolftaleína y se homogeneizó manualmente para su consecuente titulación hasta el vire. Se registraron los mililitros de NaOH usados para neutralizar las muestras. La acidez titulable se expresó de acuerdo a la ecuación 2.

Ecuación 2: Porcentaje de acidez titulable (AT)

$$\% \text{ Ácido málico} = \frac{(V)(N)(K)}{mL} \times 100$$

Donde:

V= mililitros de NaOH usado

N= Normalidad de NaOH (0.1 N)

K= miliequivalentes de ácido málico (0.067) (COVENIN 1151-77, 1977).

mL= mililitros de muestra utilizados.

6.6.4 Color

Para esta medición se utilizó un colorímetro portátil (500SM-508D, Minolta CM-80, Japón), por el método descrito por Aular *et al.*, (2002), registrando las coordenadas L^* , a^* , b^* , términos de la Comisión Internacional en Iluminación (CIE, por sus siglas en francés), donde L^* indica luminosidad que va de 0 a 100 (negro a blanco respectivamente); a^* es el eje de cromaticidad entre el verde (-) y el rojo (+), y b^* el eje entre el azul (-) y el amarillo (+). Para el cálculo de saturación o cromaticidad se usó la ecuación 3, siendo la distancia desde el eje de luminosidad (L^*), definido como el nivel de desviación del gris al color cromático puro (Morales & Jiménez, 2001; Zhao *et al.*, 2004).

Ecuación 3: Croma (C)

$$C = [a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

Donde:

C= Croma

a^* = coordenada a^*

b^* = coordenada b^*

Hue (h°) define la tonalidad o ángulo de color, para su determinación se usaron los valores numéricos de a^* y b^* (Arias *et al.*, 2018), como se observa en la ecuación 4.

Ecuación 4: Hue ($^\circ h$)

$$^\circ h = \tan^{-1}(b^*/a^*)$$

La diferencia total de color o ΔE (TCD, por sus siglas en inglés) (Hernández-Falcón *et al.*, 2018), fue obtenida usando los valores del néctar control y pasteurizado como referencia, como se muestra en la ecuación 5.

Ecuación 5: Diferencia total de color (ΔE).

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

Donde:

$$\Delta L^* = (L^*_1 - L^*_2)$$

$$\Delta a^* = (a^*_1 - a^*_2)$$

$$\Delta b^* = (b^*_1 - b^*_2)$$

6.6.5 Viscosidad

La viscosidad es la resistencia ocasionada por la falta de deslizamiento de las partes de un líquido, proporcional a la velocidad con que se separan unas de otras dentro de él (Pérez-Trejo *et al.*, 2010). La viscosidad se midió con un viscosímetro rotatorio (Brookfield DV-E USA) utilizando la aguja LV-3 a 60 rpm, se midieron 35 mL de la muestra y se colocaron en tubos de centrífuga a 20 °C. Los resultados se expresaron en centipoises (cP).

6.6.6 Porcentaje de estabilidad

El porcentaje de estabilidad consiste en el peso de los sólidos sedimentados obtenidos posterior a la centrifugación, teniendo dos fases (sedimentado y sobrenadante), un valor alto de este parámetro indica una baja estabilidad como consecuencia de la sedimentación de las partículas (Cruz *et al.*, 2007). La determinación de estabilidad se realizó de acuerdo con Zafra-Rojas *et al.*, (2013). Se centrifugaron 10 mL de néctar (Hamilton Bell, V6500, USA) a 3,400 rpm durante 20 minutos y los resultados de estabilidad se expresaron como porcentaje de estabilidad, calculados con la ecuación 6.

Ecuación 6: Porcentaje de estabilidad (%)

$$Estabilidad (\%) = (100) - \left(\frac{(\text{Tubo 2} - \text{Tubo 1})}{\text{Muestra}} \times 100 \right)$$

Donde:

Tubo 1: peso del tubo vacío en gramos

Tubo 2: peso del tubo con muestra después de centrifugar en gramos

Muestra: peso de la muestra agregada previamente al tubo en gramos

6.6.7 Índice de turbidez

El índice de turbidez, se midió por la absorbancia registrada, utilizando un espectrofotómetro, ya que representa las partículas más pequeñas que tienden a ser suspendidas en una muestra líquida y que disminuyen el paso de la luz. Esta determinación se realizó de acuerdo con la metodología de Versteeg (1980), donde se centrifugaron 5 mL de muestra (Hamilton Bell, V6500, USA) a 3,400 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante obtenido se midió a 660 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA), se utilizó agua desionizada como blanco. Los resultados se expresaron tomando el valor de absorbancia como índice de turbidez.

6.6.8 Índice de oscurecimiento no enzimático

El índice de oscurecimiento representa la pureza del color marrón, es un parámetro importante en los procesos donde se produce el pardeamiento enzimático o no enzimático, este se determinó de acuerdo a la metodología descrita por Meydav *et al.* (1977). La determinación consistió en centrifugar 15 mL de néctar (Hamilton Bell, V6500, USA) durante 10 minutos a 3,400 rpm. Posteriormente se colocó 5 mL del sobrenadante y 5 mL de etanol (95 %) en un tubo para volver a centrifugar bajo las mismas condiciones. La absorbancia del sobrenadante fue medida a 420 nm (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA). Los resultados se expresaron con el valor de la absorbancia, considerándose como índice de oscurecimiento.

6.7 Actividad enzimática

6.7.1 Actividad residual de Pectinmetilesterasa (PME)

La determinación de la actividad residual de la enzima PME se realizó mediante la titulación del grupo carboxil, de acuerdo a la metodología de Kimball (2012), con modificaciones. Se realizó añadiendo 40 mL de pectina cítrica al 1% en una solución de NaCl 2 N, con 10 mL de néctar. La mezcla se ajustó con NaOH 1 N para obtener un pH de 7.0, posterior a esto se agregó 1 mL de NaOH a 0.05 N y se midió el tiempo que llegó de nuevo al pH de 7.0. El cálculo se realizó con la siguiente ecuación.

Ecuación 7: **Unidades de pectinmetilesterasa (PME)**

$$UPME/mL = \frac{(\text{mL de NaOH}) * (\text{Normalidad del NaOH}) * 1000}{(\text{Minutos}) * (\text{mL de muestra})}$$

Para la expresión del resultado se consideró la unidad de PME (UPME), que equivale a 1 μmol del grupo carboxil por minuto a un pH de 7.0 a una temperatura de 30 °C. Así como en % de actividad residual (% AR) empleando al control, como el 100% de actividad de PME.

6.8 Determinación de contenido de fenoles total (CFT)

El contenido de fenoles se determinó mediante el procedimiento de Folin-Ciocalteu, de Stintzing *et al.*, (2005), donde el reactivo Folin-Ciocalteu, es una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, la cual es reducida a azules de tungsteno y molibdeno por reaccionar con compuestos fenólicos en un medio básico, mismos que, son cuantificables mediante espectrofotometría.

En este ensayo se implementaron reactivos como una solución de Folin-Ciocalteu (0.2 N en agua destilada), una solución de carbonato de sodio (0.6 mM en agua destilada) y solución de ácido gálico (AG) 1.6 mM en agua destilada, utilizada como patrón de referencia y se realizó una curva estándar de AG de 0, 100, 200 y 300 mg/L. Se agregaron 100 μL de muestra, 500 μL de Folin-Ciocalteu y 400 μL de carbonato de sodio, agitándose en un vortex y dejar reaccionar durante 30 minutos. Finalmente se determinó su absorbancia mediante un lector de microplaca (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA) a una longitud de onda de 765 nm, se usó agua

destilada como blanco. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por 100 mL (mg EAG/100 mL).

6.9 Determinación de actividad antioxidante

6.9.1 Actividad antioxidante por ABTS•+

El método ABTS•+ (2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS•+ (el cual reacciona con compuestos hidrófilos y lipófilos), este compuesto presenta un nitrógeno central que, en un principio presenta un color azul-verde (oxidado), que al interactuar con especies donantes de hidrógeno o de electrones (antioxidantes) genera decoloración (Re *et al.*, 1999; Quintanar & Calderón, 2009). El radical catiónico ABTS•+ es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 754 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. Para su realización se preparó una solución de ABTS al 7 mM (en agua destilada), se agregó persulfato de potasio al 2.45 mM (en agua destilada), y se dejó reposar por 16 horas a temperatura ambiente (25°C) en total oscuridad, se realizaron diluciones en agua destilada hasta obtener una lectura de absorbancia de 0.70 ± 0.1 a 754 nm.

Se elaboró una curva estándar en concentraciones 0, 5, 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{mol/L}$ con una solución de trolox (1 mM). Para su lectura por espectrofotometría se utilizó un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA). Se añadió 20 μL del néctar y 980 μl de solución de ABTS preparada, se agitó en el vortex y se dejó reposar a temperatura ambiente por un lapso de 7 minutos, posteriormente se determinó su absorbancia. Como patrón se utilizó trolox y agua destilada como blanco, los resultados se expresaron como μmol de equivalentes de trolox por 100 mL ($\mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$) (Kuskoski *et al.*, (2005).

6.9.2 Actividad antioxidante por DPPH•

Este método consiste en evaluar la capacidad antioxidante ante el radical DPPH• (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), el cual presenta un color azul-violeta, decolorándose a amarillo por reacción con la sustancia antioxidante presente (Chávez, 2004), esta identifica antioxidantes liposolubles (Londoño, 2012).

La metodología se realizó de acuerdo a Morales & Jiménez-Pérez (2001), se preparó una solución de DPPH 0.2 mM en etanol y se elaboró una curva estándar con trolox (1 mM), con concentraciones de 0, 50, 100, 200, y 300 $\mu\text{mol ET/L}$ se midió por espectrofotometría a 520 nm utilizando un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA). Las lecturas se realizaron por triplicado, previo a ello se dejaron reposar por 60 min, se usó trolox como patrón de referencia y los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de trolox en 100 mL ($\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$).

6.9.3 Actividad antioxidante por FRAP

Este método evalúa la capacidad antioxidante de reducción férrica, midiendo la capacidad de un compuesto para reducir el ión férrico (ferric^{2+} , 4, 6-tripiryridyl-s-triazine $[\text{Fe (III)- (TPTZ)}_2]^{3+}$) a complejo ferroso ($[\text{Fe (III)- (TPTZ)}_2]^{2+}$) a un pH de 3.6, desarrollando un color azul intenso (Benzie & Strain, 1996; Mesa-Vanegas *et al.*, 2010; García *et al.*, 2011).

Se efectuó mediante la metodología establecida por Thaipong *et al.*, (2006), se preparó FRAP en una concentración 10:1:1 con 100 mL de solución de amortiguador de acetato (0.3 M/L a pH 3.6), 10 mL de TPTZ 10 mM en HCl (40 mM) y 10 mL de FeCl_3 (20 mM en agua destilada). Con una curva estándar de sulfato ferroso (FeSO_4) 5M con concentraciones de Fe (II): 0, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{M Fe (II)/L}$, se reposaron las muestras a 37 °C durante 10 min, posterior se leyeron a una longitud de onda de 593 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, USA). Los resultados se expresaron en micromoles de hierro (II) por 100 mililitros ($\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ mL}$).

7.0 Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido (MEB) es una técnica de imagen utilizada para observar la morfología de las partículas pequeñas (1-50 μM) presentes en materiales sólidos, emitiendo un panorama tridimensional de su estructura, con lo que se puede analizar su composición (Gamiz *et al.*, 2017). Su fundamento se basa en el desplazamiento de un haz de electrones del microscopio sobre la superficie de la muestra, amplificando la información y emitiéndose como una imagen (Sorrivas *et al.*, 2014).

Para determinar la microestructura del néctar se usó un microscopio electrónico de barrido (MEB) con un alcance de 300,000 magnificaciones, cantidades de muestras liofilizadas tanto del tratamiento optimizado, control y pasteurizado, se colocaron sobre una cinta de grafito de doble cara. Después fueron recubiertas con una capa delgada de oro de 1 nm en una máquina ionizadora (Denton Vacuum LLC, Moorestown, Nueva Jersey, USA) a una presión de 20 millitorr y con una corriente de 20 miliamperios durante 4 min. Este recubrimiento de oro llega al punto de sublimación del oro por la presión ejercida, volviendo conductora la muestra para resistir al haz de electrones y así lográndose observar en el microscopio (JEOL JSM-IT300).

7.1 Contenido de fibra

La determinación de fibra dietética total (FDT) y soluble (FDS) se determinaron por métodos gravimétricos (Prosky *et al.*, 1985) y enzimáticos mediante un kit comercial para el ensayo de fibra dietética total (TDF-100A, SIGMA) bajo las especificaciones establecidas por el fabricante. Esta técnica se fundamenta en que, las muestras secas y libres de grasa son gelatinizadas con α -amilasa y calor, para ser digeridas enzimáticamente por la proteasa y amiloglucosidasa, eliminando proteína y almidón, logrando la precipitación de fibra soluble con etanol (Prosky *et al.*, 1988).

La técnica se basa en 3 etapas, en la primera se pesaron 0.5 g de muestra del néctar control, optimizado y pasteurizado (4 veces cada muestra) en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente se adicionaron 25 mL de buffer de fosfatos (0.8 M, con un pH de 6.0) y 50 μ L de α -amilasa. Se cubrieron los matraces con papel aluminio y colocaron en un baño de agua con agitación horizontal continua a 95°C por 15 min, terminado el lapso, se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 15 min (con movimientos cada 5 minutos) y se ajustó el pH a 7.5 ± 0.2 con la adición de NaOH 0.275 M, después se adicionó 50 μ L de la solución de proteasa en buffer de fosfato (0.8 M, pH 6), se cubrieron con papel aluminio y se incubaron (60°C / 30 min) con agitación continua. Al enfriarse a temperatura ambiente se ajustó el pH (4.0 a 4.6) con HCl 0.325 M o NaOH. Se agregaron 50 μ L de amiloglucosidasa para después cubrir el matraz con papel aluminio y se colocaron nuevamente en baño de agua a 60 °C por 30 min con agitación continua. Al final se añadieron 4 volúmenes de etanol al 95 % en cada matraz, durante

16 h a temperatura ambiente, con el objetivo de precipitar la fibra dietética total. Posterior a ello las muestras fueron divididas en FDT y FDS, en esta última se les aplicó una centrifugación (10,000 rpm) por 10 minutos en centrífuga refrigerada (Allegra 25R, Beckman Coulter; CA, USA) a fin de utilizar el sobrenadante como fibra dietética soluble

La segunda fase consistió en la filtración de las muestras de fibra dietética soluble y total. Se filtraron en crisoles Gooch No. 2 (45-50 μm de porosidad, cap. 30 mL), secados previamente en un horno de aire a 105°C a peso constante. Se colocaron 0.25 g de celita, después se metieron al horno a 105°C por 1 h y se enfriaron en desecador (15 min) para ser pesados y proceder con la filtración donde se distribuyó la cama de celita con gotas de etanol al 78%. El precipitado se depositó en el crisol Gooch. Después se realizaron lavados de 30 mL de etanol al 78 %, 10 mL de etanol al 95 % y 10 mL de acetona. Posteriormente se secaron los crisoles Gooch por 16 h a 105 °C. En la última fase, se determinó proteína por el método Kjeldahl en el sistema de digestión (Gerhardt KB8) y destilación (Gerhardt Vapodest 50), este método permite determinar la concentración de nitrógeno en muestras orgánicas e inorgánicas (AOAC 920.123, 1999) y ceniza por el método gravimétrico de incineración en una mufla (Furnace 1500, FD1535M) esto por la AOAC 935.42, (1999). Para el cálculo de fibra dietética total y soluble se usó la ecuación 8 y 9.

Ecuación 8: Porcentaje de fibra dietética total

$$\%FDT = \frac{(R \text{ residuo} - P \text{ residuo} - A \text{ residuo} - B)}{PM} \times 100$$

Ecuación 9: Porcentaje de fibra dietética soluble

$$\%FDS = \frac{(R \text{ residuo} - P \text{ residuo} - A \text{ residuo} - B)}{PM} \times 100$$

Donde:

% FDT= Fibra Dietética Total

% FDS= Fibra Dietética Soluble (obtenido por centrifugación)

R= Peso promedio del residuo (mg)

P= Peso promedio de la proteína (mg)

A= Peso promedio de la ceniza (mg)

B= Blanco

Donde:

Ecuación 10: Blanco= (residuo del blanco- peso proteína blanco- peso de ceniza del blanco en mg)

PM= Peso promedio de la muestra (mg)

Para el cálculo de la fibra insoluble se realizó por diferencia (ecuación 11).

Ecuación 11: Porcentaje de fibra dietética insoluble

$$\% FDI = (FDT - FDS)$$

Donde:

% FDI= Fibra Dietética Insoluble

FDT= Fibra Dietética Total

FDS= Fibra Dietética Soluble

7.2 Bioaccesibilidad intestinal *in vitro*

Para determinar la bioaccesibilidad intestinal, se simuló la fase inicial de digestión intraluminal, seguido de una diálisis con el objetivo de imitar la fase de absorción intestinal. Todo ello utilizando un modelo de digestión *in vitro* de acuerdo a Miller *et al.*, (1981) con modificaciones (Trinidad *et al.*, 1996). En tubos de centrífuga se depositaron 20 mL de muestra de néctar (optimizado, control y pasteurizado) por duplicado, se ajustó el pH a 2 con ácido clorhídrico (HCl) 6 M, posterior a esto, se adicionó 120 μ L de solución pepsina (1 M) en 1 mL de HCl 0.1 M, se incubaron a 37 °C en agitación constante de 60 rpm durante 2 horas (LSI-3016, Labtech, Korea).

Al término del tiempo se añadieron 1.5 mL de solución bilis-pancreatina (12.5 mg hidrato de colato de sodio, 12.5 mg de dioxicolato de sodio y 5 mg de pancreatina en 1 mL de NaHCO₃ 0.1 M) y se homogeneizó. Las muestras digeridas se colocaron en membranas de celulosa de 76 mm (Sigma-Aldrich) de 15 cm de largo con corte de peso molecular de 12-14 kDa, se realizaron lavados con 3 mL de agua destilada para arrastrar material del tubo a fin de preparar las bolsas para su diálisis. Posteriormente se sometieron a diálisis con una solución de 200 mL de NaHCO₃ (0.1 M) a un pH de 7.5 por 16 horas en incubación y agitación (37 °C / 60 rpm). Al final, la fracción bioaccesible (solución dializada) se dividió y reservó en congelación (-35 °C) para posteriormente determinar el contenido antioxidante y actividad antioxidante.

7.3 Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Para la reproducibilidad de la condición óptima de proceso de termoultrasonido, se utilizó la prueba t-student para dos muestras, comparando el valor predicho con el optimizado. La comparación de la muestra optimizada con un control y pasteurizado, se realizó con 3 producciones independientes de cada una y las determinaciones se realizaron por triplicado (n=9), donde se evaluaron mediante análisis unidireccional de varianza (ANOVA) y comparación de las diferencias entre las medias (\pm desviación estándar) se estableció con una prueba de Duncan con una confiabilidad del 95%. Se utilizó el paquete estadístico SPSS® versión 15.0, Sistema SPSS para Windows (SPSS INC, Chicago, Illinois).

8. Resultados y discusiones

8.1 Microbiología

Se realizó un análisis microbiológico a cada muestra de néctar de guanábana tratada por termoultrasonido (TUS) ante diferentes condiciones de amplitud y tiempo, así como un tratamiento control, a fin de conocer el comportamiento de mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB). En la tabla 3 se exhiben los resultados obtenidos para calidad microbiológica. En mesófilos aerobios, el control obtuvo 5.24 log UFC/mL, se observaron reducciones de 1.42 a 3.54 log UFC/mL en los néctares tratados por termoultrasonido en relación al control, el tratamiento 75/13.30, tuvo la menor carga microbiana (1.70 log UFC/mL). Respecto a enterobacterias, el control presentó 5 log UFC/mL, mientras que no hubo crecimiento de enterobacterias en los tratamientos 75/13.30, 82/9.15, 82/15 y 93/9.15. El tratamiento con menor tiempo de TUS (82/3.15) mostró una mayor carga de EB (3.88 log UFC/mL). Los tratamientos 82/9.15, 82/15.00 y 75/13.30 cumplieron con los criterios internacionales (<2 Log UFC/mL) para MA y EB en jugos pasteurizados (CEC, 2005). Cabe mencionar que estas variables de respuestas no se ajustaron al modelo matemático ($R^2 < 0.90$).

Tabla 3. Efecto de las condiciones de termoultrasonido sobre el contenido de microorganismos en el néctar de guanábana

| Tratamiento (%amplitud/min.seg) | Microbiología | |
|------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| | Mesófilos aerobios (logUFC/mL) | Enterobacterias (logUFC/mL) |
| Control | 5.24±0.34 | 5.00±0.43 |
| 90/5.00 | 3.78±0.02 | 3.74±0.05 |
| 72/9.15 | 3.64±0.16 | 3.60±0.05 |
| 82/3.15 | 3.82±0.02 | 3.88±0.01 |
| 82/9.15 | 1.85±0.21 | 0±0.00 |
| 82/9.15 | 3.57±0.02 | 3.38±0.05 |
| 82/15.00 | 1.85±0.21 | 0±0.00 |
| 90/13.30 | 2.81±0.19 | 2.65±0.05 |
| 75/5.00 | 2.20±0.17 | 1.80±0.58 |
| 82/9.15 | 2.59±0.14 | 1.70±0.00 |
| 93/9.15 | 2.39±0.12 | 0±0.00 |
| 82/9.15 | 1.85±0.21 | 0±0.00 |
| 82/9.15 | 1.94±0.34 | 0±0.00 |
| 75/13.30 | 1.70±0.00 | 0±0.00 |
| R^2 | 0.37 | 0.37 |

±: desviación estándar, log UFC: Logaritmo base unidades formadoras por colonia

La disminución en la carga bacteriana podría deberse al debilitamiento de la pared celulares de las bacterias, ya que generalmente se vuelven más sensibles al aplicarse el termoultrasonido (Evelyn & Silva, 2016), esto a causa de la combinación de mecanismos físicos y químicos ocurridos durante la cavitación (Oyane *et al.*, 2009). En general la cavitación crea regiones con altas temperaturas y presiones (microstreaming), aumentando la sensibilidad de la bacteria al calor, que en conjunto con una alta presión osmótica se generan lesiones intracelulares, ocasionando perforación y exposición del contenido del citoplasma al exterior (Kiang *et al.*, 2013).

8.2 Propiedades fisicoquímicas

Para determinar algunas propiedades fisicoquímicas en el néctar de guanábana termoultrasonificado se midió pH, sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), viscosidad, porcentaje de estabilidad, índice de oscurecimiento (IO) e índice de turbidez (IT), estos estos parámetros no se ajustaron al modelo matemático, ya que su valor de R^2 fue menor a 0.90. Los valores obtenidos se pueden observar en la tabla 4.

8.2.1 pH

En pH, el valor obtenido para el control fue de 3.91, este valor fue similar a lo obtenido en las muestras TUS (3.71 a 4.37) (tabla 4), excepto en los tratamientos 82/9.15 y 93/9.15, los cuales tuvieron valores de 4.36 y 4.37, respectivamente. Ligeros cambios también se observaron en un jugo de betabel tratado por termoultrasonido (Ramírez-Melo, 2020). Las variaciones de pH en las muestras termoultrasonificadas podrían atribuirse al aumento o disminución de algunos ácidos orgánicos, polifenoles y a la producción de grupos hidroxilos (OH^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) e ión hidrógeno (H^+), los cuales son producidos por sonólisis en medios acuosos (jugos de frutas) (Anaya-Esparza *et al.*, 2017b).

Tabla 4. Efecto de la amplitud y tiempo de termoultrasonido sobre las propiedades fisicoquímicas del néctar de guanábana

| Tratamiento (%amplitud/min.se g) | pH | Sólidos solubles totales (°Brix) | Acidez titulable (% ácido málico) | Viscosidad (cP) | Estabilidad (%) | Índice de turbidez (A_{660}) | Índice de oscurecimiento (A_{420}) |
|--|-----------|---|--|--------------------|--------------------|--|--|
| Control | 3.91±0.03 | 11±0.00 | 0.25±0.04 | 220.67±7.02 | 63.24±1.14 | 0.15±0.00 | 0.05±0.00 |
| 90/5.00 | 3.85±0.03 | 11±0.00 | 0.27±0.00 | 341.33±9.02 | 60.19±1.85 | 0.22±0.01 | 0.06±0.00 |
| 72/9.15 | 3.87±0.01 | 11±0.00 | 0.22±0.04 | 309.33±4.16 | 60.03±0.53 | 0.21±0.00 | 0.08±0.00 |
| 82/3.15 | 3.79±0.02 | 11±0.00 | 0.27±0.00 | 350.67±8.08 | 62.72±1.10 | 0.21±0.00 | 0.06±0.00 |
| 82/9.15 | 4.06±0.01 | 11±0.00 | 0.22±0.04 | 408.00±24.25 | 59.71±1.13 | 0.25±0.00 | 0.06±0.00 |
| 82/9.15 | 3.78±0.01 | 11±0.00 | 0.13±0.00 | 329.33±31.13 | 61.80±0.23 | 0.23±0.01 | 0.05±0.00 |
| 82/15.00 | 4.04±0.02 | 11±0.00 | 0.20±0.00 | 380.67±10.26 | 59.28±0.42 | 0.22±0.00 | 0.06±0.00 |
| 90/13.30 | 3.71±0.01 | 11±0.00 | 0.16±0.04 | 364.00±11.14 | 56.69±0.93 | 0.23±0.03 | 0.06±0.00 |
| 75/5.00 | 3.75±0.01 | 11±0.00 | 0.20±0.00 | 432.67±19.22 | 53.69±1.42 | 0.19±0.00 | 0.02±0.00 |
| 82/9.15 | 3.72±0.01 | 11±0.00 | 0.16±0.04 | 398.00±35.04 | 56.38±0.46 | 0.20±0.02 | 0.11±0.01 |
| 93/9.15 | 4.37±0.01 | 11±0.00 | 0.18±0.04 | 324.67±18.15 | 60.37±1.08 | 0.22±0.00 | 0.07±0.01 |
| 82/9.15 | 4.36±0.01 | 11±0.00 | 0.18±0.04 | 342.67±9.87 | 55.54±2.64 | 0.25±0.01 | 0.03±0.00 |
| 82/9.15 | 4.31±0.01 | 11±0.00 | 0.16±0.04 | 365.33±9.87 | 56.47±0.53 | 0.23±0.01 | 0.04±0.00 |
| 75/13.30 | 4.27±0.01 | 11±0.00 | 0.18±0.04 | 380.67±33.01 | 43.98±6.39 | 0.16±0.01 | 0.03±0.00 |
| R^2 | 0.31 | 0.00 | 0.70 | 0.32 | 0.36 | 0.55 | 0.10 |

±: desviación estándar, pH: logaritmo de la concentración de iones H⁺, A: absorbancia.

8.2.2 Sólidos Solubles Totales

Para SST, los tratamientos control y TUS presentaron el mismo valor (11 °Brix) (tabla 4), esta tendencia se ha encontrado en diferentes matrices tratadas por termoultrasonido, como en jugo de manzana, naranja, néctar de guanábana y jugo de carambola (Abid *et al.*, 2014; Adiamo *et al.*, 2017; Anaya-Esparza *et al.*, 2017c; Nayak *et al.*, 2018). Anaya-Esparza *et al.*, (2018), mencionan que el termoultrasonido no afecta de manera significativa el contenido de sólidos solubles totales. Según Zou & Jiang, (2016) atribuye que, los resultados similares (control y termoultrasonido) se debe a la homogeneización inicial del néctar, el cual ocasiona una gran liberación de azúcares simples y ácidos orgánicos previo al tratamiento.

8.2.3 Acidez Titulable

Respecto a AT, el resultado obtenido en el control fue de 0.25 % y en los tratamientos TUS se encontró un rango de 0.13 % a 0.27 % (tabla 4), la mayoría de los tratamientos arrojaron menores porcentajes de AT comparados al control, a excepción de los tratamientos con menor tiempo de termoultrasonificación (90/5.00 y 82/3.15). Estos datos son menores a los obtenidos en un estudio realizado por Anaya-Esparza *et al.*, (2017c) en un néctar termoultrasonificado de guanábana con 35 % de pulpa, dónde obtuvieron valores de 0.30 % a 0.37 %. Los bajos valores en el presente estudio, podrían deberse al empleo de un menor porcentaje de pulpa (25 %), así mismo, las ligeras variaciones de AT entre los tratamientos podrían ser por un grado de madurez distinto de un fruto a otro; como lo menciona Márquez-Cardozo *et al.*, (2012), quienes observaron disminuciones en acidez titulable en la guanábana, entre días de almacenamiento en los frutos.

8.2.4 Viscosidad

Los valores obtenidos para viscosidad en las muestras termoultrasonificadas fueron de 309.33 cP a 432.67 cP, siendo mayores que el néctar no tratado, el cual obtuvo 220.67 cP (tabla 4). Estos valores y comportamientos fueron similares a los reportados por Anaya-Esparza *et al.*, (2018) en un néctar termoultrasonificado, obteniendo valores para dos tratamientos TUS y control de 348.96, 351.80 y 334.86 cP, respectivamente. El aumento de la viscosidad en las muestras TUS se debe a que el termoultrasonido genera la fragmentación de partículas grandes por efecto de la cavitación, así como también genera un aumento de la solubilidad en las partículas de pectina a causa de la temperatura (Wu *et al.*, 2008). Otra causa que pudo aumentar la viscosidad es el uso de la inulina de agave, ya que Sosa-Herrera & Delgado-Reyes (2016) mencionan que la extracción de inulina de agave por ultrasonido produce fructooligosacáridos (FOS) de cadena corta y según Drabińska *et al.*, (2016), los FOS de cadena corta presentan mayor solubilidad aumentando la viscosidad en comparación con los FOS de cadena larga.

8.2.5 Estabilidad

La estabilidad del néctar control obtuvo mayor porcentaje (63.24%) respecto a los termoultrasonificados (43.98% a 62.72%), siendo el tratamiento 82/3.15 el mayor de estos. Una tendencia diferente se encontró en jugos de tuna púrpura y betabel termoultrasonificados (Cruz-Cansino *et al.*, 2015; Ramírez-Melo, 2020). Estas diferencias se pueden deber a una baja reducción del tamaño de las partículas en la matriz, Ertugay & Baslar (2014) reportaron en un jugo de manzana ultrasonificado, que un mayor tamaño de partícula de 0.5 a 0.65 μm , presenta una menor estabilidad en comparación con un tamaño menor de 0.5 μm . La mayoría de los estudios que reportan mayor estabilidad en los tratamientos TUS son jugos, los cuales se obtienen directamente por extracción mecánica conservando las características físicas, químicas y organolépticas del fruto procedente, a diferencia de un néctar, este se obtiene por mezcla de pulpa y agua (CODEX-STAN 247, 2005), por lo que un néctar podría tener mayor tamaño y número de componentes y tejidos, generando una menor estabilidad.

8.2.6 Índice de Turbidez

La turbidez dependiendo de los gustos del consumidor puede ser un atributo positivo o negativo, en el caso de algunos jugos como el de tomate y naranja, que presentan turbidez y suspensiones coloidales, son aceptados y deseados (Sin *et al.*, 2006), estas características también se observan en néctares. El índice de turbidez en el néctar control mostró un menor valor (0.15) que los termoultrasonificados (0.16 a 0.25), siendo el tratamiento 82/9.15 el que obtuvo mayor valor (0.25). El incremento de la turbidez en el néctar es un factor positivo, que se relaciona con la inactivación de la pectinmetilesterasa. La actividad enzimática de la PME, cataliza la desesterificación de las moléculas de pectina, produciendo enlaces con iones de calcio, disminuyendo la turbidez y separando fases en el medio (Vercet *et al.*, 1999), por lo que una mayor turbidez en el néctar indica una menor actividad de PME, como lo obtenido en este estudio (resultados que se explicarán más adelante). Resultados similares fueron reportados en un jugo de carambola termoultrasonificado donde tuvieron mayor valor (0.101 a 0.110) que el control (0.096) (Nayak *et al.*, 2018), mismo comportamiento se observó en un jugo de betabel termoultrasonificado (1.30 a 1.87) y control (1.17) (Ramirez-Melo, 2020). El aumento se puede deber al colapso de las burbujas formadas durante la cavitación, efecto que desintegra a las moléculas y partículas (Santhirasegaram *et al.*, 2013). En particular, la pectina reduce su peso molecular formando una ligera gelificación afectando la claridad (Seshadri *et al.*, 2003).

8.2.7 índice de oscurecimiento no enzimático

Para índice de oscurecimiento no enzimático (IO), el control obtuvo un valor de 0.05, mientras que los TUS reportaron valores de 0.02 a 0.11 (tabla 4), siendo el tratamiento con menor amplitud y tiempo de 75/5.00, el que mostró menor valor. Cruz-Cansino *et al.*, (2015) en un jugo de tuna púrpura termoultrasonificado, obtuvieron un aumento en las muestras termoultrasonificadas (0.37 y 0.42) en comparación con el control (0.34), el pardeamiento podría originarse por la descomposición de carotenoides (Tiwari *et al.*, 2009b) y una degradación de ácido ascórbico (Marcy *et al.*, 1984) por la creación de grupos carbonilos, dando origen al oscurecimiento no enzimático (Joslyn, 1961). Mientras que Yuan *et al.*, (2009) atribuyen el aumento del oscurecimiento a la disminución en la cantidad de azúcar.

8.2.8 Color

Los resultados de color se presentan en la tabla 5. Los parámetros que se analizaron en este estudio fueron las coordenadas de L^* , a^* , b^* , croma (C^*) y hue ($^{\circ}h$). Para luminosidad (L^*), el control presentó un valor de 40.36, siendo más oscuro que los TUS (44.46 a 50.70). Solo las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático fueron L^* , b^* y C^* . Los resultados de coeficiente de regresión se aprecian en la tabla 6, la coordenada L^* se vio influenciada significativamente ($p < 0.0001$) por la variable tiempo en su término cuadrático (b_{22}), observándose en la figura 5a, que a mayor tiempo de termoultrasonificación existe un incremento en la claridad. Una tendencia diferente fue presentada por Tiwari *et al.*, (2009b) en un jugo zarzamora sonificado, donde el término lineal de amplitud disminuyó el valor de L^* de manera significativa ($p < 0.0001$), por lo que a mayor amplitud menor es la luminosidad. Mientras que Tiwari *et al.*, (2010), en un jugo de uva roja tratado por ultrasonido, identificaron que el tiempo en su término cuadrático afectó de manera significativa ($p < 0.0001$), sin embargo, los valores de L^* disminuyeron a mayor tiempo de tratamiento.

Tabla 5. Efecto de la amplitud y tiempo del termoultrasonido sobre el color del néctar de guanábana

| Tratamiento (%amplitud/min.seg) | <i>L</i>* | <i>a</i>* | <i>b</i>* | <i>C</i>* | Hue (°h) |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|
| Control | 40.36±0.53 | -0.57±0.01 | 3.83±0.04 | 3.87±0.04 | -81.59±0.07 |
| 90/5.00 | 46.72±0.29 | -0.78±0.04 | 2.63±0.06 | 2.75±0.06 | -73.44±0.49 |
| 72/9.15 | 47.06±0.12 | -0.53±0.03 | 2.79±0.07 | 2.84±0.06 | -79.23±0.71 |
| 82/3.15 | 50.7±0.23 | -0.38±0.02 | 2.86±0.04 | 2.89±0.03 | -82.36±0.49 |
| 82/9.15 | 44.46±0.13 | -0.99±0.00 | 3.32±0.33 | 3.46±0.32 | -73.30±1.57 |
| 82/9.15 | 45.28±0.16 | -0.75±0.02 | 3.37±0.27 | 3.45±0.26 | -77.40±1.15 |
| 82/15.00 | 50.21±0.08 | -1.03±0.01 | 3.17±0.15 | 3.34±0.14 | -71.94±0.77 |
| 90/13.30 | 50.60±0.21 | -0.33±0.02 | 3.99±0.23 | 4.01±0.23 | -85.27±0.27 |
| 75/5.00 | 49.84±0.07 | -0.22±0.01 | 2.97±0.03 | 2.98±0.03 | -85.83±0.20 |
| 82/9.15 | 45.68±0.64 | -0.07±0.01 | 3.77±0.10 | 3.77±0.10 | -88.93±0.18 |
| 93/9.15 | 47.60±0.24 | -0.66±0.02 | 3.60±0.04 | 3.66±0.04 | -79.56±0.22 |
| 82/9.15 | 46.52±0.11 | -0.54±0.01 | 3.63±0.03 | 3.67±0.03 | -81.49±0.12 |
| 82/9.15 | 45.49±1.38 | -0.73±0.02 | 3.68±0.16 | 3.75±0.16 | -78.82±0.29 |
| 75/13.30 | 48.08±0.22 | -0.83±0.04 | 2.38±0.12 | 2.52±0.12 | -70.75±1.19 |
| <i>R</i>² | 0.94 | 0.44 | 0.93 | 0.95 | 0.61 |

±: desviación estándar

Tabla 6. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de parámetros de color del néctar de guanábana termoultrasonicado

| Coeficiente | L^* | b^* | C^* |
|------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| b_0 (intercepto) | 45.48 ^a | 3.55 ^a | 3.62 ^a |
| b_1 (amplitud) | 0.02 | 0.30 ^c | 0.30 ^b |
| b_2 (tiempo) | 0.18 | 0.15 ^d | 0.18 ^c |
| b_{12} (amplitud*tiempo) | 1.41 ^c | 0.49 ^b | 0.43 ^b |
| b_{11} (amplitud*amplitud) | 0.90 ^d | -0.21 ^d | -0.21 ^c |
| b_{22} (tiempo*tiempo) | 2.46 ^a | -0.30 ^c | -0.28 ^b |

Niveles de significancia: ^a $p < 0.0001$; ^b $p < 0.001$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.05$

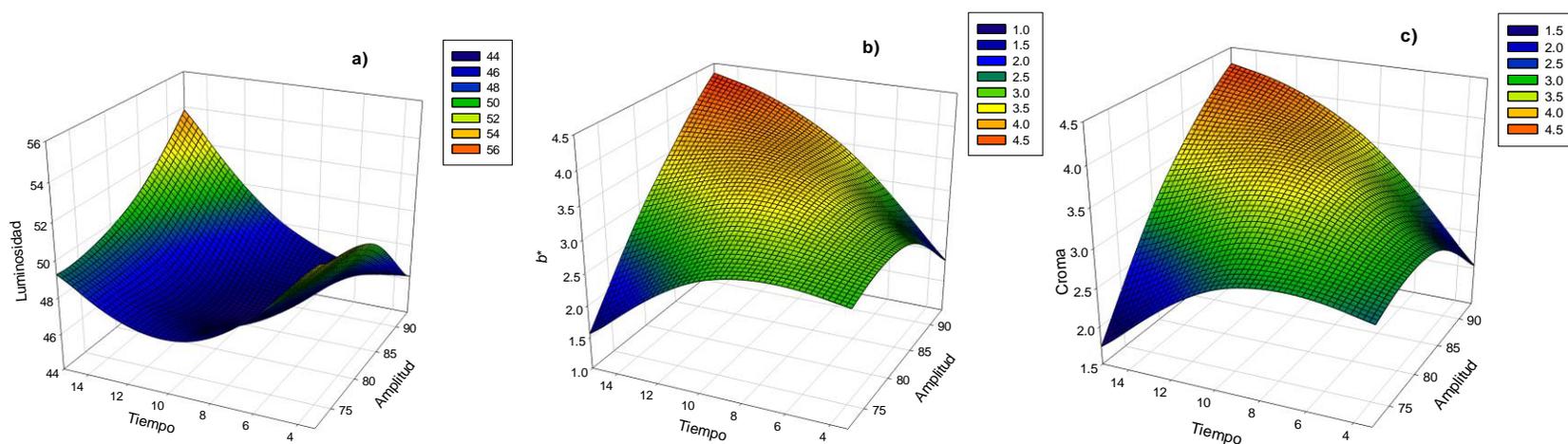


Figura 5. Efecto del termoultrasonido sobre luminosidad (a), b^* (b) y Croma (c) en el néctar de guanábana.

Para las coordenadas a^* y b^* , el control exhibió valores de -0.57 y 3.83, respectivamente, las muestras tratadas se encontraron en rangos de -1.03 a -0.07 y 2.38 a 3.99, respectivamente, ubicándose todas las muestras en el cuadrante verde-amarillo (figura 15). Esta tendencia es distinta a lo obtenido por Anaya-Esparza *et al.*, (2017a), en un néctar de guanábana termoultrasonificado, mostró menores valores para a^* y b^* (-1.52 y 0.59, respectivamente) con un mayor tono verde que la muestra tratada, en el control se hallaron valores de -0.68 y 1.31, respectivamente. La variable b^* de acuerdo al coeficiente de regresión (tabla 6), la interacción amplitud*tiempo (b_{12}) afectó de manera significativa ($p < 0.001$), se puede observar en la figura 5b, que a mayor amplitud y tiempo existe un aumento en el valor de b^* (amarillo). Tiwari *et al.*, (2009b) en un jugo de zarzamora sonicado, reportaron que la amplitud en su término lineal como en su término cuadrático tuvieron un efecto significativo ($p < 0.01$) para b^* .

Para croma (C^*), el néctar control tuvo un valor de 3.87, así como un rango de 2.52 a 4.01 en los TUS, el tratamiento 90/13.30 fue mayor al control, estos valores indican la saturación del color. La variable amplitud (b_1) como la interacción de amplitud*tiempo (b_{12}), influyeron significativamente ($p < 0.001$), no obstante, la variable tiempo en su término cuadrático (b_{22}) afectó significativamente ($p < 0.001$) (tabla 6). El efecto positivo de la amplitud e interacción amplitud*tiempo, muestran que a mayor amplitud y tiempo existe mayor cromaticidad, por otro lado el efecto negativo del tiempo en su término cuadrático, indica que ante un aumento significativo del tiempo se genera una reducción en la saturación del color, esto se muestra en la figura 5c. Resultados distintos fueron obtenidos por Tiwari *et al.*, (2008) en un jugo de naranja sonicado, reportando que la variable de amplitud en su término lineal tuvo un valor significativo de $p < 0.0001$, mostrando que a mayor amplitud genera una mayor saturación.

La coordenada h , el cual corresponde a la tonalidad de las muestras, el control obtuvo un valor de -81.59 y valores de -88.93 a -70.75 en los TUS (tabla 5), no obstante, los tratamientos 75/5.00, 82/3.15, 82/9.15 y 90/13.30 presentaron menores valores respecto al control. Su valor indica una tonalidad verde-amarillo en el néctar. Ramírez-Melo, (2020) en un jugo de betabel termoultrasonificado, obtuvo valores de 5.14 a 359.97 respecto al control (32.45).

8.3 Actividad enzimática

8.3.1 Actividad residual de pectinmetilesterasa (PME)

El valor obtenido en el control fue de 0.34 (100 %AR), se observa que los néctares TUS tuvieron una reducción de esta enzima con 0.22 a 0.33 UPME (64 al 97 %AR, respectivamente (tabla 7), los tratamientos con menor valor de UPME fueron 82/9.15 y 82/15. En un estudio en jugo de uva termoultrasonicado, lograron un 10 % de actividad residual de PME (Aadil *et al.*, 2015). Cervantes-Elizarrarás *et al.*, (2017), en un jugo de zarzamora termoultrasonicado, encontraron porcentajes de actividad residual de PME del 63 al 73 %.

Tabla 7. Efecto de la amplitud y tiempo del termoultrasonido sobre pectinmetilesterasa (PME).

| Tratamiento (%amplitud/min.seg) | Unidades enzimáticas (UPME) |
|--|--|
| Control | 0.34±0.02 |
| 90/5.00 | 0.29±0.02 |
| 72/9.15 | 0.27±0.02 |
| 82/3.15 | 0.33±0.00 |
| 82/9.15 | 0.28±0.02 |
| 82/9.15 | 0.29±0.02 |
| 82/15.00 | 0.22±0.01 |
| 90/13.30 | 0.29±0.02 |
| 75/5.00 | 0.28±0.02 |
| 82/9.15 | 0.22±0.02 |
| 93/9.15 | 0.23±0.01 |
| 82/9.15 | 0.24±0.01 |
| 82/9.15 | 0.27±0.02 |
| 75/13.30 | 0.25±0.01 |
| R² | 0.42 |

±: desviación estándar

La inactivación de PME no solo es atribuida a los radicales libres generados en durante la termoultrasonificación, también el daño mecánico es otro factor que desnaturaliza la enzima debido al colapso de las burbujas (Abid *et al.*, 2014), y fragmenta las moléculas de pectina coloidal en un menor tamaño (Cheng *et al.*, 2007), y Terefe *et al.*, (2009), mencionan que los radicales libres generados por una alta presión y temperatura del agua, pueden reaccionar con algunos aminoácidos implicados en la estabilidad enzimática y sus sustratos, alterando la función catalítica reduciendo su actividad biológica.

8.4 Contenido de antioxidantes

8.4.1 Contenido de fenoles totales (CFT)

La dieta rica en polifenoles está correlacionada con la disminución en el progreso de enfermedades neurodegenerativas como en algunos tipos de cáncer (Rodríguez-Roque *et al.*, 2015). Estos compuestos son los principales aportadores de propiedades antioxidantes, vinculadas a actividad antimutagénica como en la prevención en las enfermedades cardiovasculares (Pinheiro *et al.*, 2016). También se relacionan con efectos positivos en condiciones crónicas, como lo son la obesidad y diabetes (Dantas *et al.*, 2019). Por lo que el conocer el contenido de estos compuestos en el néctar ofrece datos sobre sus posibles beneficios que podría influir en la salud. En la tabla 8 se presentan los valores correspondientes sobre el contenido de fenoles totales (CFT), observando un aumento en los néctares TUS (30.12 a 43.45 mg EAG/100 mL) respecto a la muestra control (25.90 mg EAG/100 mL). Este parámetro obtuvo una R^2 de 0.95. De acuerdo al coeficiente de regresión (tabla 9), se observa que la variable tiempo en su término lineal (b_2) influyó significativamente a una $p < 0.0001$, presentando un aumento en el contenido fenólico a mayor tiempo de tratamiento, como se muestra en la figura 6. Resultado contrario al obtenido por Adiamo *et al.*, (2018) en un jugo de zanahoria termoultrasonificado, quienes observaron que el tiempo en su término lineal afectó significativamente ($p < 0.0001$), arrojando un menor contenido de fenoles, así como lo reportado por Ramírez-Melo, (2020), donde el término lineal de tiempo mostró reducir significativamente ($p < 0.001$) el contenido fenólico en un jugo de betabel termoultrasonificado.

Tabla 8. Efecto de la amplitud y tiempo del termoultrasonido sobre el contenido fenólico total y actividad antioxidante

| Tratamiento (%amplitud/min.seg) | *CFT (mg EAG/100 mL) | *ABTS (μ mol ET/100 mL) | *DPPH (μ mol ET/100 mL) | *FRAP (μ mol Fe (II)/100 mL) |
|---------------------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| Control | 25.90 \pm 0.13 | 33.36 \pm 0.28 | 90 \pm 0.85 | 1.83 \pm 0.03 |
| 90/5.00 | 30.12 \pm 1.13 | 36.42 \pm 1.82 | 42.89 \pm 2.22 | 2.19 \pm 0.03 |
| 72/9.15 | 31.23 \pm 3.58 | 29.01 \pm 0.16 | 103.00 \pm 4.99 | 2.54 \pm 0.03 |
| 82/3.15 | 30.54 \pm 0.50 | 30.49 \pm 2.33 | 31.41 \pm 1.16 | 2.13 \pm 0.00 |
| 82/9.15 | 39.3 \pm 1.73 | 32.32 \pm 0.35 | 121.22 \pm 6.11 | 3.10 \pm 0.02 |
| 82/9.15 | 39.53 \pm 1.41 | 30.44 \pm 0.14 | 126.96 \pm 6.09 | 3.12 \pm 0.06 |
| 82/15.00 | 43.45 \pm 1.94 | 38.08 \pm 0.73 | 43.81 \pm 1.95 | 3.43 \pm 0.07 |
| 90/13.30 | 38.71 \pm 1.72 | 38.82 \pm 0.85 | 94.37 \pm 9.33 | 3.59 \pm 0.06 |
| 75/5.00 | 32.34 \pm 2.21 | 24.56 \pm 1.97 | 113.65 \pm 2.43 | 2.74 \pm 0.02 |
| 82/9.15 | 37.97 \pm 0.34 | 31.94 \pm 0.38 | 141.50 \pm 0.83 | 3.30 \pm 0.05 |
| 93/9.15 | 30.71 \pm 1.91 | 41.69 \pm 2.27 | 103.44 \pm 5.00 | 2.59 \pm 0.10 |
| 82/9.15 | 35.99 \pm 0.77 | 28.82 \pm 1.12 | 124.69 \pm 6.25 | 2.77 \pm 0.14 |
| 82/9.15 | 39.23 \pm 1.43 | 32.90 \pm 0.42 | 106.73 \pm 8.70 | 3.05 \pm 0.04 |
| 75/13.30 | 37.82 \pm 4.24 | 34.94 \pm 1.85 | 79.74 \pm 1.70 | 2.92 \pm 0.04 |
| R² | 0.95 | 0.95 | 0.91 | 0.91 |

\pm : desviación estándar, *CFT: Contenido de fenoles totales, *ABTS: 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico), *DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, *FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power assay.

Tabla 9. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta del contenido fenólico total del néctar de guanábana termoultrasonicado

| Coeficiente | *CFT |
|------------------------------|--------------------|
| b_0 (intercepto) | 38.40 ^a |
| b_1 (amplitud) | -0.26 |
| b_2 (tiempo) | 4.04 ^a |
| b_{12} (amplitud*tiempo) | 0.78 |
| b_{11} (amplitud*amplitud) | -3.53 ^b |
| b_{22} (tiempo*tiempo) | -0.51 |

Niveles de significancia: ^a $p < 0.0001$; ^b $p < 0.001$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.05$

*CFT: Contenido de fenoles totales

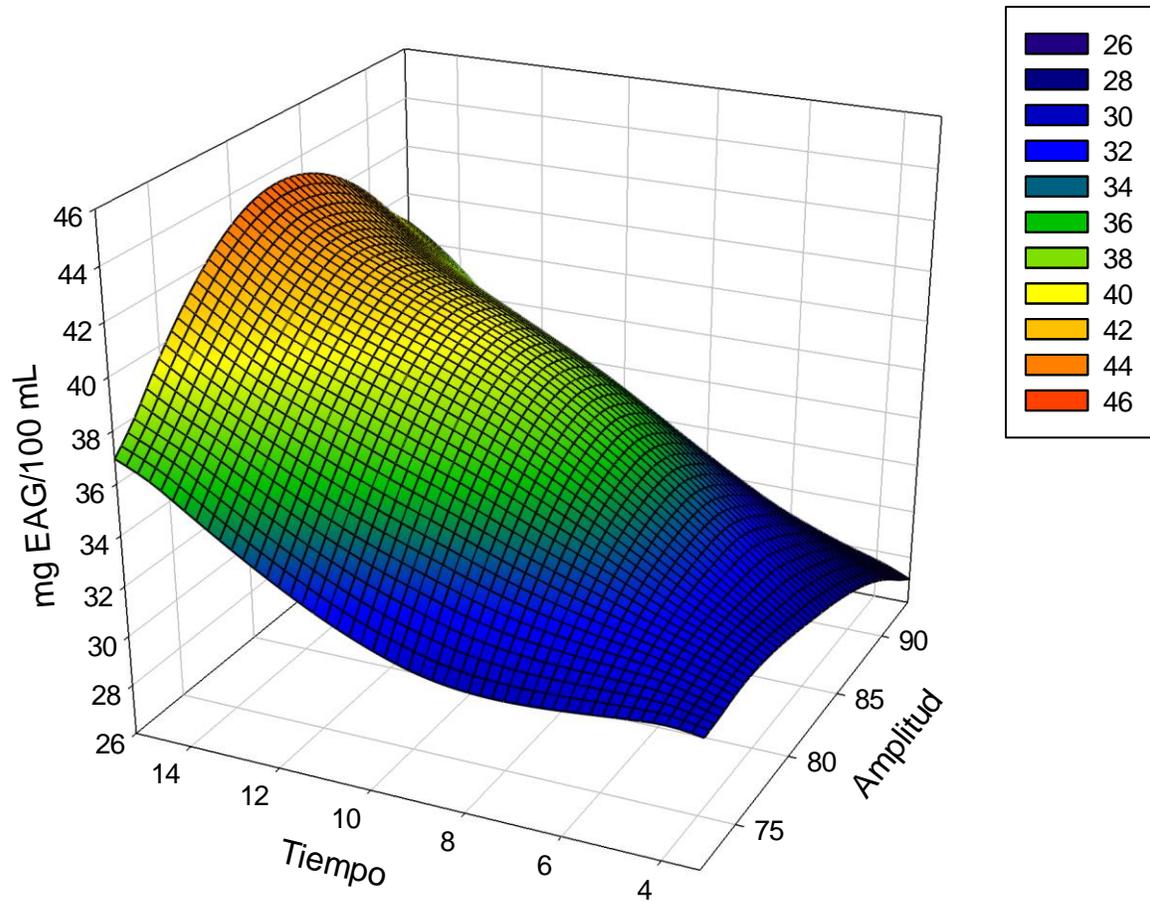


Figura 6. Efecto del termoultrasonido sobre el contenido fenólico total en el néctar de guanábana.

8.5 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se realizó por los métodos de ABTS, DPPH Y FRAP. En ABTS Y DPPH se busca la disminución del color de estos radicales sintéticos, por medio de la donación de átomos de hidrógeno como por transferencia de electrones, con lo que se evalúa la capacidad de atrapar radicales de las sustancias y compuestos en los alimentos (Cayupán *et al.*, 2011). Por otro lado, FRAP mide la capacidad de un antioxidante para reducir el complejo férrico-tripiridil-triazina (Fe^{3+} -TPTZ) a su forma ferrosa, el cual confiere un color azul, relacionado con antioxidantes presentes en el alimento (Gardner *et al.*, 2000).

8.5.1 Actividad antioxidante por ABTS•+

En la actividad antioxidante por ABTS, se obtuvieron valores de 33.36 $\mu\text{mol ET}/100$ mL en la muestra control y valores de 24.56 a 41.69 $\mu\text{mol ET}/100$ mL para las muestras tratadas (tabla 8). El tratamiento con menor amplitud y tiempo (75/5.00) fue el que presentó menor actividad antioxidante, mientras que el mayor valor, fue el tratamiento con mayor amplitud (93/9.15). Este parámetro obtuvo una R^2 de 0.95. Respecto al coeficiente de regresión (tabla 10), se observa que la variable amplitud en su término lineal (b_1) afectó significativamente con una $p < 0.0001$ y una $p < 0.001$ en el término lineal de tiempo (b_2), apreciándose en la figura 7, que tanto una mayor amplitud como un mayor tiempo de termoultrasonificación, producen un aumento en la actividad antioxidante. López-Martínez (2018), reportó en aguamiel tratada por termoultrasonido, reportó que el tiempo en su término lineal influyó de manera significativa ($p < 0.0001$), observando que, a mayor tiempo de tratamiento, se presenta una mayor captación del radical ABTS. Mientras que Cruz-Cansino *et al.*, (2016) en un jugo de tuna termoultrasonificado, observaron que el tiempo en su término lineal afectó negativamente ($p < 0.01$), indicando que a mayor tiempo de tratamiento menor actividad por ABTS.

Tabla 10. Coeficiente de regresión del modelo y significancia para las variables de respuesta de ABTS, DPPH y FRAP del néctar de guanábana termoultrasonicado

| Coeficiente | *ABTS | *DPPH | *FRAP |
|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| b_0 (intercepto) | 31.28 ^a | 124.22 ^a | 3.06 ^a |
| b_1 (amplitud) | 4.21 ^a | -6.94 | 0.02 |
| b_2 (tiempo) | 2.94 ^b | 4.39 | 0.43 ^b |
| b_{12} (amplitud*tiempo) | -2.00 ^d | 21.35 ^d | 0.31 ^c |
| b_{11} (amplitud*amplitud) | 1.75 ^d | -7.44 | -0.20 ^d |
| b_{22} (tiempo*tiempo) | 1.22 ^d | -40.25 ^a | -0.10 |

Niveles de significancia: ^a $p < 0.0001$; ^b $p < 0.001$; ^c $p < 0.01$; ^d $p < 0.05$, *ABTS: 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico), *DPPH: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil, *FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power assay.

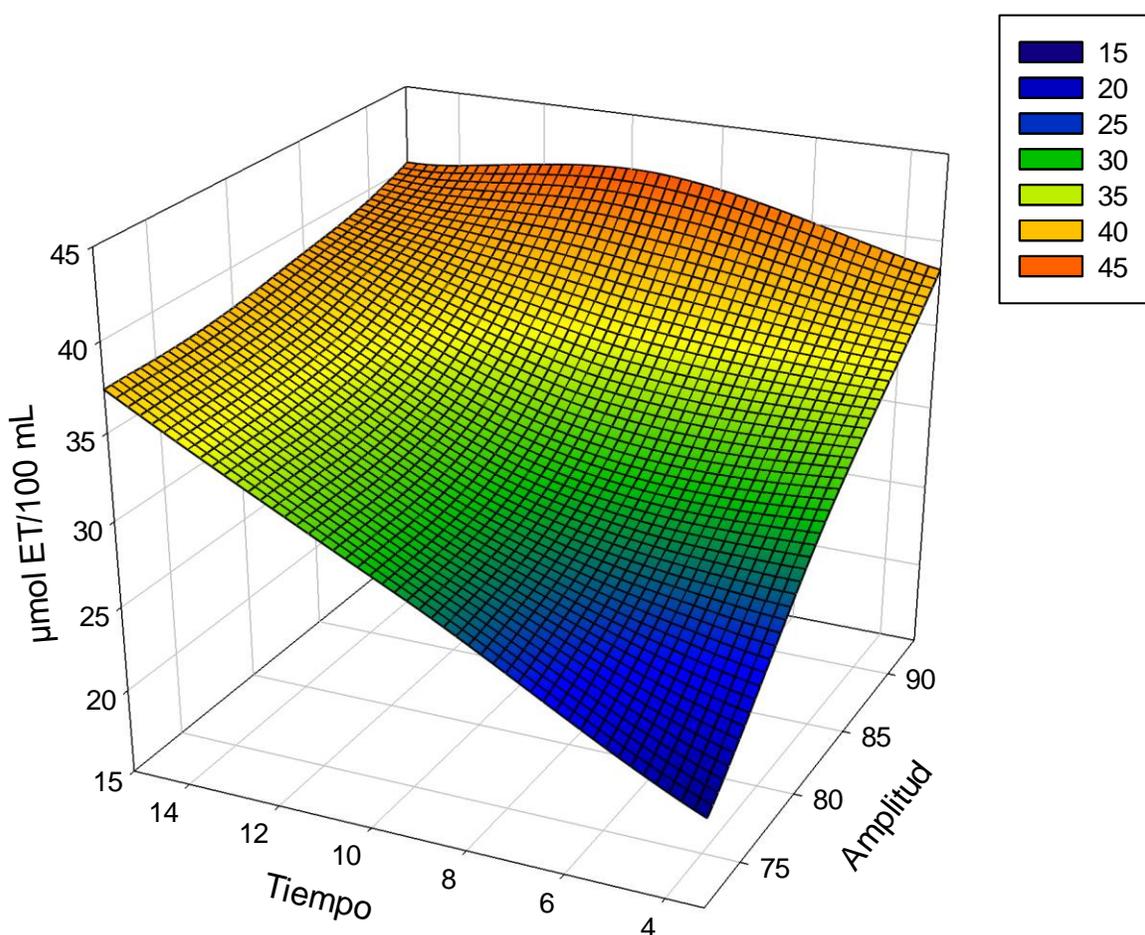


Figura 7. Efecto del termoultrasonido sobre actividad antioxidante por ABTS en el néctar de guanábana.

8.5.2 Actividad antioxidante por DPPH•

El radical DPPH se reduce rápidamente por transferencia de electrones, tal es el caso del ácido ascórbico y los fenoles simples (Salomone *et al.*, 2012), cuando la reacción es por transferencia de átomos de hidrógeno es menor (Martysiak-Żurowska & Wenta, 2012). Los resultados muestran valores de 90 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$ para el néctar control y un rango de 42.89 a 141.50 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$ en los néctares TUS, el mayor valor fue para la condición de 82/9.15, (tabla 8). Se encontró una R^2 de 0.91. En la tabla 10, niveles significativos de $p < 0.0001$ y $p < 0.05$, fueron encontradas para las variables de tiempo en su término cuadrático (b_{22}) e interacción de amplitud*tiempo (b_{12}), respectivamente, esto se muestra en la figura 8, donde se puede apreciar que al incrementar el tiempo en el TUS ocasiona una menor actividad por DPPH y la combinación de amplitud con el tiempo genera una mayor inhibición del radical DPPH. Este comportamiento también se expresó en un jugo de betabel termoultrasonificado en el término cuadrático de tiempo ($p < 0.05$), reduciendo los valores de DPPH ante el aumento prolongado del tiempo de termoultrasonido (Ramírez-Melo, 2020). En un jugo de zarzamora termoultrasonificado, la interacción de temperatura y amplitud afectó de manera significativa ($p < 0.0001$), por lo que, a mayor temperatura y amplitud, se redujo la actividad antioxidante por DPPH (Cervantes-Elizarrarás *et al.*, 2017).

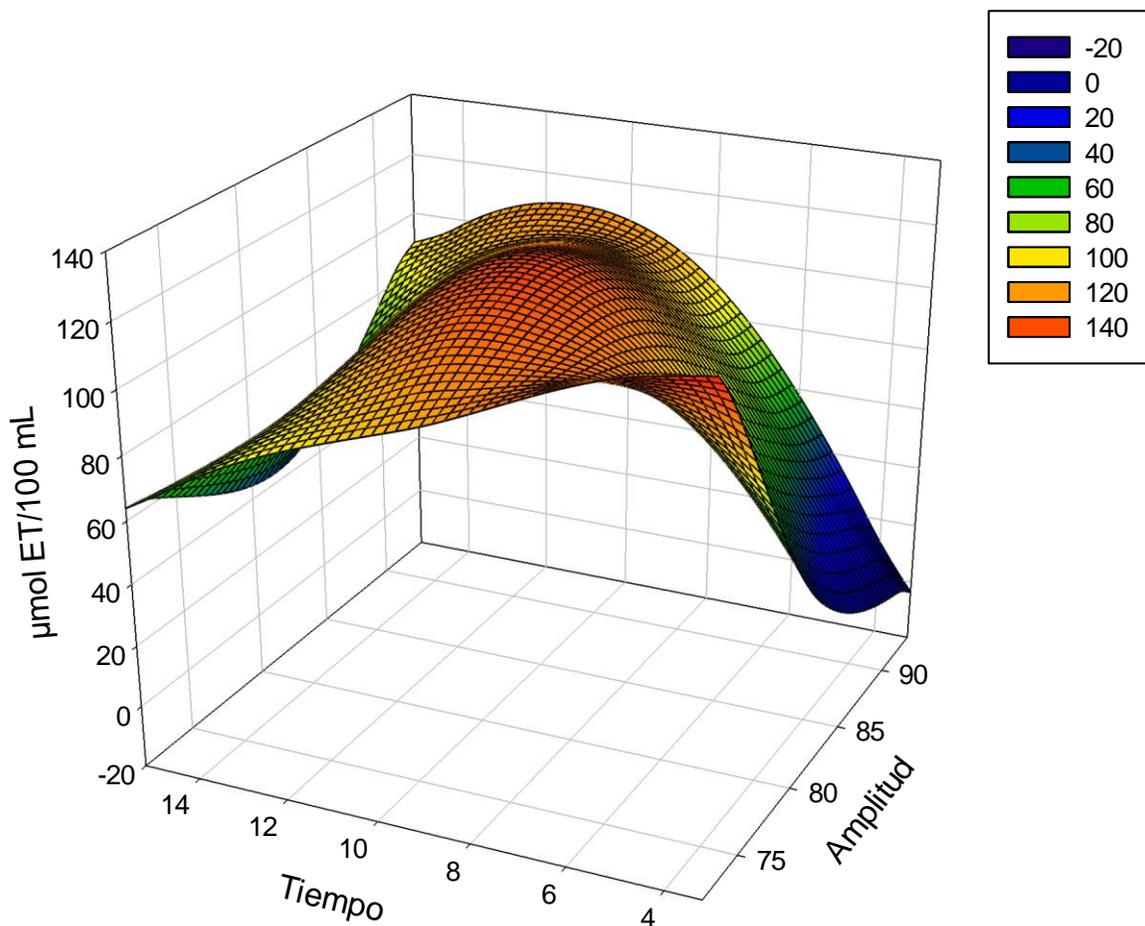


Figura 8. Efecto del termoultrasonido sobre actividad antioxidante por DPPH en el néctar de guanábana.

8.5.3 Actividad antioxidante por FRAP

La metodología de FRAP, mide la capacidad de los antioxidantes en reducir el hierro férrico (Fe^{3+}) a hierro ferroso (Fe^{2+}) (Floegel *et al.*, 2011). Öztaşkın *et al.*, 2015, mencionan que los compuestos que tienen la capacidad de reducir el complejo férrico también presentan actividad antioxidante. Por ello el poder reductor de los compuestos a analizar, brinda información relevante sobre su actividad antioxidante (Huyut *et al.*, 2017).

La muestra control presentó 1.83 $\mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ mL}$, en las muestras termoultrasonificadas se obtuvo un aumento (2.13 a 3.59 $\mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ mL}$) respecto al control. Los valores obtenidos se presentan en la tabla 8. El valor máximo para FRAP, corresponde al tratamiento con mayor tiempo y amplitud (90/13.30), mientras que el tratamiento con menor tiempo (82/3.15) arrojó el menor valor. Esta variable de respuesta mostró una R^2 de 0.91, por lo tanto, se ajustó al modelo matemático.

En la tabla 10, se observa el coeficiente de regresión para FRAP y las variables de tiempo en su término lineal (b_2), como la interacción de amplitud*tiempo (b_{12}) impactaron de manera significativa ($p < 0.001$, $p < 0.01$, respectivamente). En la figura 9, se puede observar que el aumento prolongado del tiempo, al igual que la interacción de éste con la amplitud causó una mayor reducción de hierro férrico (Fe^{3+}). Otro resultado se mostró en un jugo de betabel tratado por termoultrasonido, siendo la amplitud y tiempo en su término lineal los que influyeron significativamente ($p < 0.01$), indicando que a mayor amplitud y tiempo de tratamiento se genera un aumento en la actividad antioxidante por FRAP (Ramírez-Melo, 2020). Resultados contrarios fueron reportados por Hernández-Traspeña, (2020), en un estudio sobre extracción de compuestos antioxidantes de un residuo de betabel asistido por ultrasonido, encontrando que la amplitud y tiempo en su término lineal afectaron de manera significativa ($p < 0.0001$) la reducción de Fe^{3+} , manifestando que, a mayor amplitud y tiempo de ultrasonido, fue menor la actividad reductora por FRAP.

Los diferencia de los resultados, como los comportamientos reportados en ABTS, DPPH y FRAP del presente trabajo con otros estudios, se pueden deber a los diversos contenidos antioxidantes, como los fenoles ya que, son los principales compuestos que brindan la actividad antioxidante en las matrices (Bensadón *et al.*, 2010; Hidalgo *et al.*, 2010), así como la intensidad del tratamiento aplicado (Rodríguez-Roque *et al.*, 2015), duración y naturaleza del alimento, debido que los compuestos como su actividad dependen de estos factores (Chandrasekara & Shahidi, 2012).

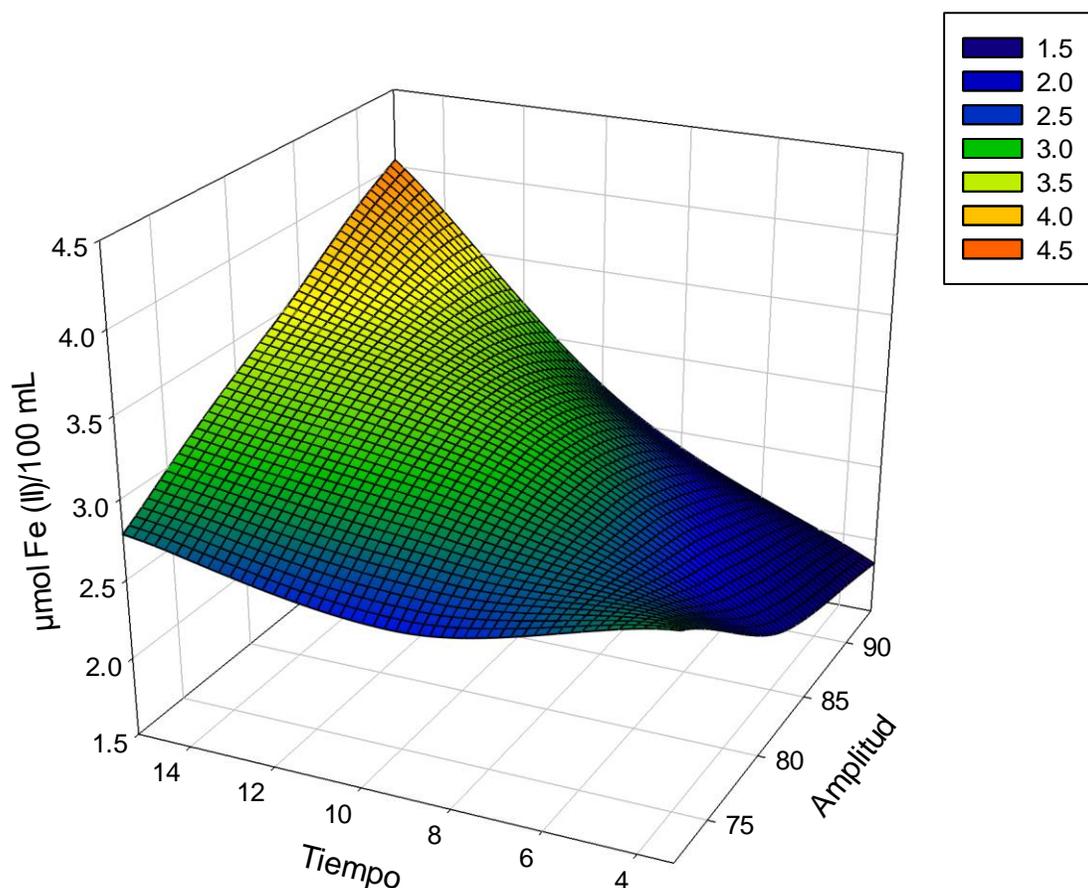


Figura 9. Efecto del termoultrasonido sobre actividad antioxidante por FRAP en el néctar de guanábana.

8.6 Optimización del proceso de termoultrasonido del néctar de guanábana

El programa JMP da valores predichos de las variables de respuesta proporcionando la condición óptima del proceso de termoultrasonido, el cual expuso el tratamiento de 82/9.15, así como los valores que fueron para color en L^* de 45.48, b^* de 3.55, Croma con 3.62, contenido fenólico total con 38.40 mg EAG/100 mL, actividad antioxidante por ABTS de 31.28 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$, en DPPH de 124.22 $\mu\text{mol ET}/100\text{ mL}$ y FRAP con 3.06 $\mu\text{mol Fe (II)}/100\text{ mL}$. De acuerdo a los valores que obtuvieron los 13 tratamientos, por medio del programa SigmaPlot se elaboraron figuras de contorno, estos se traslaparon para ilustrar la condición óptima, como que se observa en la figura 10.

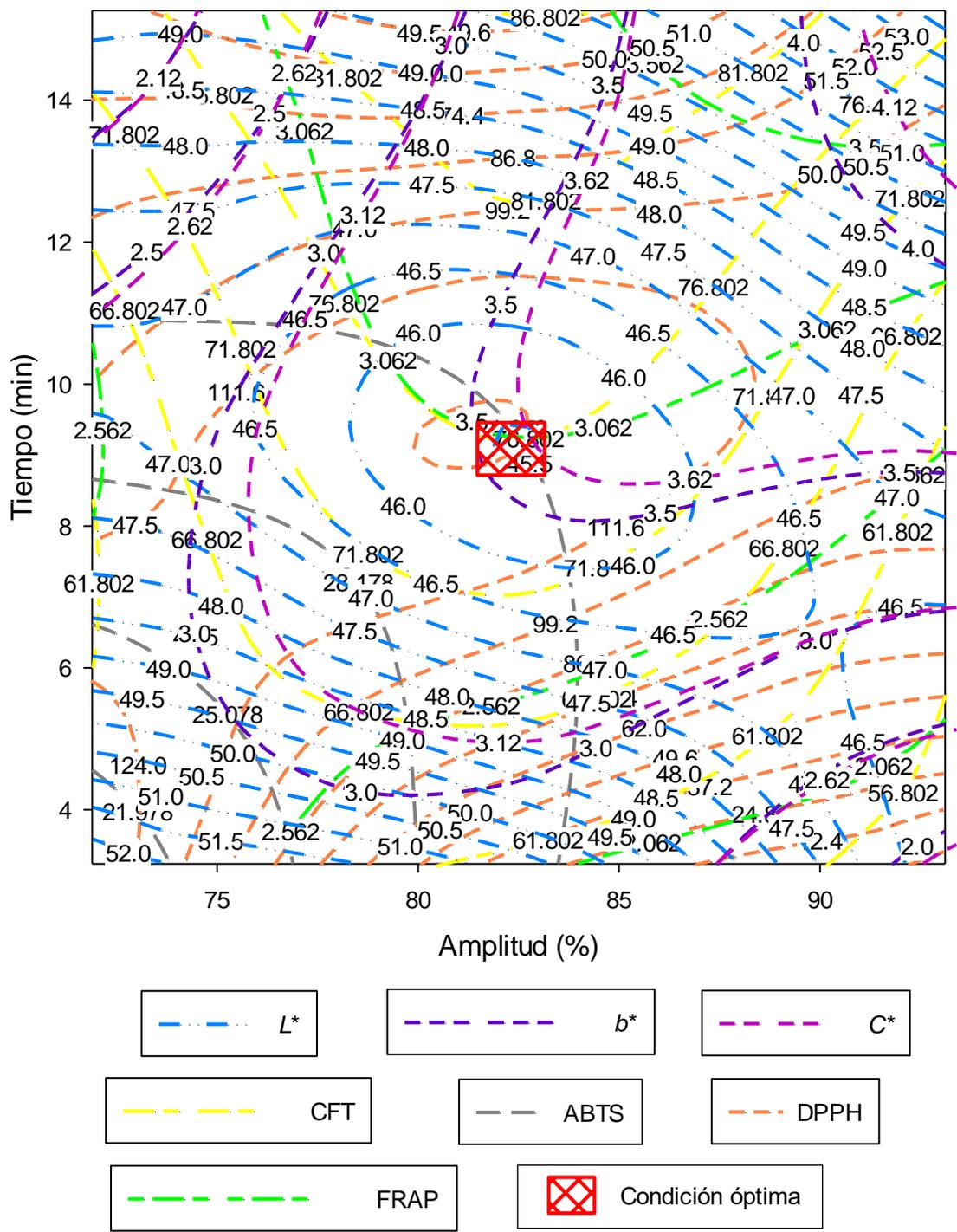


Figura 10. Trasape de figuras de contorno de las variables de respuesta en la optimización por termoultrasonido del néctar de guanábana.

8.7 Reproducibilidad del estudio

Para conocer si el proceso óptimo de termoultrasonido es reproducible, se realizó el tratamiento óptimo (82/9.15) por triplicado, se determinaron las variables de respuesta que se ajustaron al modelo matemático y se compararon con los valores predichos. En la tabla 11, se reportan los valores predichos obtenidos por el modelo de superficie de respuesta (RSM), así como los obtenidos por el análisis experimental (condición óptima de proceso de termoultrasonido). Se puede apreciar que las determinaciones L^* , b^* , DPPH y FRAP, no mostraron diferencias significativas ($p>0.05$), lo que indica que, es posible reproducir esta condición óptima de termoultrasonido, mientras que cromas, contenido fenólico total y ABTS, arrojaron diferencias significativas ($p<0.05$).

Tabla 11. Reproducibilidad del modelo de superficie de respuesta

| Determinaciones | Valor predicho | Valor experimental |
|---|----------------|--------------------|
| L^* | 45.48±0.74 | 45.56±0.29 |
| b^* | 3.55±0.17 | 3.68±0.35 |
| C^* | 3.62±0.14 | 3.36±0.17* |
| Contenido Fenólico Total (mg EAG/100 mL) | 38.40±1.39 | 26.63±0.92* |
| ABTS (µmol ET/100 mL) | 31.28±1.52 | 22.03±2.24* |
| DPPH (µmol ET/100 mL) | 124.22±14.54 | 129.21±8.94 |
| FRAP (µmol Fe (II)/100 mL) | 3.06±0.18 | 3.10±0.09 |

*Indica diferencia significativa $p<0.05$

8.8 Comparación del néctar de guanábana optimizado con pasteurización.

Para esta fase, se determinó microestructura a fin de conocer el efecto del termoultrasonido optimizado en el néctar optimizado, el contenido de fibra dietética, también se determinó calidad microbiológica (mesófilos aerobios y enterobacterias), viscosidad, estabilidad, color L^* , a^* , b^* , cromas (C), hue ($^{\circ}h$) y diferencia total de color (ΔE), actividad enzimática (pectinmetilesterasa), debido a que son indicadores de inocuidad, aceptabilidad y calidad en néctar en el mercado. Y se realizaron los parámetros que se ajustaron al modelo matemático, los cuales fueron: L^* , b^* , cromas, así como contenido y actividad antioxidante (CFT, ABTS, DPPH y FRAP), así mismo, se determinó su bioaccesibilidad *in vitro*, en los tratamientos optimizado, control y pasteurizado.

8.8.1 Efecto del termoultrasonido sobre la microestructura del néctar de guanábana por medio de microscopía electrónica de barrido (MEB).

Las imágenes obtenidas a través de la MEB de néctares de guanaba liofilizados se presentan en la figura 11, a niveles de magnificación de 250x y 500x del néctar de guanábana control (Figura 11a-b), termoultrasonificado optimizado (Figura 11c-d) y pasteurizado (Figura 11e-f). En todas las muestras se exhiben estructuras conformadas posiblemente sean celulosa, almidones y fibras, básicamente. En el caso del control se aprecian lo que podría ser inulina como partículas esféricas unidas y en forma de cristales (Figura 11a-b), también, presenta regularidad en su composición, en la muestra pasteurizada (Figura 11-d) se visualiza una mayor uniformidad en su estructura, no obstante, solo se observan pocos cristales de inulina. En la muestra optimizada (Figura 11e-f) se identifica un mayor número de pequeños cristales de inulina a diferencia de las demás muestras, asimismo, se exponen daños y rupturas celulares, mostrando un mayor grado de irregularidad en sus membranas.

Los cristales pudieran generarse ante el proceso de liofilización. Ya que a bajas temperaturas las moléculas de inulina disueltas se cristalizan selectivamente entre ellas, además se forman grupos de distinta naturaleza, atraídos por fuerzas de Van der Waals (Kim *et al.*, 2001). Por otro lado, una mayor aplicación de temperatura ocasiona una mayor solubilidad de la inulina por lo que, el grado de cristalización se ve disminuido (Beccard *et al.*, 2019), como lo visto en el tratamiento térmico. Las deformaciones en la muestra TUS se deben a la creación de microcanales celulares por expansión y contracción de los tejidos celulares a causa del ultrasonido, ocasionando canales microscópicos (Magalhães *et al.*, 2017; Puig *et al.*, 2012). Las rupturas celulares como cambios en la textura por el uso de ultrasonido podrían resultar en cambios de luz y reflejos de la superficie, generando diferencias en el color (Zhang *et al.*, 2020). Esto se observa más adelante en el apartado de color. Otro de los efectos producidos por la disrupción celular es la liberación de componentes celulares que ocasionan cambios en la viscosidad de la matriz alimentaria (Rojas *et al.*, 2016), tal como se observa en el apartado de viscosidad. También se presenta extracción de compuestos fenólicos y aumento de la actividad antioxidante (Nguyen *et al.*, 2013). Sin embargo, se ha visto que el ultrasonido puede degradar compuestos

antioxidantes como el ácido ascórbico y pigmentos naturales (Rajewska & Mierzwa *et al.*, 2017).

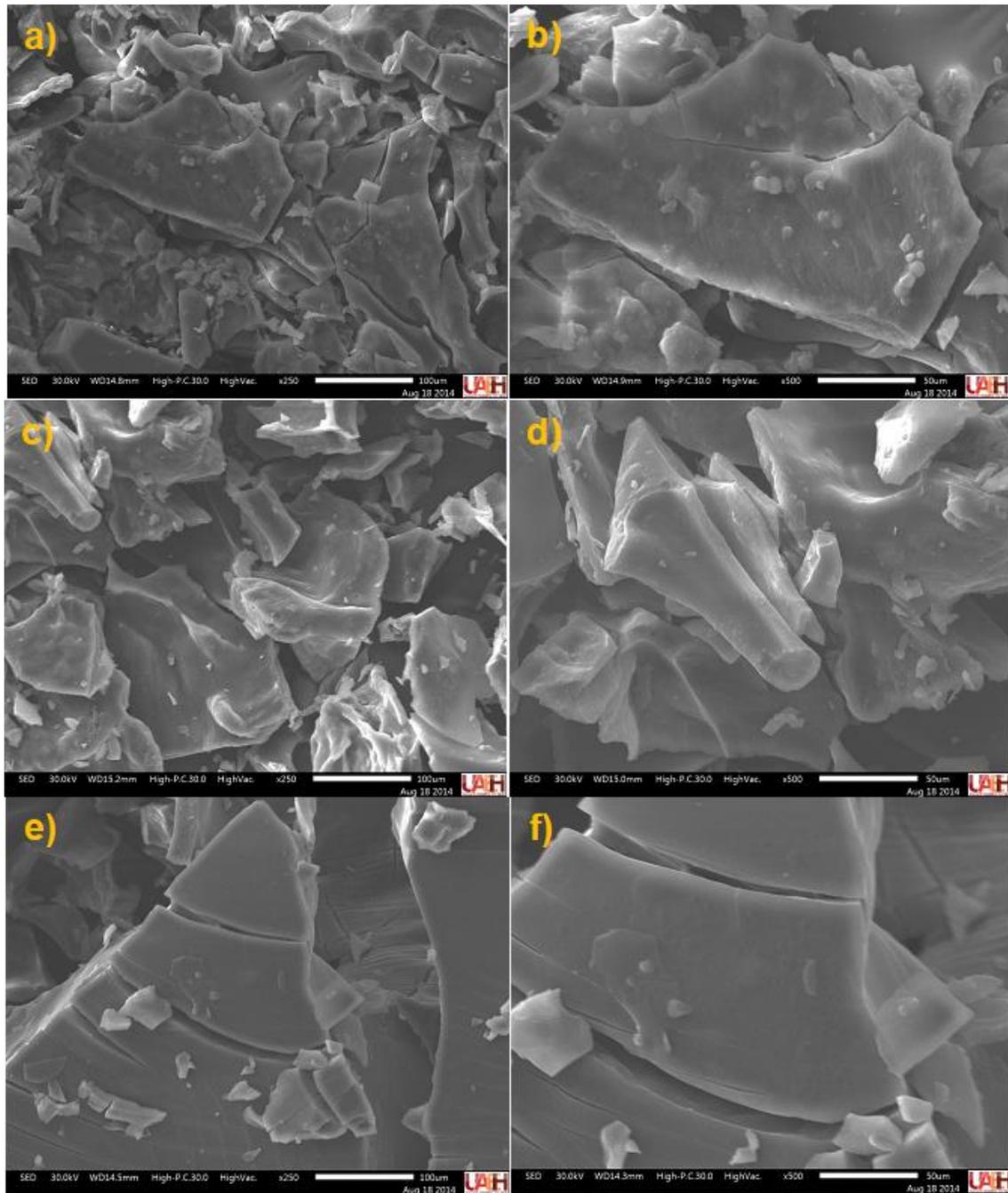


Figura 11. Microscopía electrónica de barrido de néctar de guanábana liofilizado. a) Control 250x, b) Control 500x, c) Optimizado TUS (82/9.15) 250x, d) Optimizado TUS (82/9.15) 500x, e) Pasteurizado (65°C/30min) 250x, f) Pasteurizado (65°C/30min) 500x.

8.8.2 Contenido de fibra dietética

La fibra dietética total puede ser clasificada y etiquetada comúnmente por el tipo de solubilidad, como los efectos fisiológicos que presenta (Slavin, 2008; Slavin, 2013) siendo soluble e insoluble (Slavin, 2013). Su ingesta es crucial para prevenir enfermedades no transmisibles (Dahl & Stewart, 2015). En la tabla 12, se muestran los datos obtenidos para fibra dietética, tanto en néctar control como la TUS fueron significativamente mayores ($p < 0.05$) en el contenido de fibra total (3.58 % y 3.53 %, respectivamente), comparado con el pasteurizado (3.12 %). En fibra soluble. El TUS presentó fibra soluble de 3.32 %, siendo más ($p < 0.05$) que el control (3.27 %), seguido del pasteurizado (2.94 %). El contenido de fibra insoluble fue alto en la muestra control con un valor de 0.31 % ($p < 0.05$) a diferencia de la muestra optimizada y pasteurizada, los cuales fueron similares ($p > 0.05$). Estos néctares pueden ser considerados como fuente de fibra, ya que una porción de 100 mL, estaría aportando de 3.12 a 3.58 g / 100 mL de FDT, cumpliendo con la alegación de buena fuente, la cual es de 2.5 g de fibra dietética por porción (Anderson *et al.*, 2010; Slavin, 2013).

Tabla 12. Porcentajes del contenido de fibra dietética en néctar de guanábana

| Tratamientos | FDT (%) | FDS (%) | FDI (%) |
|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Control | 3.58±.01 ^a | 3.27±.01 ^b | 0.31±.03 ^a |
| Optimizado (82/9.15) | 3.53±.05 ^a | 3.32±.02 ^a | 0.22±.06 ^b |
| Pasteurizado (65°C/30min) | 3.12±.02 ^b | 2.94±.03 ^c | 0.19±.02 ^b |

FDT: fibra dietética total, FDS: fibra dietética soluble, FDI: fibra dietética insoluble, \pm : desviación estándar, ^{a-c} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

Los valores obtenidos en los néctares control, optimizado y pasteurizado para fibra total y soluble fueron mayores que lo reportado por Anaya-Esparza *et al.*, (2018) con un 0.52 % para fibra total y 0.18 % de fibra soluble en el control, en el tratamiento termoultrasonificado porcentajes de 0.59 % y 0.23 % para FDT y FDS respectivamente y en la muestra pasteurizada porcentajes de 0.53 % (FDT) y 0.27 % (FDS), sin embargo, los valores para fibra dietética insoluble en el control (0.34 %), termoultrasonificada (0.32 %) y pasteurizado (0.30 %), fueron mayores que en los tratamientos del presente estudio.

Las diferencias entre ambos estudios, puede deberse a la adición del 6 % de inulina en el presente trabajo. Se ha reportado que el añadir inulina incrementa el contenido de fibra soluble, como fue el caso de una bebida fermentada de leche de soya, la cual mostró un incremento del 1.92 %, tras añadir 3.5 % de inulina para su fermentación (dos Santos *et al.*, 2019). El incremento de la fibra soluble en la muestra TUS, referente al control y pasteurizado puede ser a causa del termoultrasonido ya que, la energía acústica y térmica en conjunto, rompen las membranas vegetales (Bagherian *et al.*, 2011; Jovanovic *et al.*, 2017), con lo que incrementa la solubilidad en las estructuras fibrosas (Li *et al.*, 2014). Las reducciones de fibra dietética total y soluble en el tratamiento pasteurizado, quizás se deban por la pérdida de inulina ante la aplicación de calor, generando hidrólisis en el fructooligosacárido (Kim *et al.*, 2001; Gilbowski & Wasko, 2008), ya que durante el calentamiento se pueden romper las cadenas de polisacáridos como enlaces glucosídicos, causando una despolimerización de la fibra dietética, aumentando así el grado de solubilización (Margareta & Nyman, 2003; Căpriță *et al.*, 2011).

8.8.3 Microbiología

Los frutos como guanábana, mango, piña, entre otros frutos, muestran un alto contenido de agua, vitamina C, y azúcar debido a su gran contenido de pulpa, por lo que presentan un alto grado de perecibilidad, lo que conlleva al desarrollo de procesos tecnológicos de conservación (Oluwole *et al.*, 2016). Donde la inocuidad, como inactivación de microorganismos en el procesamiento, es una de las tareas más importantes en la industria, teniendo como objetivo una mayor seguridad alimentaria y el de extender la vida útil del alimento (Paniwnyk, 2017).

En la figura 12, se muestran los resultados de los procesos de termoultrasonido y pasteurización, referente a la calidad microbiológica con respecto a mesófilos aerobios (MA) y enterobacterias (EB). La muestra pasteurizada y la termoultrasonificada optimizada presentaron una total inactivación para mesófilos aerobios, mientras que el néctar control mostró 3.65 ± 0.06 Log UFC/mL para MA y 3.72 ± 0.06 Log UFC/mL para EB. Resultados similares se observan en un néctar de guanábana termoultrasonificado a 87.5% de amplitud, durante 10 min, quienes reportaron una total

inactivación de estos microorganismos (Anaya-Esparza *et al.*, 2017a). En un jugo de tuna púrpura termoultrasonificado a 80%/15 min, obtuvo un valor de 1.38 Log UFC/mL para MA y nula carga de EB, mientras que en el tratamiento pasteurizado fueron valores de 2.45 Log UFC/mL en MA y 0.84 Log UFC/mL en EB, respectivamente y valores de 3.20 y 1.61 Log UFC/mL, respectivamente, en el control (Cruz-Cansino *et al.*, 2015).

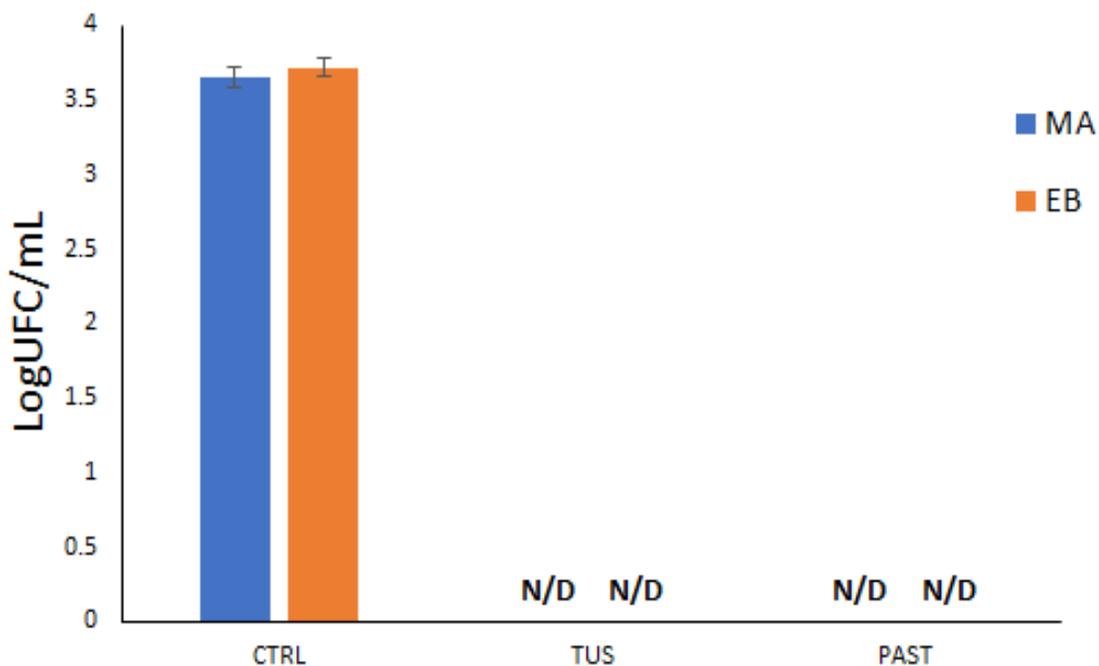


Figura 12. Análisis microbiológico en néctar de guanábana. MA: mesófilos aerobios; EB: enterobacterias; CTRL: control; TUS: termoultrasonificado óptimo (82/9.15); PAST: pasteurizado (65°C/30min). N/D: no detectado.

Los valores obtenidos en el presente trabajo para el recuento de MA, incluso la muestra control, cumplen con los límites establecidos por la norma mexicana para el envasado y tratamiento térmico de alimentos, siendo <3.7 Log UFC/mL para néctares pasteurizados (NOM-130-SSA1, 1995). Por parte del CFS (Centre for Food Safety, 2014), los valores obtenidos pueden ser categorizados como buenos en calidad microbiológica, ya que, cumplen la categoría de “satisfactorio”, sí presenta valores menores de 5.7 Log UFC/mL en conteo de bacterias aeróbicas totales y <3.7 Log UFC/mL para enterobacterias. La inactivación de los microorganismos en el néctar pasteurizado se debe a que este tratamiento afecta la estabilidad de la membrana

celular a causa de una transición de fosfolípidos, reduciendo el grosor de la bicapa fosfolipídica, aumentando la permeabilidad de las bacterias, con una consecuente reducción microbiana (Heinz *et al.*, 2003). Mientras en el néctar TUS optimizado, las ondas acústicas aplicadas durante el ultrasonido, generan cambios de presión y burbujas de gas asociados a la compresión y depresión de partículas del medio, creando el proceso de la cavitación, generando daños a la membrana (Mason *et al.*, 2005). Otro factor importante que se crea por los puntos calientes microscópicos de 5000°C y presiones de 50,000 kPa (Tiwari *et al.*, 2009c), es la sonólisis, originada por la interacción de estos factores con el medio acuoso (Terefe *et al.*, 2009), producto de este proceso son los radicales libres (OH^- , H_2O_2 y H^+), que contribuyen al daño químico en las bacterias (Anaya-Esparza *et al.*, 2017a). Por otro lado la implosión de las burbujas genera una fuerza de corte que puede romper moléculas poliméricas (Vercet *et al.*, 1999). Cada uno de estos factores contribuye al daño tanto físico como químico en los microorganismos. El empleo de tecnologías no térmicas como la alta presión, pulsos eléctricos, radiación, ultrasonido y termoultrasonificación, es una opción ante la pasteurización ya que logra la conservación de los alimentos sin afectar sus propiedades fisicoquímicas (Roobab *et al.*, 2018).

8.8.4 Viscosidad y Estabilidad

Los resultados obtenidos tanto para viscosidad (cP) como para estabilidad (%) se aprecian en las Figuras 13 y 14, respectivamente. El néctar pasteurizado mostró mayor viscosidad significativamente ($p < 0.05$) con 274.44 ± 32.75 cP, seguido por el termoultrasonificado optimizado (186.89 ± 10.54 cP) mientras que el néctar control presentó la menor viscosidad (151.56 ± 11.61 cP). Un jugo de zanahoria termoultrasonificado con pulpa de naranja, mostró similar comportamiento, con el mayor valor en la muestra pasteurizada, seguido del tratamiento termoultrasonificado optimizado, ambos, mayores que el control (Adiamo *et al.*, 2017). Resultado distinto fue obtenido en un jugo de tuna púrpura termoultrasonificado (80%/15min y 80%/25min), donde obtuvieron menos viscosidad (6.72 y 6.83 cP, respectivamente), que la muestra pasteurizada (35.35 cP) y no tratada (38.58 cP) (Cruz-Cansino *et al.*, 2015). Posiblemente el aumento de los valores en el tratamiento térmico, son a causa del efecto de la temperatura sobre la pectina y otros sólidos del medio, incrementando

el grado de solubilidad de estos, lo que provoca una mayor viscosidad (Martínez-Flores *et al.*, 2015). Los resultados en el tratamiento con termoultrasonido comparado con el control, pueden deberse a la reducción del tamaño de partícula por el efecto disruptor del ultrasonido, donde las interacciones entre las partículas pequeñas dan como resultado un aumento de la viscosidad (Wu *et al.*, 2008). Por otro lado, Seshadri *et al.*, 2003) indican que la viscosidad puede aumentar como disminuir dependiendo de la intensidad de amplitud del tratamiento, al igual que puede ser temporal o permanente.

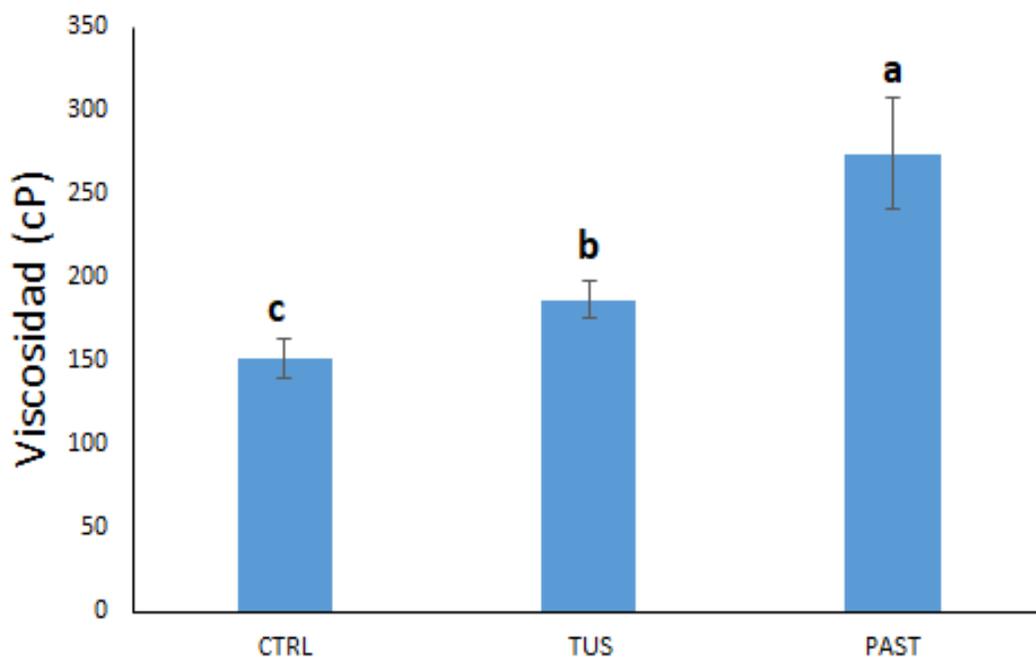


Figura 13. Viscosidad de néctar de guanábana. CTRL: control; TUS: termoultrasonido óptimo (82/9.15); PAST: pasteurizado (65°C/30min). a-c Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

Con respecto a estabilidad, el néctar no tratado como el termoultrasonido optimizado presentaron valores similares ($p > 0.05$) con 55.09 ± 2.87 % y 54.68 ± 1.35 %, respectivamente, siendo la muestra pasteurizada la que obtuvo mayor ($p < 0.05$) estabilidad (67.37 ± 1.15 %). Diferentes resultados fueron reportados por Hernández-Falcón *et al.*, (2018), con mayor estabilidad en leche termoultrasonificada (95%/15min) no homogeneizada, seguido de la muestra pasteurizada y control. De mismo modo,

López-Martínez, (2018) observó mayor estabilidad en agua miel termoultrasonificada que en los demás tratamientos.

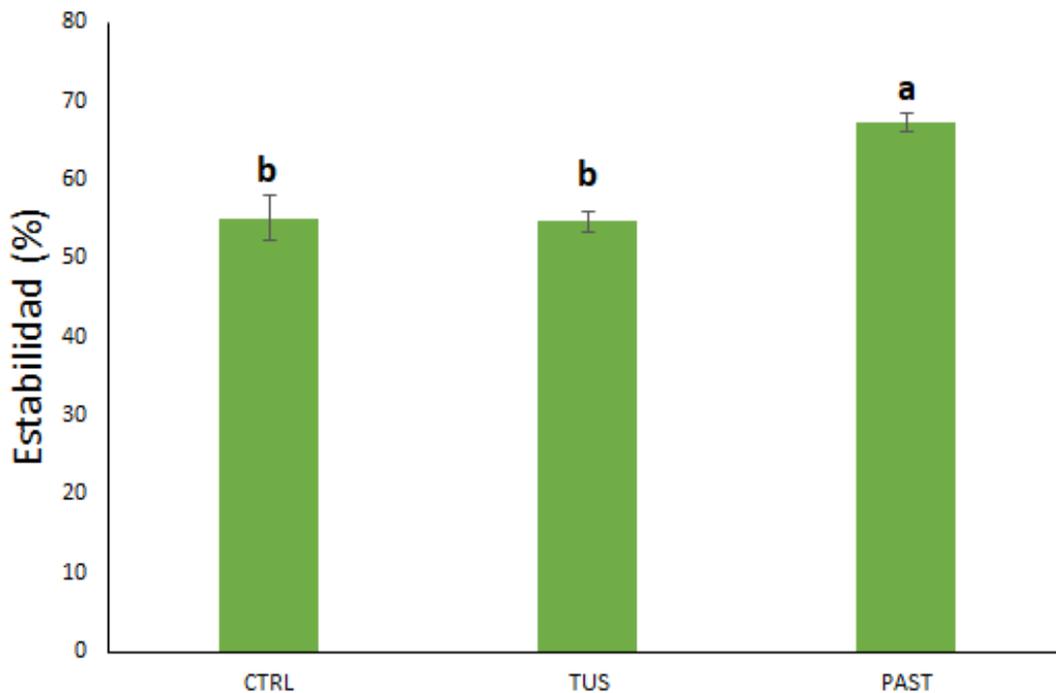


Figura 14. Estabilidad en néctar de guanábana. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado óptimo (82%/9.15min); PAST: pasteurizado (65°C/30min). a-b Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras

A pesar de que la viscosidad y la estabilidad son proporcionales, los resultados de estabilidad en la muestra termoultrasonificada difiere a su comportamiento presentado en viscosidad, lo cual podría deberse a lo mencionado por Bayod & Tornberg, (2011), quienes explican que el ultrasonido conlleva a la liberación de material intracelular, reduciendo el tamaño de las moléculas presentes, creando un sistema coloidal (con mayor viscosidad). No obstante, se puede dar un incremento en las interacciones entre las partículas reducidas, siendo del tipo de Van der Waals o fuerzas de repulsión electrostáticas (Genovese *et al.*, 2007). Por lo que, sí hay un aumento de fuerzas de atracción se forman agregados que se precipitan (Rojas *et al.*, 2016), ocasionando una baja estabilidad.

8.8.5 Color

El color es una característica importante en la calidad de los jugos por su atractivo visual (Tiwari *et al.*, 2010), ya que es un factor relevante para la aceptación sensorial en los consumidores (Aadil *et al.*, 2013). Los valores de las diferentes coordenadas de color (L^* , a^* y b^*), C^* y $^{\circ}h$, así como diferencia de color (ΔE) se presentan la tabla 13. Para luminosidad (L^*), el néctar termoultrasonificado optimizado tuvo el valor más alto (45.56) ($p < 0.05$) que en las otras muestras. Anaya-Esparza *et al.*, (2017a) en un néctar de guanábana termoultrasonificado, obtuvieron valores de L^* , de 45.9 en el néctar TUS (70 %/10min), 42.4 en el control y 44.0 en el tratamiento pasteurizado. Una explicación para el aumento de L^* en el néctar optimizado del presente trabajo, se debe al incremento de refracción a causa de la homogeneización, donde la sonicación genera este fenómeno a través de la suspensión de partículas pequeñas de pectina, celulosa, hemicelulosa, proteínas y lípidos (Tiwari *et al.*, 2008).

Tabla 13. Características colorimétricas en muestras de néctar de guanábana

| Coordenadas | Muestras | | |
|------------------|--------------------------|--------------------------|----------------------------|
| | Control | Optimizado 82/9.15 | Pasteurizado 65°C/30min |
| L^* | 40.45±0.35 ^c | 45.56±0.30 ^a | 42.57±0.28 ^b |
| a^* | -1.24±0.06 ^a | -1.58±0.04 ^c | -1.39±0.06 ^b |
| b^* | 5.32±0.19 ^a | 3.68±0.36 ^c | 4.25±0.02 ^b |
| C^* | 5.29±0.20 ^a | 3.37±0.17 ^c | 4.47±0.02 ^b |
| $^{\circ}h$ | -75.63±0.74 ^c | -56.49±0.88 ^a | -71.54±0.37 ^b |
| ΔE Ctrl. | - | 5.39±0.32 | 2.38±0.26 |
| ΔE Past. | 2.38±0.39 | 3.07±0.31 | - |

L^* : luminosidad; a^* : rojo-verde; b^* : amarillo-azul; C^* : Croma; $^{\circ}h$: Hue; ΔE Ctrl.: diferencia total de color referente al control; ΔE Past.: diferencia de color referente al pasteurizado. \pm : desviación estándar. ^{a-c} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

Sobre las coordenadas a^* y b^* todas las muestras se encontraron en el cuadrante verde (-a) amarillo (b+) (figura 15). En ambas coordenadas, la muestra control con -1.24 y 5.32, respectivamente, así como en el parámetro de C^* (5.29), fueron mayores significativamente ($p < 0.05$), referente a la muestra termoultrasonificada optimizada y pasteurizada. Ramírez-Melo (2020) en un jugo de betabel termoultrasonificado, la muestra control reportó valores más altos de a^* , b^* , que el termoultrasonificado y pasteurizados, en C^* la muestra termoultrasonificada fue menor al control y los tratamientos térmicos

Diferentes resultados fueron obtenidos por Anaya-Esparza *et al.*, (2017c) en a^* y b^* en las muestras de néctar de guanábana termoultrasonificadas (-1.25 a -0.7 y 0.6 a 1.2, respectivamente), pasteurizada (-1.2 y 0.9, respectivamente) y control (-0.8 y 1.1, respectivamente). Los resultados observados para a^* , b^* y *Croma* podrían deberse a los efectos de la cavitación que no solo afecta con reacciones físicas, sino también, químicas (Sala *et al.*, 1995).

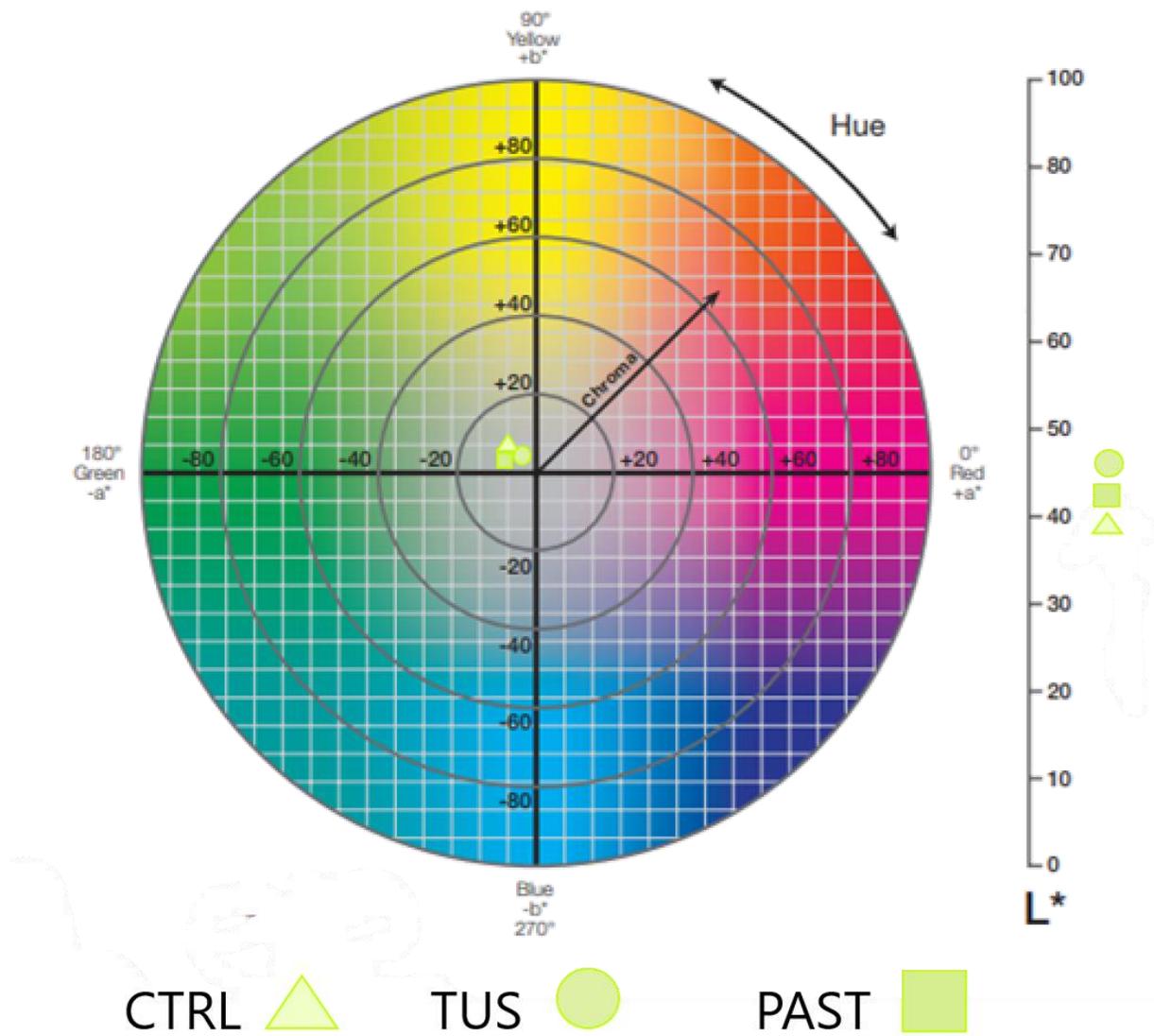


Figura 15. Espacio de color CIE $L^* a^* b^*$ (CIELAB). CTRL: control; TUS: termoultrasonificado óptimo (82/9.15); PAST: pasteurizado (65°C/30min).

En cuanto al parámetro de hue, el tratamiento optimizado expresó mayor tonalidad (-56.49) ($p < 0.05$) (figura 16), que en la muestra pasteurizada y control (tabla 13). En una leche tratada por termoultrasonido, se hallaron diferentes resultados, donde la muestra pasteurizada obtuvo mayor valor (-48.87) que la muestras termoultrasonificada y control (-59.28 a 51.94 y -57.07, respectivamente) (Hernández-Falcón *et al.*, 2018).

Por último, para la diferencia total de color (ΔE) de las muestras tratadas (TUS y pasteurizada) en referencia al control, el néctar pasteurizado obtuvo menor valor (2.38), por lo que es similar a la muestra control, que el tratamiento óptimo (5.39). Para ΔE con el pasteurizado, el optimizado mostró ligeramente mayor valor (3.07), a diferencia que el control (2.38) (tabla 13). Sin embargo, el estándar ISO (ISO 12647-2, 2013), indica que un $\Delta E < 3$ es poco perceptible por el ojo humano, mientras que valores de $\Delta E > 5$, indican una clara diferencia color, por lo que todavía no sería perceptible la diferencia de color entre la muestra termoultrasonificada con la muestra pasteurizada. Resultados diferentes fueron reportados por Anaya-Esparza *et al.*, (2017a), en un néctar de guanábana termoultrasonificado, encontrando una ΔE de 1.35 en el tratamiento termoultrasonificado referente a la muestra control. Al igual que un jugo de guanábana ultrasonificado, donde obtuvieron valores bajos de ΔE en los tratamientos ultrasonificados, con valores de 0.40 a 2.58 referente al control (Dias *et al.*, 2015), estos autores mencionan que una mayor intensidad de ultrasonido se pueden presentar mayores diferencias de color. Mason & Peters, (1991), explican que las posibles degradaciones de color son a causa de una acelerada isomerización y oxidación de carotenoides, por interacciones con los radicales libres producidos durante el ultrasonido. Por otro lado, a pesar de una mayor degradación de color de la muestra optimizada respecto al control, el termoultrasonido podría contribuir a la preservación de este parámetro ya que, podría inhibir la acción de algunas enzimas como se observa en el apartado de actividad enzimática. La polifenoloxidasas (PPO) que, oxida compuestos fenólicos, en conjunto con la peroxidasa (POD), son responsables del pardeamiento enzimático al producir un color marrón (Abid *et al.*, 2014).

8.8.6 Actividad Enzimática

La importancia del estudio de enzimas como la pectinmetilesterasa en la industria de los alimentos tiene el objetivo de su inactivación (Islam *et al.*, 2013) debido que, la PME cataliza la desesterificación de la pectina, obteniendo ácido péctico, lo que conlleva a una pérdida de viscosidad y separación de fases (Terefe *et al.*, 2009). Al reducir la actividad enzimática en la guanábana se busca disminuir el oscurecimiento y deterioro, que afecta las propiedades nutricionales y sensoriales (Dias *et al.*, 2015), donde la pasteurización es el método mayormente usado para este fin, sin embargo, este proceso disminuye la frescura y calidad en las bebidas frutales, por consecuencia se han implementado nuevas tecnologías como alternativa en la conservación de bebidas (Aadil *et al.*, 2015).

En la figura 16 se muestran los comportamientos vistos para pectinmetilesterasa. Los tratamientos pasteurizados y TUS optimizado redujeron la enzima PME a 0.20 ± 0.02 (50.11 %AR) y 0.28 ± 0.02 (69.11 %AR), respectivamente. Un comportamiento similar se mostró en un jugo de betabel termoultrasonificado por Ramírez-Melo, (2020), siendo los tratamientos pasteurizados con menor %AR en comparación con la muestra termoultrasonificada, al igual que, Gamboa-Santos *et al.*, (2012) encontrando un 0 %AR en zanahoria tratada térmicamente (95°C/5min) y un 69.1 %AR en la muestra termosonicada (60°C/10min). Una tendencia distinta fue el de un jugo de tomate tratado por termoultrasonido, donde la muestra termoultrasonificada presentó menor actividad enzimática de PME, seguido por el tratamiento térmico (Wu *et al.*, 2008).

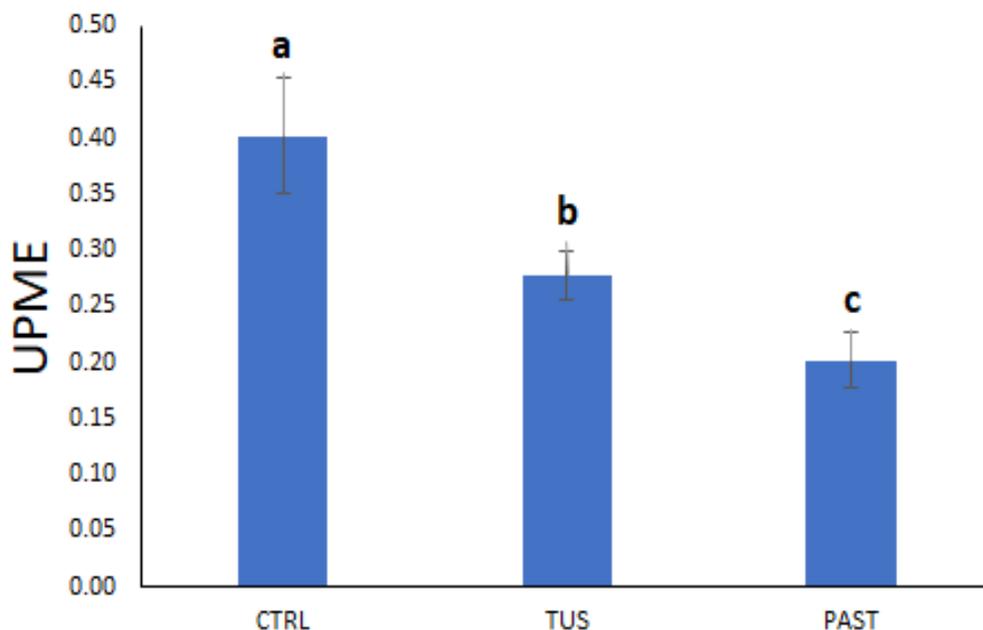


Figura 16. Actividad enzimática de pectinmetilesterasa (PME) en néctar de guanábana. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado óptimo (82/9.15); PAST: pasteurizado (65°C/30min). ^{a-c} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras.

La mayor inactivación enzimática en el pasteurizado, es debido a que el calor ocasiona ruptura de enlaces de hidrógeno, despliegues de las estructuras proteicas y desaminación térmica, dañando la estructura enzimática (Aghajanzadeh & Ziaifar, 2017). Mientras que el termoultrasonido produce desnaturalización de enzimas por interacción con los radicales libres y efecto de cizallamiento originado por la cavitación (Mason *et al.*, 1994).

8.8.7 Contenido antioxidante, actividad antioxidante y bioaccesibilidad *in vitro*

8.8.8 Contenido de fenoles totales

Los resultados en el contenido fenólico total son mostrados en la figura 17, el TUS optimizado exhibió el mayor contenido de fenoles en la muestra original (26.63 ± 0.92 mg EAG/100 mL) ($p < 0.05$), no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre la muestra control (18.65 ± 2.51 mg EAG/100 mL) y pasteurizado (17.73 ± 0.54 mg EAG/100 mL). Distinto resultado fue el que obtuvieron Dias *et al.*, (2015), en jugo de guanábana ultrasonificado, con reducciones en las muestras tratadas (.023 a .033 mg EAG/100 mL) comparado a la muestra control (.034 mg EAG/100 mL).

El aumento de fenoles observado en el tratamiento termoultrasonificado se puede deber a la ruptura de las paredes celulares, rompiendo la forma enlazada de los compuestos fenólicos con las membranas vegetales, aumentando su disponibilidad (Adiamo *et al.*, 2018). Por otro lado, Bhat *et al.*, (2011), explican que el incremento podría deberse a la adición de grupos hidroxilo (OH-) al anillo fenólico, producido de manera sonoquímica. En lo que respecta al tratamiento térmico, quizás son por las pérdidas de fenoles termolábiles por aplicación de altas temperaturas, así como una polimerización en las estructuras fenólicas (Rodríguez-Roque *et al.*, 2015).

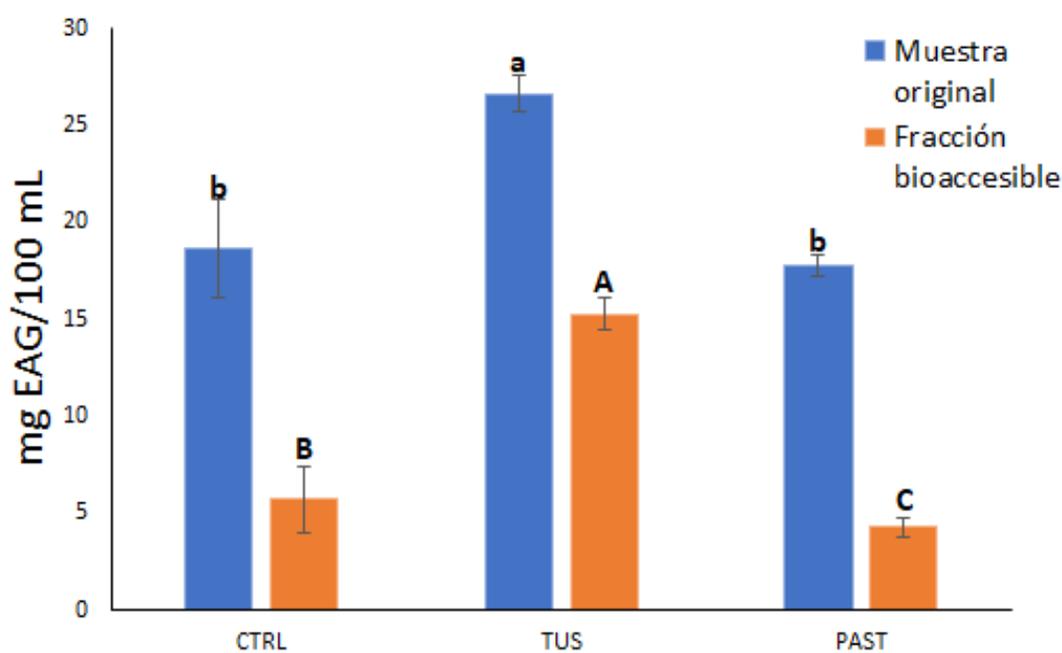


Figura 17. Contenido fenólico total en muestra original y fracción bioaccesible de néctar de guanábana. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado óptimo (82/9.15); PAST: pasteurizado (65°C/30min). ^{a-b} Diferentes letras indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras. ^{A-C} Indican diferencias ($p < 0.05$) entre las fracciones bioaccesibles.

Después de realizar la bioaccesibilidad intestinal *in vitro* (figura 17), se observa una parcial bioaccesibilidad en todas las muestras. No obstante, la muestra TUS optimizada mostró mayor valor (15.26 ± 0.82 mg EAG/100 mL) ($p < 0.05$) en comparación con las otras muestras, con una absorción del 57.29 %, respecto a la muestra original. La muestra control (5.69 ± 1.72 mg EAG/100 mL) fue mayor significativamente que el néctar pasteurizado (4.28 ± 0.48 mg EAG/100 mL), con una

bioaccesibilidad del 30.53 % y 24.14 % en relación a su muestra original, respectivamente. Similar comportamiento fue el hallado en una bebida elaborada con jugo de mango y papaya, con porcentajes de absorción del 35.39 a 35.88% en las muestras tratadas por ultrasonido y un porcentaje del 30.46% en la muestra no tratada (Buniowska *et al.*, 2017). Las absorciones parciales, se relacionan a que una cantidad de polifenoles son solubilizadas en el fluido intestinal siendo disponibles, y la parte no absorbida, puede unirse a complejos no bioaccesible, siendo posibles sustratos para la microbiota (Kamiloglu *et al.*, 2015; Saura-Calixto *et al.*, 2010), algunos de los polifenoles pueden sufrir una reabsorción en el colon (Blancas-Benítez *et al.*, 2019).

8.8.9 Actividad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP

En los resultados de actividad antioxidante son mostrados en la figura 18. Los valores de ABTS, DPPH y FRAP (Figuras 18a, b y c) en la muestra original, fueron mayores significativamente ($p < 0.05$) en los TUS optimizados (22.03 ± 2.24 , 129.21 ± 8.94 $\mu\text{mol ET}/100$ mL y 3.10 ± 0.09 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ mL, respectivamente) comparado con el néctar control (17.27 ± 1.28 , 118.61 ± 6.93 $\mu\text{mol ET}/100$ mL y 2.41 ± 0.10 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ mL, respectivamente) y néctar pasteurizado (13.45 ± 1.16 , 104.51 ± 6.56 $\mu\text{mol ET}/100$ mL y 2.08 ± 0.11 $\mu\text{mol Fe (II)}/100$ mL, respectivamente). Distintos resultados fueron encontrados por Anaya-Esparza *et al.*, (2017c), en un néctar de guanábana termoultrasonificado, observando disminución en ABTS ($22,290$ $\mu\text{mol ET}/100$ mL) e incrementos en DPPH y FRAP ($7,000$ y $5,560$ $\mu\text{mol ET}/100$ mL, respectivamente) referente a la muestra no tratada ($22,660$, $6,140$ y $4,930$ $\mu\text{mol ET}/100$ mL, respectivamente). La mayor actividad antioxidante presentada en este estudio pudiera deberse a la combinación del termoultrasonido y el uso de solventes orgánicos. Da Porto *et al.*, (2013), exponen que la extracción asistida con ultrasonido en combinación con un solvente, intensifica la transferencia de compuestos ya que, la disrupción celular provocada por la cavitación favorece que el disolvente tenga una mayor penetración en las células, aumentando el rendimiento de compuestos antioxidantes y su actividad.

El aumento en la muestra TUS se atribuye a los compuestos fenólicos al igual que, que pudiera liberarse en mayor cantidad por acción de la cavitación acústica de las paredes biológicas (Bhat *et al.*, 2011). En DPPH la mayor actividad antiradical en el TUS optimizado, es atribuida al efecto de la sonicación sobre los fenoles, generando hidroxilación en las posiciones orto o para, incrementando su actividad antioxidante en DPPH como en ABTS (Ashokkumar *et al.*, 2008). Por otro lado, Dantas *et al.*, (2019) explican que, los ácidos fenólicos encontrados en la guanábana como el ácido gálico, cafeico, cumárico y clorogénico, se correlacionan con la actividad antioxidante por FRAP. Por lo que el aumento de fenoles en la muestra TUS optimizada, pudiera generar una mayor actividad antioxidante de FRAP, coincidiendo con lo visto tanto en ABTS como DPPH.

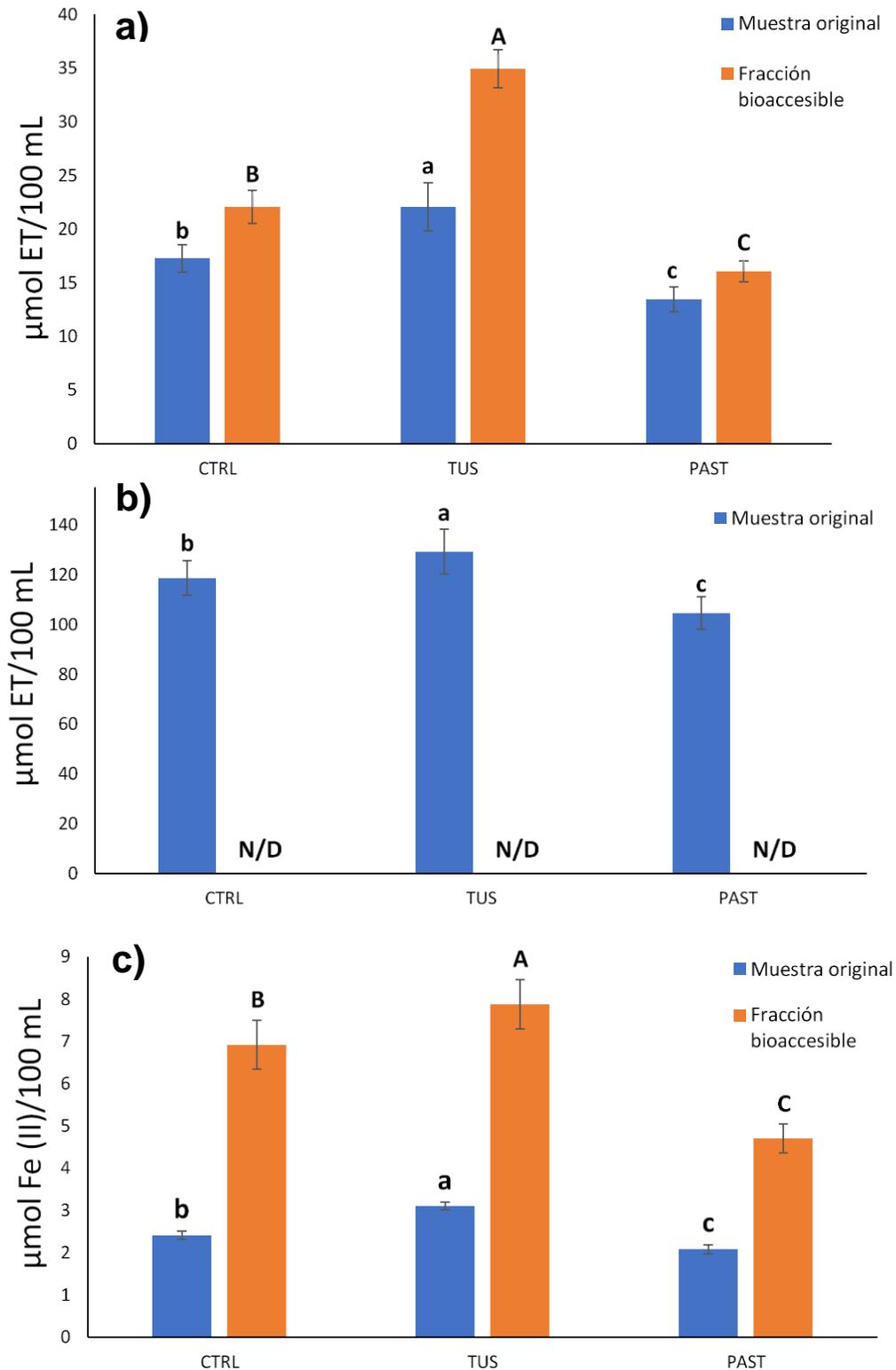


Figura 18. Actividad antioxidante por ABTS a), DPPH b) y FRAP c), en muestra original y fracción bioaccesible del néctar de guanábana. CTRL: control; TUS: termoultrasonificado óptimo (82/9.15); PAST: pasteurizado (65°C/30min). ^{a-c} Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras. ^{A-C} Indican diferencias ($p < 0.05$) entre las fracciones bioaccesibles. N/D: no detectado.

En la figura 18 se muestra también el comportamiento de la bioaccesibilidad intestinal *in vitro*. En ABTS (figura 18a) se obtuvieron incrementos significativos ($p < 0.05$) en la muestra TUS optimizada con respecto a las demás muestras con $34.92 \pm 1.76 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$, seguido por la muestra control ($22.05 \pm 1.54 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$) y el néctar pasteurizado ($16.04 \pm 0.98 \mu\text{mol ET}/100 \text{ mL}$). Los porcentajes de bioaccesibilidad obtenidos y que fueron mayores respecto a su muestra original fueron en el siguiente orden: TUS optimizado (58 %) > control (28 %) > pasteurizado (19 %). En DPPH (figura 18b), no se encontró actividad antioxidante en la fracción bioaccesible en ninguno de los tratamientos. Finalmente, en los resultados de actividad antioxidante por FRAP el TUS optimizado fue mayor significativamente ($7.88 \pm 0.59 \mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ mL}$) en comparación con las otras muestras, seguido del control ($6.92 \pm 0.58 \mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ mL}$), y el pasteurizado ($4.70 \pm 0.34 \mu\text{mol Fe (II)}/100 \text{ mL}$). Todos los tratamientos tuvieron más del 100% de bioaccesibilidad con respecto a su muestra original, comportándose en el siguiente orden: Control (187 %) > TUS optimizado (154 %) > pasteurizado (126 %), como se observa en la figura 18c. Ramírez-Moreno *et al.*, (2017) en un jugo de zarzamora tratado por ultrasonido, encontraron un 66% de absorción en la actividad antioxidante por ABTS en la fracción bioaccesible de la muestra control, aunque el tratamiento de 80%/15min arrojó menor porcentaje de absorción, este obtuvo un 21% de mayor actividad que el control, mientras que sus resultados en DPPH, todos los tratamientos posteriores a la digestión fueron menores a sus muestras originales. Otro comportamiento, es el reportado en un jugo de betabel termoultrasonificado, donde todos los tratamientos incrementaron su actividad antioxidante por ABTS en la fracción dializada, en DPPH la muestra termoultrasonificada no incrementó su actividad y en FRAP, todos los tratamientos presentaron baja bioaccesibilidad (Ramírez-Melo, 2020).

Los incrementos en la actividad antioxidante, quizás se deban a la modificación de compuestos antioxidantes por acción enzimática y cambios de pH, presentando una mayor capacidad posterior a la digestión (Kamiloglu *et al.*, 2015). Una causa similar ante este comportamiento es la mencionada por Wootton-Beard & Ryan (2011) y Ryan & Prescott (2010), quienes indican que pesar de una disminución de compuestos fenólicos por las condiciones alcalinas post-digestión, una proporción de estos sufren cambios estructurales por acción enzimática, generando un aumento de su capacidad antioxidante. Como lo es la deprotonación de los grupos hidroxilo, tras pasar de un ambiente ácido a alcalino, incrementando la donación de hidrógeno (Dantas *et al.*, 2019). Los diferentes resultados tanto en ABTS como FRAP, comparado con fenoles totales, en la fase bioaccesible, pudieran deberse a que la actividad antioxidante no sólo responde a los compuestos fenólicos, también contempla los antioxidantes que están presentes en la matriz como ácido ascórbico, carotenoides y tocoferoles, a diferencia del contenido fenólico total que se limita a solo ese grupo (Gawlik-Dziki *et al.*, 2009). En otro aspecto, si bien ABTS y DPPH reaccionan con antioxidantes al donar un hidrógeno, los resultados en las fracciones dializadas difieren. Esto quizás por la selectividad de antioxidantes de cada metodología, donde el método ABTS es más confiable por su solubilidad tanto en disolventes acuosos como orgánicos, además de una rápida reacción con antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos, en comparación con el DPPH (Ramírez-Moreno *et al.*, 2017; Iqbal *et al.*, 2012). Otra posible explicación para estos resultados, es la de Bouayed *et al.*, (2011), quienes mencionan que la actividad antioxidante medida por ABTS y FRAP, es más a fin a la transferencia de electrones por parte de los compuestos fenólicos. Viéndose reducida la actividad antioxidante para DPPH e incrementada la de ABTS y FRAP.

9. Conclusiones

En base a los resultados de la primera fase, se logró una reducción bacteriana de mesófilos aerobios y enterobacterias en los 13 tratamientos termoultrasonificados, sin mostrar mayores cambios en las propiedades fisicoquímicas. Se presenta un color en las muestras termoultrasonificadas cercano al control, así como disminución en la actividad de la enzima pectinmetilesterasa, factores importantes para la calidad en el néctar, también el TUS genera aumentos en el contenido de fenoles totales, así como en la actividad antioxidante por FRAP.

La metodología de superficie de respuesta es un método adecuado de optimización para las variables de respuesta en los parámetros de color (L^* , b^* , C^*), contenido fenólico total, actividad antioxidante por los métodos de ABTS, DPPH y FRAP, obteniendo la condición óptima de proceso de 82 % de amplitud durante 9 minutos con 15 segundos. Logrando aumento en luminosidad por el tiempo (b_{22}), también en el contenido fenólico y actividad reductora por FRAP (b_2), como un aumento en la actividad antioxidante por ABTS ante la amplitud (b_1).

Respecto a la segunda fase del estudio, la cual se basó en la comparación de la muestra termoultrasonificada optimizada con una muestra pasteurizada y control. En la microscopía electrónica de barrido, la muestra TUS presenta mayores cambios físicos en su estructura, un alto contenido de fibra dietética total. Una total inactivación de microorganismos tanto en el termoultrasonificado optimizado como en el néctar pasteurizado, cumpliendo con los requisitos nacionales e internacionales. La diferencia total de color (ΔE) demuestra que la muestra optimizada y la pasteurizada son semejantes a simple vista y una baja actividad de la enzima PME en ambos tratamientos. Finalmente, el tratamiento TUS, muestra un mayor contenido fenólico total y actividad antioxidante por ABTS, DPPH y FRAP, previo a su bioaccesibilidad *in vitro*, así como en la muestra dializada comparado con el néctar control y pasteurizado.

El termoultrasonido es una opción para el tratamiento del néctar de guanábana, ya que se obtiene un producto inocuo, sin afectar las propiedades fisicoquímicas, disminuyendo la actividad enzimática, y aumenta el contenido de compuestos bioactivos, así como su bioaccesibilidad intestinal. Y aunado a esto, la adición de la inulina de agave, aporta una alta cantidad de fibra prebiótica. Por lo que el néctar de guanábana optimizado es un producto con valor agregado, que podría ser considerado un alimento de diseño, que por su procesamiento podría contribuir con mayores efectos a la salud de quien lo consume.

10. Referencias bibliográficas

- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Han, Z., & Sun, D. W. (2013). Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141(3), 3201-3206.
- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Zhang, Z. H., Wang, M. S., Han, Z., Jing, H., & Jabbar, S. (2015). Thermosonication: A potential technique that influences the quality of grapefruit juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 50(5), 1275-1282.
- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Wu, T., Lei, S., Khan, M. A., & Zeng, X. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 984-990.
- Adefegha, S. A., Oyeleye, S. I., & Oboh, G. (2015). Distribution of phenolic contents, antidiabetic potentials, antihypertensive properties, and antioxidative effects of soursop (*Annona muricata* L.) fruit parts *in vitro*. *Biochemistry Research International*, 2015, 1-7.
- Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Babiker, E. E., & Ahmed, I. A. M. (2018). Thermosonication process for optimal functional properties in carrot juice containing orange peel and pulp extracts. *Food Chemistry*, 245, 79-88.
- Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Mohamed Ahmed, I. A., & Babiker, E. E. (2017). Effects of thermosonication and orange by-products extracts on quality attributes of carrot (*Daucus carota*) juice during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(9), 2115-2125.
- Aghajanzadeh, S., & Ziaifar, A. M. (2018). A review of pectin methylesterase inactivation in citrus juice during pasteurization. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 1-12.
- Agu, K. C., & Okolie, P. N. (2017). Proximate composition, phytochemical analysis, and *in vitro* antioxidant potentials of extracts of *Annona muricata* (Soursop). *Food Science & Nutrition*, 5(5), 1029-1036.
- Aguilar-Hernández, G., García-Magaña, M. D. L., Vivar-Vera, M. D. L. Á., Sáyago-Ayerdi, S. G., Sánchez-Burgos, J. A., Morales-Castro, J., & Montalvo González, E. (2019). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Annona muricata* By-Products and Pulp. *Molecules*, 24(5), 904.

- Akomolafe, S. F., & Ajayi, O. B. (2015). A comparative study on antioxidant properties, proximate and mineral compositions of the peel and pulp of ripe *Annona muricata* (L.) fruit. *International Food Research Journal*, 22(6).
- Alizadeh, A., Oskuyi, A. S., & Amjadi, S. (2018). The optimization of prebiotic sucrose-free mango nectar by response surface methodology: The effect of stevia and inulin on physicochemical and rheological properties. *Food Science and Technology International*, 25(3), 243-251.
- Ampofo-Asiama, J., & Quaye, B. (2019). Effects of storage temperature on the physicochemical, nutritional and microbiological quality of pasteurized soursop (*Annona muricata* L.) Juice. *African Journal of Food Science*, 13(2), 38-47.
- Anaya-Esparza, L. M., Méndez-Robles, M. D., Pérez-Larios, A., Yahia, E. M., & Montalvo-González E. (2018). Nutritional composition and physicochemical parameters of thermosonicated soursop nectar. *Revista Especializada en Ciencias. Químico Biológicas*, 21(1), 5-13.
- Anaya-Esparza, L. M., Méndez-Robles, M. D., Sayago-Ayerdi, S. G., García-Magaña, M. D. L., Ramírez-Mares, M. V., Sánchez-Burgos, J. A., & Montalvo-González, E. (2017a). Effect of thermosonication on pathogenic bacteria, quality attributes and stability of soursop nectar during cold storage. *CyTA-Journal of Food*, 15(4), 592-600.
- Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Roig, A. X., García-Galindo, H. S., Sayago-Ayerdi, S. G., & Montalvo-González, E. (2017b). Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends in Food Science & Technology*, 61, 26-37.
- Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Sayago-Ayerdi, S. G., Sánchez-Burgos, J. A., Ramírez-Mares, M. V., de Lourdes García-Magana, M., & Montalvo-González, E. (2017c). Effect of thermosonication on polyphenol oxidase inactivation and quality parameters of soursop nectar. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 545-551.
- Anderson, J., Perryman, S., & Young, L. (2010). Dietary fiber. *Food and Nutrition Series. Health*; no. 9.333.

- AOAC, & Horwitz, W. (1995). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. *AOAC International*, Arlington VA.
- AOAC, (2000). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Section 920.52. 14 Ed. *AOAC International*, Washington D.C. USA.
- AOAC, (2000). Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Section 940.26. 14 Ed. *AOAC International*, Washington D.C. USA.
- Arias, L., Ospino, K. S., & Zapata, J. E. (2018). Elaboración de leche saborizada fortificada con hierro hémico proveniente de hidrolizados de hemoglobina bovina. *Información Tecnológica*, 29(4), 65-74.
- Ashokkumar, M., Sunartio, D., Kentish, S., Mawson, R., Simons, L., Vilku, K., & Versteeg, C. K. (2008). Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 155-160.
- Ashwell, M. (2004). *Conceptos sobre los alimentos funcionales*. ILSI Europe. 3-34.
- Aular, J., Ruggiero, C., & Durigan, J. (2002). Relación entre el color de las cáscaras y las características del fruto y jugo de la parchita maracuyá. *Bioagro*, 14(1).
- Badrie, N., & Schauss A. (2010). Soursop (*Annona muricata* L.): Composition, Nutritional Value, Medicinal Uses, and Toxicology. In: *Bioactive foods in promoting health*. Academic Press, Washington. 621-643.
- Bagherian, H., Ashtiani, F. Z., Fouladitajar, A., & Mohtashamy, M. (2011). Comparisons between conventional, microwave-and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11-12), 1237-1243.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- Barrientos-Gutierrez, T., Zepeda-Tello, R., Rodrigues, E. R., Colchero-Aragonés, A., Rojas-Martínez, R., Lazcano-Ponce, E., Meza, R. (2017). Expected population weight and diabetes impact of the 1-peso-per-litre tax to sugar sweetened beverages in Mexico. *PLOS ONE*, 12(5), 1-15.

- Bayod, E., & Tornberg, E. (2011). Microstructure of highly concentrated tomato suspensions on homogenisation and subsequent shearing. *Food Research International*, 44(3), 755-764.
- Baş, D., & Boyacı, I. H. (2007). Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology. *Journal of food engineering*, 78(3), 836-845.
- Beccard, S., Bernard, J., Wouters, R., Gehrich, K., Zielbauer, B., Mezger, M., & Vilgis, T. A. (2019). Alteration of the structural properties of inulin gels. *Food Hydrocolloids*, 89, 302-310.
- Bensadón, S., Hervert-Hernández, D., Sáyago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. (2010). By-products of *Opuntia ficus-indica* as a source of antioxidant dietary fiber. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3), 210-216.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977.
- Bhat, R., Kamaruddin, N. S. B. C., Min-Tze, L., & Karim, A. A. (2011). Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(6), 1295-1300.
- Blancas-Benítez, F. J., Montalvo-González, E., González-Aguilar, G. A., & Sáyago-Ayerdi, S. G. (2019). *In vitro* bioaccessibility and release kinetics of phenolic compounds from guava (*Psidium guajava* L.) and soursop (*Annona muricata* L.) pulp. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 22(1). 1-6.
- Bouayed, J., Hoffmann, L., & Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastro-intestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food chemistry*, 128(1), 14-21.
- Braverman-Bronstein, A., Camacho-García-Formentí, D., Zepeda-Tello, R., Cudhea, F., Singh, G. M., Mozaffarian, D., & Barrientos-Gutierrez, T. (2020).

Mortality attributable to sugar sweetened beverages consumption in Mexico: an update. *International Journal of Obesity*, 44(6), 1341-1349.

- Buniowska, M., Carbonell-Capella, J. M., Frigola, A., & Esteve, M. J. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds after non-thermal processing of an exotic fruit juice blend sweetened with *Stevia rebaudiana*. *Food Chemistry*, 221, 1834-1842.
- Canbulat, Z., & Ozcan, T. (2015). Effects of Short-Chain and Long-Chain Inulin on the Quality of Probiotic Yogurt Containing *Lactobacillus rhamnosus*. *Journal of food processing and preservation*, 39(6), 1251-1260.
- Cano, M. P., Hernandez, A., & De Ancos, B. (1997). High pressure and temperature effects on enzyme inactivation in strawberry and orange products. *Journal of Food Science*, 62, 85-88.
- Căpriță, A., Căpriță, R., Simulescu, V. O., & Drehe, R. M. (2011). The effect of temperature on soluble dietary fiber fraction in cereals. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 17.
- Carlson, J. L., Erickson, J. M., Lloyd, B. B., & Slavin, J. L. (2018). Health effects and sources of prebiotic dietary fiber. *Current Developments in Nutrition*, 2(3), 1-15.
- Cayupán, Y. S. C., Ochoa, M. J., & Nazareno, M. A. (2011). Health-promoting substances and antioxidant properties of *Opuntia sp.* fruits. Changes in bioactive-compound contents during ripening process. *Food Chemistry*, 126(2), 514-519.
- CEC, Brussels. (2005). Commission of the European Communities. Commission regulation of on microbiological criteria for foodstuffs. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?qid=1601263756721&uri=CELEX:32012R0528>. Accessed: 27/09/2020.
- Centre for Food Safety. (2014). *Microbiological Guidelines for Food*. Recuperado de: https://www.cfs.gov.hk/english/food_leg/files/food_leg_Microbiological_Guidelines_for_Food_e.pdf. Acceso: 20/07/2020.
- Cervantes-Elizarrarás, A., Piloni-Martini, J., Ramírez-Moreno, E., Alanís-García, E., Güemes-Vera, N., Gómez-Aldapa, C. A., Zafra-Rojas, Q. Y., & Cruz-Cansino, N.

- (2017). Enzymatic inactivation and antioxidant properties of blackberry juice after thermoultrasound: Optimization using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 371-379.
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F. (2012). Bioaccessibility and antioxidant potential of millet grain phenolics as affected by simulated in vitro digestion and microbial fermentation. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 226-237.
 - Chávez, J. (2004). Curso Principios bioactivos de plantas andinas y amazónicas del Perú. Capacidad antioxidante de compuestos bioactivos. Facultad de Ciencias, *Departamento de Química*. UNALM.
 - Cheng, L. H., Soh, C. Y., Liew, S. C., & Teh, F. F. (2007). Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. *Food Chemistry*, 104(4), 1396-1401.
 - CODEX STAN 247. (2005). Norma general del codex para zumos (jugos) y néctares de frutas.
 - Colchero, M. A., Rivera-Dommarco, J., Popkin, B. M., & Ng, S. W. (2017). In Mexico, Evidence Of Sustained Consumer Response Two Years After Implementing A Sugar-Sweetened Beverage Tax. *Health Affairs*, 36(3), 564–571.
 - Coria-Téllez, A.V., Montalvo-González, E., Yahia E.M., & Obledo-Vázquez, E.N. (2018). *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*, 11, 662–691
 - Costa, A. G. V., Garcia-Diaz, D. F., Jimenez, P., & Silva, P. I. (2013). Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 539-549.
 - Cruz, N., Capellas, M., Hernández, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., & Ferragut, V. (2007). Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. *Food Research International*, 40(6), 725-732.
 - Cruz-Cansino, N., Montiel-Columna, N. I., Bautista-Velueta, P. G., Pérez-Tinoco, M. R., Alanís-García, E., & Ramírez-Moreno, E. (2016). Optimization of Thermoultrasound conditions for the processing of a prickly pear juice blend

- (*Opuntia ficus indica*) using response surface methodology. *Journal of Food Quality*, 39(6), 780-791.
- Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., León-Rivera, J. E., Delgado-Olivares, L., Alanís-García, E., Ariza-Ortega, J. A., Manríquez-Torres, J. J., & Jaramillo-Bustos, D. P. (2015). Shelf life, physicochemical, microbiological and antioxidant properties of purple cactus pear (*Opuntia ficus indica*) juice after thermoultrasound treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 277-286.
 - D'Archivio, M., Filesì, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
 - Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1076-1080.
 - Dahl, W. J., & Stewart, M. L. (2015). Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: health implications of dietary fiber. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, 115(11), 1861-1870.
 - Dantas, A. M., Mafaldo, I. M., de Lima Oliveira, P. M., dos Santos Lima, M., Magnani, M., & Borges, G. C. (2019). Bioaccessibility of phenolic compounds in native and exotic frozen pulps explored in Brazil using a digestion model coupled with a simulated intestinal barrier. *Food Chemistry*, 274, 202-214.
 - Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S. J., & Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*, 8(3), 92.
 - Degnon, R. G., Adjou, E. S., Noudogbessi, J. P., Metome, G., Boko, F., Dahouenon-Ahoussi, E., & Sohounhloue, D. C. (2013). Investigation on nutritional potential of soursop (*Annona muricata* L.) from Benin for its use as food supplement against protein-energy deficiency. *International Journal of Biosciences*, 3(6), 135-144.
 - Dias, R., Pimenta, Z. M., Oliveira de Cervalho C. B., Araújo F., Barbosa N., & Moreira P. (2015). Effect of sonication on soursop juice quality. *LWT-Food Science and Technology*, 1-7.

- Díaz-Jiménez, B., Sosa-Morales, M. E. & Vélez-Ruiz, J. F. (2004). Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasa en las propiedades fisicoquímicas del yogur. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 3(3), 287-305.
- dos Santos, D. C., de Oliveira Filho, J. G., Santana, A. C. A., de Freitas, B. S. M., Silva, F. G., Takeuchi, K. P., & Egea, M. B. (2019). Optimization of soymilk fermentation with kefir and the addition of inulin: Physicochemical, sensory and technological characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 104, 30-37.
- Drabińska, N., Zieliński, H., & Krupa-Kozak, U. (2016). Technological benefits of inulin-type fructans application in gluten-free products—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 149-157.
- Ertugay, M. F., & Başlar, M. (2014). The effect of ultrasonic treatments on cloudy quality-related quality parameters in apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 226-231.
- Etzbach, L., Pfeiffer, A., Schieber, A., & Weber, F. (2019). Effects of thermal pasteurization and ultrasound treatment on the peroxidase activity, carotenoid composition, and physicochemical properties of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) puree. *LWT-Food Science and Technology*, 100, 69-74.
- Evelyn, E. & Silva, F. V. (2016). High pressure processing pretreatment enhanced the thermosonication inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in orange juice. *Food Control.*, 62, 365-372.
- Fernández, A. E., Obledo-Vázquez, E. N., Vivar-Vera, M. A., Sáyago, S. G., & Montalvo-González, E. (2017). Evaluation of emerging methods on the polyphenol content, antioxidant capacity and qualitative presence of acetogenins in soursop pulp (*annona muricata* L.). *Revista Brasileira Fruticultura.*, 39(e-358), 1-8.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., Koo, S. I., & Chun, O. K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043-1048.
- Gamiz, E., Soriano, M., Delgado, G., Parraga, J., and Delgado, R. (2017). Estudio morfológico de talcos con microscopio electrónico de barrido (SEM). Aplicaciones farmacéuticas. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 43(1-2), 173-185.

- García, J. R., De la Rosa, L.A., Herrera, D. G., González, B. A. G., López, D. J. A., González, A. G. A., Ruiz, C. S. y Álvarez, P. E. (2011). Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en la ciudad de Juárez, México. *Tecnociencia*, 5(2): 67-75.
- Gardner, P. T., White, T. A., McPhail, D. B., & Duthie, G. G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68(4), 471-474.
- Gavamukulya, Y., Abou-Ellela, F., Wamunyokoli, F., & AEI-Shemy, H. (2014). Phytochemical screening, anti-oxidant activity and in vitro anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). *Asian Pacific Journal Tropical Medicine*, 7(1), 355-63.
- Gavamukulya, Y., Wamunyokoli, F., & AEI-Shemy, H. (2017). *Annona muricata*: Is the natural therapy to most disease conditions including cancer growing in our backyard? A systematic review of its research history and future prospects. *Asian Pacific Journal Medicine*, 10(9), 835-47.
- Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Baraniak, B., & Lin, R. (2009). The effect of simulated digestion in vitro on bioactivity of wheat bread with Tartary buckwheat flavones addition. *LWT-Food Science and Technology*, 42(1), 137-143.
- Genovese, D. B., Lozano, J. E., & Rao, M. A. (2007). The rheology of colloidal and noncolloidal food dispersions. *Journal of Food Science*, 72(2), 11-20.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Anthocyanins, characterization and measurement with UV-visible spectroscopy, in current protocols in food analytical chemistry. New York: *John Wiley & Sons* (Chapter 6).
- Glibowski, P., & Wasko, A. (2008). Effect of thermochemical treatment on the structure of inulin and its gelling properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(11), 2075-2082.
- Goldberg, I., & Hasler, C. M. (1996). Functional Foods--Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals. *American Journal of Clinical Nutrition*, 64(2), 255-255.

- González, A. D., Kafarov, V., & Guzmán Monsalve, A. (2009). Desarrollo de métodos de extracción de aceite en la cadena de producción de biodiesel a partir de microalgas. *Prospectiva* 7(2).
- Gordillo, J. C., Ortiz, D., Larrahondo, J. E., Mejía, M. S., & Pachon, H. (2012). Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): una revisión bibliográfica. *Boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 11(2), 111-126.
- Guerrero-López, C. M., & Arantxa Colchero, M. (2018). Productivity loss associated with the consumption of sugar-sweetened beverages in Mexico. *Preventive Medicine*, 115, 140-144.
- Heinz, V., Toepfl, S., & Knorr, D. (2003). Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 4(2), 167-175.
- Hercerg, Z., Lelas, V., Jambrak, A. R., Vulkusic, T., & Levaj, B. (2013). Influence of thermo-sonication on microbiological safety, color and anthocyanins content of strawberry juice. *J. Hygienic Engineering and Design*, 4, 26-37.
- Hernández L., Nolasco Y., & Cruz E. 2017. Selección y caracterización de guanábana y recomendaciones para su manejo agronómico. Folleto Técnico No. 34. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Santiago Ixcuintla. Nayarit, México. 4-10.
- Hernández-Falcón, T. A., Monter-Arciniega, A., del Socorro Cruz-Cansino, N., Alanís-García, E., Rodríguez-Serrano, G. M., Castañeda-Ovando, A., García-Garibay, M., Ramírez-Moreno, E., & Jaimez-Ordaz, J. (2018). Effect of thermoultrasound on aflatoxin M1 levels, physicochemical and microbiological properties of milk during storage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48, 396-403.
- Hernández-Traspeña, J. L. (2020). Optimización del proceso de extracción por ultrasonido y su efecto sobre la carga microbiana, propiedades fisicoquímicas y antioxidantes en el residuo de betabel (*Beta vulgaris* L.). (Tesis de licenciatura). *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México. 54-58.

- Herrero, A., Romero, M. (2006). Innovaciones en el procesado de alimentos: tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina de la Universidad de Navarra*. 50 (4), 71-74.
- Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C., & de Pascual-Teresa, S. (2010). Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 121(3), 691-696.
- Hoyos, J. (1994). Frutales en Venezuela (Nativos y Exóticos). *Sociedad de Ciencias Naturales*, 36, 381.
- Hutkins, R. W., Krumbeck, J. A., Bindels, L. B., Cani, P. D., Fahey Jr, G., Goh, Y. J., & Vaughan, E. (2016). Prebiotics: why definitions matter. *Current Opinion in Biotechnology*, 37, 1-7.
- Huyut, Z., Beydemir, Ş., & Gülçin, İ. (2017). Antioxidant and antiradical properties of selected flavonoids and phenolic compounds. *Biochemistry Research International*, 2017.
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- Imamura, F., O'Connor, L., Ye, X., Mursu, J., Hayashino, Y., Bhupathiraiu, S. N., & Forouhi, N. G., (2015). Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction. *British Medical Journal*, 2015(351), 1-10.
- INSP. (2018). Presentación de resultados de encuesta nacional de salud y nutrición. Recuperado de: https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2018/doctos/informes/ensanut_2018_presentation_resultados.pdf . Acceso: 24/09/2020.
- International Organization for Standardization. (2013). ISO 12647-2 Graphic technology: Process control for the production of half-tone colour separations, proof and production prints. Recuperado de: <https://www.iso.org/standard/57833.html>. Acceso: 20/07/2020.

- Iqbal, S., Younas, U., Chan, K. W., Sarfraz, R. A., & Uddin, M. (2012). Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus sp.*): a comparative study. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(6), 6651-6664.
- Islam, M. N., Zhang, M., & Adhikari, B. (2014). The inactivation of enzymes by ultrasound a review of potential mechanisms. *Food Reviews International*, 30(1), 1-21.
- Jiménez, V. M., Gruschwitz, M., Schweiggert, R. M., Carle, R., & Esquivel, P. (2014). Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high-performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection. *Food Research International*, 65, 42-46.
- Jiménez-Zurita, J. O., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Juárez-López, P., Jiménez-Ruíz, E. I., Sumaya-Martínez, M. T., & Bello-Lara, J. E. (2017). Tópicos del manejo poscosecha del fruto de guanábana (*Annona muricata* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(5), 1155-1167.
- Joslyn, M. A. (1961). Physiological and enzymological aspects of juice production. *Fruit and Vegetable Juice*, 64-115.
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369-380.
- Kamiloglu, S., Pasli, A. A., Ozcelik, B., Van Camp, J., & Capanoglu, E. (2015). Influence of different processing and storage conditions on *in vitro* bioaccessibility of polyphenols in black carrot jams and marmalades. *Food Chemistry*, 186, 74-82.
- Kiang, W. S., Bhat, R., Rosma, A., & Cheng, L. H. (2013). Effects of thermosonication on the fate of *E. coli* O157: H7 and *Salmonella* Enteritidis in mango juice. *Letters in Applied Microbiology*, 56(4), 251-257.
- Kim, Y., Faqih, M. N., & Wang, S. S. (2001). Factors affecting gel formation of inulin. *Carbohydrate Polymers*, 46(2), 135-145.
- Kimball, D. (2012). *Citrus processing: quality control and technology*. Springer Science & Business Media. 121-122.

- Kuskoski, E., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J. & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia e Tecnología de Alimentos*. 25, 726-732.
- Li, X., He, X., Lv, Y., and He, Q. (2014). Extraction and functional properties of water-soluble dietary fiber from apple pomace. *Journal of Food Process Engineering*, 37(3), 293-298.
- Lima De Oliviera, S., Guerra, N. B., Sucupira, M. I., & Souza, A. V. (1994). Polyphenoloxidase activity, polyphenols concentration and browning intensity during soursop (*Annona muricata*, L.) maturation. *Journal of Food Science*, 59(5), 1050-1052.
- Londoño, L. J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. En: *Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista, 130-162.
- López-Martínez, E. (2018). Optimización del proceso de termoultrasonido en aguamiel de maguey (*Agave atrovirens Karw*). Sobre sus propiedades microbiológicas, fisicoquímicas y antioxidantes. (Tesis de licenciatura). *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México. 34-62.
- Madrigal, L., & Sangronis, E. (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 57(4), 387-395.
- Magalhães, M. L., Cartaxo, S. J., Gallão, M. I., García-Pérez, J. V., Cárcel, J. A., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. (2017). Drying intensification combining ultrasound pre-treatment and ultrasound-assisted air drying. *Journal of Food Engineering*, 215, 72-77.
- Malik, V. S., Popkin, B. M., Bray, G. A., Després, J. P., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2010). Sugar-sweetened beverages and risk of metabolic syndrome and type 2 diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care*, 33(11), 2477-2483.
- Manjula, K., & Suneetha, C. (2011). Designer foods, Their role in preventing lifestyle disorders. *International Journal of Food Science & Nature*, 2(4), 878-882.

- Marcy, J. E., Graumlich, T. R., Crandall, P. G., & Marshall, M. R. (1984). Factors affecting storage of orange concentrate. *Journal of Food Science*, 49(6), 1628-1629.
- Margareta, E. & Nyman, GL (2003). Importancia del procesamiento de las propiedades fisicoquímicas y fisiológicas de la fibra dietética. *Actas de la Sociedad de Nutrición*, 62 (1), 187-192.
- Márquez Cardozo, C. J., Villacorta Lozano, V., Yepes Betancur, D. P., Ciro Velásquez, H. J., & Cartagena Valenzuela, J. R. (2012). Physiological and physico-chemical characterization of the soursop fruit (*Annona muricata* L. cv. Elita). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(1), 6477-6486.
- Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, P. R., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2015). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*, 172, 650-656.
- Martysiak-Żurowska, D., & Wenta, W. (2012). A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 11(1), 83-89.
- Mason, T. J., & Peters, D. (1991). *Practical Sonochemistry* (18). New York: Ellis Horwood. 113-151.
- Mason, T. J., Lorimer, J. P., Bates, D. M., & Zhao, Y. (1994). Dosimetry in sonochemistry: the use of aqueous terephthalate ion as a fluorescence monitor. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1(2), 91-95.
- Mason, T. J., Riera, E., Vercet, A., & López, B. P. (2005). Application of ultrasound. *Emerging Technologies for Food Processing*. 323-351.
- Mesa-Vanegas, A. M., Gaviria, C. A., Cardona, F., Sáez-Vega, J. A., Blair-Trujillo, S., & Rojano, B. A. (2010). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies de género *Calophyllum*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(2): 13-26.
- Meydav, S., Saguy, I. & Kopelman, I.J. (1977). Browning determination in citrus products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25:602–604

- Mishra, S., Ahmad, S., Kumar, N., & Sharma, B.K. (2013). *Annona muricata* (the cancer killer): A review. *Journal of Pharmacy Research*. 2(1): 1613-18.
- Moghadamtousi, S.Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H.M., & Kadir, H.A. (2015). *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 15625-32.
- Morales, F. J. & Jiménez-Pérez, S. (2001). Free radical scavenging capacity of Maillard reaction products as related to color and fluorescence. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 72, 19-125.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C., & Anderson-Cook, C. M. (2016). Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments. *John Wiley & Sons*. 1-3.
- Nayak, P. K., Chandrasekar, C. M., & Kesavan, R. K. (2018). Effect of thermosonication on the quality attributes of star fruit juice. *Journal of Food Process Engineering*, 41(7), 1-10.
- Neta, M. T. S. L., de Jesus, M. S., da Silva, J. L. A., Araujo, H. C. S., Sandes, R. D. D., Shanmugam, S., & Narain, N. (2018). Effect of spray drying on bioactive and volatile compounds in soursop (*Annona muricata*) fruit pulp. *Food Research International*, 124, 70-77.
- Nguyen, V. P. T., Le, T. T., & Le, V. V. M. (2013). Application of combined ultrasound and cellulase preparation to guava (*Psidium guajava*) mash treatment in juice processing: optimization of biocatalytic conditions by response surface methodology. *International Food Research Journal*, 20(1), 377.
- NMX-F-102-S-1978. (1978). Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. Norma mexicana. Dirección general de normas.
- Norma Oficial Mexicana. (1995). NOM-130-SSA1-1995. bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias. 9-12.

- Norma Oficial Mexicana. (2020). NOM-051-SSFI-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasadas-Información comercial y sanitaria. 19-25.
- Norma Venezolana. (1977). COVENIN 1151-77 Frutas y productos derivados. determinación de la acidez. 1-2.
- Ojeda, G., Coronado, J., Nava, R., Sulbarán, B., Araujo, D., & Cabrera, L. (2007). Caracterización fisicoquímica de la pulpa de la guanábana (*Annona muricata*) cultivada en el Occidente de Venezuela. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 41(2), 151-160.
- Olangunju, A. I., & Sandewa, O. E. (2018). Comparative physicochemical properties and antioxidant activity of dietary soursop milkshake. *Beverages*, 4(2), 38.
- Oluwole, O. A., David, O. M., Falegan, C. R., Awojuyigbe, B., & Olajide, O. M. (2016). Microbiological and physicochemical properties of commercial seal tampered refrigerated fruit juices. *International Journal of Biological Research*, 4(1), 21-24.
- Ortega-Ortega, M. A., Cruz-Cansino, N. S., Alanís-García, E., Delgado-Olivares, L., Ariza-Ortega, J. A., Ramírez-Moreno, E., & Manríquez-Torres, J. J. (2017). Optimization of ultrasound extraction of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) seed oil based on antioxidant activity and evaluation of its antimicrobial activity. *Journal of Food Quality*, 2017, 1-9.
- Othman, O. C., Fabian, C., & Lugwisha, E. (2014). Post harvest physicochemical properties of soursop (*Annona muricata* L.) fruits of Coast region, Tanzania. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 2(5), 220-226.
- Oyane, I., Takeda, T., Oda, Y., Sakata, T., Furuta, M., Okitsu, K., Yasuaki, M., & Nishimura, R. (2009). Comparison between the effects of ultrasound and γ -rays on the inactivation of *Saccharomyces cerevisiae*: Analyses of cell membrane permeability and DNA or RNA synthesis by flow cytometry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(4), 532-536.
- Öztaşkın, N., Cetinkaya, Y., Taslimi, P., Göksu, S., & Gülçin, İ. (2015). Antioxidant and acetylcholinesterase inhibition properties of novel bromophenol derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 60, 49-57.

- Paniwnyk, L. (2017). Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 794-806.
- Patel, M. S., & Patel, J. K. (2016). A review on a miracle fruits of *Annona muricata*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(1), 137.
- Peng, J., Tang, J., Barrett, D. M., Sablani, S. S., Anderson, N., & Powers, J. R. (2017). Thermal pasteurization of ready-to-eat foods and vegetables: Critical factors for process design and effects on quality. *Food Science and Nutrition*, 57(14), 2970-2995.
- Pérez-Trejo, L., Sánchez, A. F. M., y Mercado, A. P. (2010). Determinación de la viscosidad de fluidos newtonianos y no newtonianos (una revisión del viscosímetro de Couette). *Latin-American Journal of Physics Education*, 4(1), 36.
- Peterson, G. (1979). Review of the Folin protein quantitation method of Lowry, Rosebrough, Farr and Randall, *Analytical Biochemistry*, 100(2):201-220.
- Pieme, C.A., Kumar, S.G., Dongmo, M.S., Moukette, B.M., Boyoum, F.F., Ngogang, J.Y., & Saxena, A.K. (2014). Antiproliferative activity and induction of apoptosis by *Annona muricata* (Annonaceae) extract on human cancer cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14(516): 2-4.
- Pinheiro, J. C., Alegria, C. S., Abreu, M. M., Gonçalves, E. M., & Silva, C. L. (2016). Evaluation of alternative preservation treatments (water heat treatment, ultrasounds, thermosonication and UV-C radiation) to improve safety and quality of whole tomato. *Food and Bioprocess Technology*, 9(6), 924-935.
- Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound. *International Journal of Food Microbiology*, 87:207-216.
- Prosky, L., Asp, N. G., Furda, I., Devries, J. W., Schweizer, T. F., & Harland, B. F. (1985). Determination of total dietary fiber in foods and food products: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 68(4), 677-679.
- Prosky, L., Asp, N. G., Schweizer, T. F., Devries, J. W., & Furda, I. (1988). Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 71(5), 1017-1023.

- Puig, A., Perez-Munuera, I., Carcel, J. A., Hernando, I., & Garcia-Perez, J. V. (2012). Moisture loss kinetics and microstructural changes in eggplant (*Solanum melongena* L.) during conventional and ultrasonically assisted convective drying. *Food and Bioproducts Processing*, 90(4), 624-632.
- Quintanar, E. M. A. & Calderón S. J. V. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de educación bioquímica*, 28(3), 89-101.
- Rajasekaran, A., & Kalaivani, M. (2013). Designer foods and their benefits: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 50(1), 1-16.
- Rajewska, K., & Mierzwa, D. (2017). Influence of ultrasound on the microstructure of plant tissue. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 43, 117-129.
- Ramírez-Melo, L. (2020). Optimización de las condiciones de termoultrasonificación del jugo de betabel (*Beta vulgaris* L.) sobre la calidad microbiológica, propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y su comparación con la pasteurización. (Tesis de Licenciatura). *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México. 34-74.
- Ramírez-Moreno, E., Zafra-Rojas, Q. Y., Arias-Rico, J., Ariza-Ortega, J. A., Alanís-García, E., & Cruz-Cansino, N. (2018). Effect of ultrasound on microbiological load and antioxidant properties of blackberry juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), 1-5.
- Rawson, A., Patras, A., Tiwari, B. K., Noci, F., Koutchma, T., & Brunton, N. (2011). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44(7), 1875-1887.
- Re, R., Pellegrini N, Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-7.
- Reyes-Montero, J. A., Aceves-Navarro, E., Caamal-Velázquez, J. H., & Alamilla-Magaña, J.C. (2018). Producción de guanábana (*Annona muricata*) en alta densidad de plantación, como alternativa para productores con superficies reducidas. *Agroproductividad*, 11(9), 37-42.
- Rivera-Dommarco, J. A., Colchero, M. A., Fuentes, M. L., Cosío-Martínez, T. G., Aguilar-Salinas, C. A., Hernández-Licon, G., Barquera S. (2018). Evolución del

gasto, costo y consumo de alimentos y bebidas en México. En: La obesidad en México. *Instituto Nacional de Salud Pública*, México. 73-88.

- Rodríguez-Roque, M. J., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2015). Impact of food matrix and processing on the *in vitro* bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *Journal of Functional Foods*, 14, 33-43.
- Rodríguez-Burelo, R. M., Avalos-García, M. I., & López-Ramón, C. (2014). Consumo de bebidas de alto contenido calórico en México: un reto para la salud pública. *Salud en Tabasco*, 20(1), 28-33
- Rojas, M. L., Leite, T. S., Cristianini, M., Alvim, I. D., & Augusto, P. E. (2016). Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International*, 82, 22-33.
- Roobab, U., Aadil, R. M., Madni, G. M., & Bekhit, A. E. D. (2018). The impact of nonthermal technologies on the microbiological quality of juices: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 437-457.
- Ryan, L., & Prescott, S. L. (2010). Stability of the antioxidant capacity of twenty-five commercially available fruit juices subjected to an *in vitro* digestion. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(6), 1191-1197.
- Sadler, G. D., & Murphy, P. A. (2010). pH and titratable acidity. In: Food analysis. *Springer*, Boston. MA. 219-238.
- Safdar, M. N., Kausar, T., & Nadeem, M., (2017). Comparison of ultrasound and maceration techniques for extraction of polyphenols from the mango peel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(4), 1-9.
- Sala, F. J., Burgos, J., Condon, S., Lopez, P., & Raso, J. (1995). Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. In: New methods of food preservation. *Springer*, Boston, MA. 176-204.
- Salamone, M., Martella, R., & Bietti, M. (2012). Hydrogen abstraction from cyclic amines by the cumyloxyl and benzyloxyl radicals. The role of stereoelectronic

- effects and of substrate/radical hydrogen bonding. *The Journal of Organic Chemistry*, 77(19), 8556-8561.
- Santhirasegaram, V., Razali, Z., & Somasundram, C. (2013). Effects of thermal treatment and sonication on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1276-1282.
 - Sarethy, I. P., & Pan, S. (2017). Designer Foods: Scope for Enrichment with Microbe-Sourced Antioxidants. In Academic Press. *Microbial Production of Food Ingredients and Additives*. Elsevier, London. United Kingdom. 423-449.
 - Saura-Calixto, F., Pérez-Jiménez, J., Touriño, S., Serrano, J., Fuguet, E., Torres, J. L., & Goñi, I. (2010). Proanthocyanidin metabolites associated with dietary fibre from *in vitro* colonic fermentation and proanthocyanidin metabolites in human plasma. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(7), 939-946.
 - Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14, 111-125.
 - Schulze, M. B., Liu, S., Rimm, E. B., Manson, J. E., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2004). Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *The American journal of clinical nutrition*, 80(2), 348-356.
 - Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2019). Recuperado de: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Acceso: 17/07/2020.
 - Seshadri, R., Weiss, J., Hulbert, G. J., & Mount, J. (2003). Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions. *Food Hydrocolloids*, 17(2), 191-197.
 - Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., & Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers*, 147, 444-454.
 - Sin, H. N., Yusof, S., Hamid, N. S. A., & Rahman, R. A. (2006). Optimization of enzymatic clarification of sapodilla juice using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 73(4), 313-319.

- Singh, G. M., Micha, R., Khatibzadeh, S., Lim, S., Ezzati, M., & Mozaffarian, D. (2015). Estimated global, regional, and national disease burdens related to sugar-sweetened beverage consumption in 2010. *Circulation*, 132(8), 639-666.
- Slavin, J. (2008). Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. *Journal of the American Dietetic Association*, 108(10), 1716-1731.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417-1435.
- Sorrivas, V., Morales, A., and Yañez, M. J. (2014). Principios y práctica de la microscopía electrónica. In: Introducción, fundamentos de la microscopia electrónica. *Bahía Blanca*, 57-76.
- Sosa-Herrera, M. G., & Delgado-Reyes, V. A. (2016). Propiedades funcionales y aplicaciones tecnológicas de fructanos. *OmniaScience Monographs*. 97-116.
- Sosa-Herrera, M.G., & Delgado-Reyes, V.A. (2016). Propiedades funcionales y aplicaciones tecnológicas de fructanos. *Alimentos Funcionales de Hoy*, 97-116.
- Stintzing, F., Herbach, K., Mobhammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappa, S., Akoh, C. C., Brunch, R. & Felker, P. (2005). Color, betalains pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia spp*) clones. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 53: 442-451.
- Strahsburger, E., Retamales, P., Estrada, J., & Seeger, M. (2016). Método de la microgota: usando con agar cromogénico es un procedimiento útil para el monitoreo sanitario en acuicultura. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 44(4): 742-749.
- Syed, F., Syed, N., Muhammad, R., Muhajir, H., Noorjahan, A., Nik, A., & Nik, R. (2016). Anti-cancer effect of *Annona muricata* Linn Leaves Crude Extract (AMCE) on breast cancer cell line. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 16(1): 2-18.
- Tagliazucchi, D., Verzelloni, E., Bertolini, D., & Conte, A. (2010). In vitro bio-accessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. *Food Chemistry*, 120(2), 599-606.
- Taylor, L. (2002). Graviola (*Annona muricata*). In: Prima Publishing. *Herbal Secrets of the Rainforest*, 1-10.

- Terefe, N. S., Gamage, M., Vilku, K., Simons, L., Mawson, R., & Versteeg, C. (2009). The kinetics of inactivation of pectin methylesterase and polygalacturonase in tomato juice by thermosonication. *Food Chemistry*, 117(1), 20-27.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7): 669-675.
- Tiwari, B. K., Muthukumarappan, K., O'donnell, C. P., & Cullen, P. J. (2008). Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 41(10), 1876-1883.
- Tiwari, B. K., O'Donnell, C. P., Muthukumarappan, K., & Cullen, P. J. (2009b). Effect of sonication on orange juice quality parameters during storage. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(3), 586-595.
- Tiwari, B. K., O'donnell, C. P., Patras, A., Brunton, N., & Cullen, P. J. (2009a). Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. *Food Chemistry*, 113(4), 1119-1126.
- Tiwari, B. K., O'donnell, C. P., & Cullen, P. J. (2009c). Effect of non-thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. *Trends in Food Science & Technology*, 20(3-4), 137-145.
- Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P. J., & O'donnell, C. P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(3), 598-604.
- Umme, A., Asbi, B. A., Salmah, Y., Junainah, A. H., & Jamilah, B. (1997). Characteristics of soursop natural puree and determination of optimum conditions for pasteurization. *Food Chemistry*, 58(2), 119-124.
- Umme, A., Bambang, S., Salmah, Y., & Jamilah, B. (2001). Effect of pasteurization on sensory quality of natural soursop puree under different storage conditions. *Food Chemistry*, 75(3), 293-301.
- USDA. (2020). Food data central: guava raw, banana raw, orange raw. Available from: [https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/. Accessed: 20/09/2020.](https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/)

- Vercet, A., Lopez, P., & Burgos, J. (1999). Inactivation of heat-resistant pectinmethylesterase from orange by manothermosonication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 432-437.
- Versteeg, C., Rombouts, F.M., Spaansen, C.H., & Pilnik, W. (1980). Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *Journal of Food Science*, 45, 969–972.
- Von-Philipsborn, P., Stratil, J. M., Burns, J., Busert, L. K., Pfadenhauer, L. M., Plus, S., & Rehfues, E. (2019). Environmental interventions to reduce the consumption of sugar sweetened beverages and their effects on health. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (6), 1-3.
- Wootton-Beard, P. C., & Ryan, L. (2011). A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. *Journal of Functional Foods*, 3(4), 329-334.
- Wu, J., Gamage, T. V., Vilku, K. S., Simons, L. K., & Mawson, R. (2008). Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(2), 186-195.
- Yajid, Al., Ab-Rahman, HS., Wong, MPK., & Wan-Zain, WZ. (2018) Potencial benefits of *Annona muricata* in combating cancer: A review. *Malays Journal of Medical Sciences*. 25(1): 5-15.
- Yang, C., Gundala, S., Mukkavilli, R., Vangala, S., D.Reid, M., & Aneja, R. (2015) Synergistic interactions among flavonoids and acetogenins in Graviola (*Annona muricata*) leaves confer protection against prostate cancer. *Oxford University Press*, 36(6), 656-65.
- Yuan, Y., Hu, Y., Yue, T., Chen, T., & Lo, Y. M. (2009). Effect of ultrasonic treatments on thermoacidophilic *Alicyclobacillus acidoterrestris* in apple juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(3), 370-383.
- Zafra-Rojas, Q. Y., Cruz-Cansino, N., Quintero-Lira, A., Gómez-Aldapa, C., Alanís-García, E., Cervantes-Elizarrarás, A., & Ramírez-Moreno, E. (2016). Application of ultrasound in a closed system: optimum condition for antioxidants extraction of blackberry (*Rubus fruticosus*) residues. *Molecules*, 21(7), 950.

- Zafra-Rojas, Q. Y., Cruz-Cansino, N., Ramírez-Moreno, E., Delgado-Olivares, L., Villanueva-Sánchez, J., & Alanís-García, E. (2013). Effects of ultrasound treatment in purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1283-1288.
- Zenker, M., Heinz, V., & Knorr, D. (2003). Application of ultrasound-assisted thermal processing for preservation and quality retention of liquid foods. *Journal of Food Protection*, 66(9), 1642-1649.
- Zhang, L., Liao, L., Qiao, Y., Wang, C., Shi, D., An, K., & Hu, J. (2020). Effects of ultrahigh pressure and ultrasound pretreatments on properties of strawberry chips prepared by vacuum-freeze drying. *Food Chemistry*, 303, 1-8.
- Zhao, C., Giusti, M.M., Malik, M., Moyer, M.P., & Magnuson, B.A. (2004). Effects of commercial anthocyanin-rich extracts on colonic cancer and nontumorigenic colonic cell growth, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6122–6128.
- Zheng, L., & Sun, D. W. (2006). Innovative applications of power ultrasound during food freezing processes-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 17(1), 16–23.
- Zou, T. B., Xia, E. Q., He, T. P., Huang, M. Y., Jia, Q., & Li, H. W. (2014). Ultrasound-assisted extraction of mangiferin from mango (*Mangifera indica* L.) leaves using response surface methodology. *Molecules*, 19(2), 1411-1421.
- Zou, Y., & Jiang, A. (2016). Effect of ultrasound treatment on quality and microbial load of carrot juice. *Food Science and Technology*, 36(1), 111-115.