

# ESTUDIO DE LA APLICACIÓN DE ULTRASONIDOS DE POTENCIA EN LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE UN JUGO MIXTO DE FRUTAS Y VEGETALES

Ruiz-De Anda Daniela (1,2), Ventura-Lara María Guadalupe (1,2), Rodríguez-Hernández Gabriela (2), Abraham-Juárez Ma. del Rosario (2), Ozuna César (2)

<sup>1</sup> [Licenciatura en Ingeniería en Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [d.ruizdeanda@ugto.mx]

<sup>2</sup> [Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [cesar.ozuna@ugto.mx]

## Resumen

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonidos de potencia (UP) en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas en un jugo de naranja y apio. Muestras de 100 mL de jugo fueron sonicadas en ausencia de luz a diferentes tiempos (0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 min) en un baño de UP (20 kHz; 120 W) a  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ . Posteriormente, las muestras fueron envasadas y almacenadas en oscuridad ( $4^\circ\text{C}$ , 24 h). Finalmente, se analizó el pH, °Brix, porcentaje de acidez titulable, color, nube, pardeamiento no enzimático y la carga microbiológica en cada una de las muestras. Los resultados muestran que el pH, °Brix y porcentaje de acidez titulable no se vieron significativamente afectados por la aplicación de UP ( $p > 0.05$ ). Por otro lado, el incremento del tiempo de la exposición a los UP produjo un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el color global, la nube, el pardeamiento no enzimático y una reducción de la carga microbiológica de las muestras. Por lo tanto, el uso de UP representa una tecnología no térmica que puede contribuir a preservar la calidad de un jugo de naranja y apio.

## Abstract

The aim of this research was to evaluate the effect of power ultrasound (PU) application on physicochemical and microbiological properties of orange and celery juice. Samples of 100 mL of juice were sonicated in the absence of light at different times (0, 15, 30, 45, 60, 75, and 90 min) in a PU bath (20 kHz, 120 W) at  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ . Subsequently, the samples were packaged and stored in the dark ( $4^\circ\text{C}$ , 24 h). Finally, the pH, °Brix, the percentage of titratable acidity, color, cloud, non-enzymatic browning, and the microbiological load in each of the samples were analyzed. The results show that the pH, °Brix, and percentage of titratable acidity were not significantly affected by the application of PU ( $p > 0.05$ ). On the other hand, the increase in the time of exposure to PU produced a significant increase ( $p < 0.05$ ) in the overall color, cloud, enzymatic browning and a reduction in the microbiological load of the samples. Therefore, the use of UP represents a non-thermal technology that can contribute to quality preservation in orange and celery juice.

## Palabras Clave

Apio; Naranja; Propiedades Fisicoquímicas; Color; Calidad microbiológica

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, los consumidores son más conscientes de los daños que los alimentos industrializados pueden provocar en su salud. Por tal motivo, existe una creciente demanda de alimentos frescos y naturales, lo que impulsa a la industria alimentaria a buscar nuevos métodos de conservación que permitan prolongar la vida útil y las propiedades organolépticas y nutritivas del producto final [1]. Los tratamientos térmicos, pese a ser efectivos para reducir la carga microbiológica en los alimentos tratados, se encuentran estrechamente relacionados con la pérdida de las propiedades fisicoquímicas, nutritivas y organolépticas del producto final [2]. Por otro lado, el uso de conservadores químicos muestra cierto rechazo por parte del consumidor debido a los efectos toxicológicos que estos representan a la salud humana [3, 4]. En consecuencia, en los últimos años existe un gran interés por el uso de tecnologías no térmicas, tal es el caso de los ultrasonidos de potencia (UP), para reemplazar a las tecnologías convencionales con el objetivo de preservar la calidad e inocuidad de los alimentos [5, 6].

Diversos estudios demuestran el uso efectivo de la sonicación y la termosonicación (ultrasonido+calor) como una alternativa a la pasteurización en diversos jugos de frutas y vegetales [7-11]. En estos trabajos se afirma que el uso de UP permite mantener la calidad fisicoquímica, microbiológica y retener una mayor cantidad de nutrientes y compuestos con actividad biológica en el producto final. Sin embargo, a pesar de existir trabajos de esta naturaleza, todavía son escasos las investigaciones donde se estudie el efecto de UP en matrices líquidas complejas, tales como un jugo combinado. Por tal motivo, el objetivo general de este trabajo fue estudiar el efecto de la aplicación de UP sobre las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de un jugo mixto de frutas y vegetales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materia prima y elaboración del jugo

El apio y la naranja fueron adquiridos en la central de abastos de la ciudad de Irapuato, Guanajuato. Para la obtención del jugo, la materia prima se lavó y desinfectó. En el caso del apio, se excluyeron las hojas del tallo. Se extrajo el jugo del apio y de la naranja de forma individual, empleando un extractor comercial (Turmix, Standard, México). Finalmente, con base en resultados previos de evaluación sensorial, se determinó que la formulación óptima del jugo sería de una relación de 30:70 (V/V) para apio y naranja, respectivamente.

### Tratamiento asistido por ultrasonido de potencia

Muestras de 100 mL de jugo de naranja y apio fueron depositadas en matraces Erlenmeyer de 250 mL. Posteriormente, los matraces fueron sonicados en ausencia de luz a diferentes tiempos (0, 15, 30, 45, 60, 75 y 90 min) en un baño de ultrasonidos (20 kHz; 120 W; ULTRASONOS HD, Selecta, España) con capacidad de 5 L a una temperatura controlada de  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ . Al finalizar el tratamiento, las muestras fueron envasadas en frascos de vidrio y almacenadas en oscuridad a una temperatura de  $4^\circ\text{C}$  durante 24 h previo a su análisis.

### Sólidos solubles totales ( $^\circ\text{Brix}$ ), pH y porcentaje de acidez titulable

La determinación de  $^\circ\text{Brix}$  se realizó empleando un refractómetro (MASTER-50H, ATAGO, Japón) a  $20^\circ\text{C}$  [7]. El pH se midió a través de un medidor de pH digital (Thermo Scientific™, Orion Star A214, EUA) [7]. La acidez titulable se determinó siguiendo el método No. 942.15 de la AOAC [12]. Para la determinación se colocaron 10 mL de muestra, 90 mL de agua destilada y 3 gotas de fenolftaleína en un matraz Erlenmeyer de 250 mL. La mezcla fue titulada con una solución estandarizada de NaOH a 0.1 N hasta alcanzar el cambio de color. El porcentaje de acidez titulable se calculó con base al ácido cítrico empleando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez titulable} = \frac{\text{mL de NaOH gastado} \times \text{normalidad de la base} \times \text{factor del ácido} \times 100}{\text{mL de la muestra}}$$

## Color

Las coordenadas cromáticas de las muestras se midieron usando un colorímetro (Hunterlab, ColorFlex EZ, EUA) de acuerdo con el sistema CIE  $L^* a^* b^*$ ; donde la  $L^*$  mide luminosidad en una escala de 0 a 100, de negro a blanco;  $a^*$  indica (+) rojo o (-) verde; y  $b^*$  indica (+) amarillo o (-) azul. La diferencia global de color en las muestras sonicadas en comparación con la fresca (tiempo=0 min) se calculó empleando la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}; \Delta L = L - L_0; \Delta a = a - a_0; \Delta b = b - b_0;$$

donde  $L_0$ ,  $a_0$  y  $b_0$  representan los valores las coordenadas cromáticas del jugo fresco.

## Nube (turbidez)

La medición se realizó empleando el método propuesto por Paniagua-Martínez et al. [13]. Para la determinación se tomó una alícuota de 1.5 mL del jugo, se colocó en un tubo Eppendorf y se centrifugó a 3600 rpm durante 10 min a 4°C. Finalmente, al sobrenadante obtenido se le midió la absorbancia a 660 nm y temperatura ambiente empleando un espectrofotómetro UV-Vis (Thermo Scientific™, GENESYS 10S, EUA).

## Pardeamiento no enzimático

Esta determinación se llevó a cabo de acuerdo con el método descrito por Cohen et al. [14] con ligeras modificaciones. Se tomaron 10 mL de jugo, los cuales fueron depositados en un tubo Eppendorf y centrifugados a 7800xg durante 10 min. Posteriormente, se tomaron 5 mL del sobrenadante y se mezclaron con 5 mL de alcohol etílico al 95%. Finalmente, se midió la absorbancia utilizando un espectrofotómetro (Thermo Scientific™, GENESYS 10S, EUA) a 420 nm y temperatura ambiente.

## Análisis microbiológico

La determinación de la carga microbiana se llevó a cabo siguiendo los protocolos propuestos por las Normas Oficiales Mexicanas (NOM) vigentes. La NOM-092-SSA1-1994 [15] fue empleada para la cuenta total de bacterias aerobias, mientras que la NOM-111-SSA1-1994 [16] fue empleada para hongos y levaduras. Los resultados se expresaron como Log de unidades formadoras de colonias (UFC) por mL de muestra de jugo.

## Análisis estadístico

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) con un análisis *post-hoc* de Tukey. Para determinar diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las formulaciones, los datos experimentales se analizaron mediante el programa estadístico Statgraphics versión 16.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del tiempo de la aplicación de UP (20 kHz, 120 W) a  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  en el pH, sólidos solubles totales ( $^\circ\text{Brix}$ ), porcentaje de acidez titulable y las coordenadas cromáticas del jugo tratado se muestra en la Tabla 1. Respecto a los valores obtenidos en pH,  $^\circ\text{Brix}$  y porcentaje de acidez titulable, el incremento del tiempo de la aplicación de UP no provocó cambios significativos sobre estas variables ( $p > 0.05$ ). Los resultados obtenidos en esta investigación son similares con los reportados por Abid et al. [7], Saeeduddin et al. [8] y Santhirasegaram et al. [9] para jugos de manzana, pera y mango, respectivamente, tratados por UP.

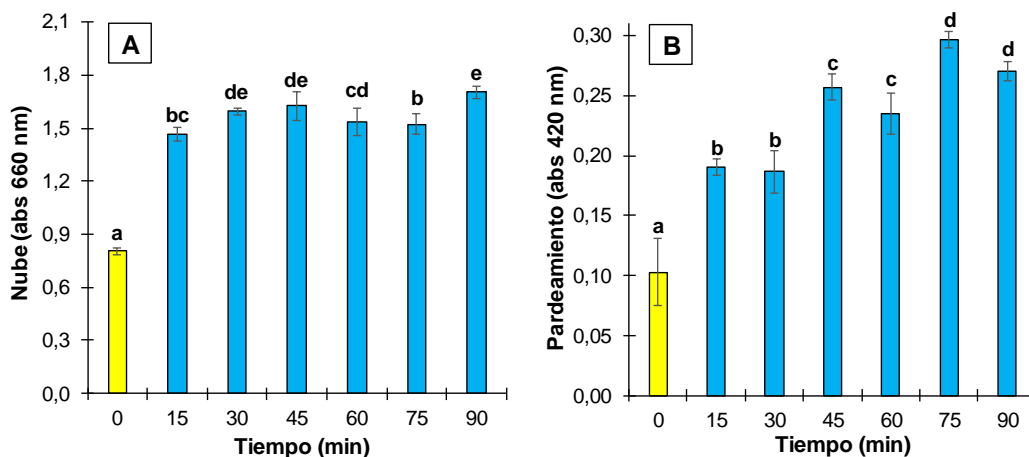
En el caso del efecto del tiempo de aplicación de UP sobre las coordenadas cromáticas del jugo tratado, se encontraron cambios significativos ( $p < 0.05$ ) con respecto al control ( $t=0$  min). En términos generales, se observó un aumento en la luminosidad de las muestras y una disminución en las coordenadas cromáticas  $a^*$  y  $b^*$  al incrementar el tiempo del tratamiento con UP. Estos cambios pueden ser debidos a que la energía acústica puede inducir una isomerización acelerada de los carotenoides presentes en el jugo o a las reacciones de oxidación que ocurren como resultado a las interacciones con radicales libres que se generan durante la sonicación [17].

**Tabla 1.** Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonidos de potencia (20 kHz, 120 W) a 20±5°C en el pH, °Brix, porcentaje de acidez y coordenadas cromáticas en jugo de naranja y apio. Los superíndices a, b, c, d, e y f muestran grupos homogéneos establecidos a partir de los intervalos de Tukey ( $p<0.05$ ).

| Tiempo (min) | pH                     | °Brix                  | Acidez (%)             | Coordenadas cromáticas  |                          |                          |                        |
|--------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|
|              |                        |                        |                        | L*                      | a*                       | b*                       | ΔE                     |
| 0            | 3.94±0.18 <sub>a</sub> | 8.10±0.29 <sub>a</sub> | 0.38±0.01 <sub>a</sub> | 52.68±0.07 <sub>a</sub> | -0.43±0.03 <sub>e</sub>  | 44.02±14 <sub>e</sub>    | -                      |
| 15           | 3.95±0.19 <sub>a</sub> | 8.18±0.24 <sub>a</sub> | 0.39±0.01 <sub>a</sub> | 52.91±0.06 <sub>b</sub> | -0.39±0.01 <sub>ef</sub> | 43.22±0.1 <sub>d</sub>   | 0.83±0.16 <sub>a</sub> |
| 30           | 3.94±0.15 <sub>a</sub> | 8.21±0.27 <sub>a</sub> | 0.39±0.01 <sub>a</sub> | 52.85±0.06 <sub>b</sub> | -0.35±0.01 <sub>f</sub>  | 43.03±0.09 <sub>bc</sub> | 1.01±0.09 <sub>a</sub> |
| 45           | 3.95±0.14 <sub>a</sub> | 8.21±0.27 <sub>a</sub> | 0.39±0.01 <sub>a</sub> | 53.87±0.09 <sub>c</sub> | -0.68±0.01 <sub>b</sub>  | 43.15±0.03 <sub>cd</sub> | 1.50±0.16 <sub>b</sub> |
| 60           | 3.95±0.16 <sub>a</sub> | 8.21±0.27 <sub>a</sub> | 0.38±0.01 <sub>a</sub> | 53.43±0.08 <sub>d</sub> | -0.60±0.02 <sub>c</sub>  | 42.85±0.13 <sub>b</sub>  | 1.40±0.15 <sub>b</sub> |
| 75           | 3.94±0.14 <sub>a</sub> | 8.20±0.29 <sub>a</sub> | 0.38±0.01 <sub>a</sub> | 53.11±0.02 <sub>c</sub> | -0.49±0.01 <sub>d</sub>  | 43.18±0.07 <sub>cd</sub> | 0.94±0.17 <sub>a</sub> |
| 90           | 3.94±0.14 <sub>a</sub> | 8.21±0.27 <sub>a</sub> | 0.38±0.01 <sub>a</sub> | 53.97±0.04 <sub>e</sub> | -0.76±0.01 <sub>a</sub>  | 42.56±0.06 <sub>a</sub>  | 1.97±0.10 <sub>c</sub> |

Respecto al cambio global de color ( $\Delta E$ ) de las muestras sonicadas en comparación con el control, estos valores incrementaron conforme aumentó el tiempo de exposición de UP, alcanzando valores de hasta 1.97±0.10 a los 90 min del tratamiento (Tabla 1). Esta tendencia fue similar a la reportada por Santhirasegaram et al. [9] en jugo de mango sonicado (40 kHz; 130 W) durante 60 min. Choi et al. [10] indican que a partir de un valor de  $\Delta E$  de 2 se presenta una diferencia notable en la percepción visual en productos alimentarios. Por lo tanto, con el resultado obtenido en esta investigación se puede concluir que la aplicación de UP en un periodo de 0 a 90 min, no afecta la calidad visual del jugo de naranja y apio sonicado.

La Imagen 1 muestra el efecto del tiempo del tratamiento de UP sobre la nube o turbidez y el pardeamiento no enzimático del jugo de naranja y apio. En términos generales, se observa que el incremento del tiempo de exposición a la energía acústica provocó un aumento significativo en el valor de la nube y el pardeamiento de las muestras tratadas ( $p<0.05$ ). En el caso de la nube (Imagen 1A), un aumento en su valor (0.80±0.01 a 1.70±0.03) indica que existe una mejora en la estabilidad del jugo. Esta estabilidad puede ser atribuida a que la aplicación de UP puede inducir la ruptura de moléculas de mayor tamaño a un tamaño menor, debido al gradiente de alta presión que se ejerce por el colapso de las burbujas de cavitación [7].



**IMAGEN 1.** Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonidos de potencia (20 kHz, 120 W) a 20±5°C en la nube (A) y pardeamiento (B) en jugo de naranja y apio. Los superíndices a, b, c, d y e muestran grupos homogéneos establecidos a partir de los intervalos de Tukey ( $p<0.05$ ).

Por otro lado, el pardeamiento no enzimático (Imagen 1B), considerado como el oscurecimiento de los jugos provocado por las reacciones de Maillard, mostró un aumento significativo en su valor de  $0.10 \pm 0.02$  a  $0.29 \pm 0.01$ , lo cual es congruente con los cambios observados en las coordenadas cromáticas del producto tratado. Los resultados obtenidos tanto para la nube como para el pardeamiento no enzimático son similares a los obtenidos por Aadil et al. [18] en jugo de toronja sonicado (28 kHz; 600 W) a  $20^\circ\text{C}$  durante 60 min.

La Imagen 2 muestra el efecto del tiempo de exposición a la energía ultrasónica sobre la carga de mesófilos aerobios (Imagen 2A), hongos y levaduras (Imagen 2B) en el jugo de naranja y apio tratado. En términos generales, el incremento de aplicación de UP produjo una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en la cuenta total de estos microorganismos. La reducción de la carga bacteriana puede ser atribuida a los efectos de la cavitación sobre la membrana celular de los microorganismos, tales como el incremento de temperatura, presión del líquido y generación de radicales  $\cdot\text{OH}$  [19]. Resultados similares a los obtenidos en esta investigación fueron reportados para jugos de manzana [7], mango [9], lima [20] y zanahoria [11] donde se reportó que la aplicación de UP produjo una disminución significativa de la carga microbiológica de las muestras tratadas.

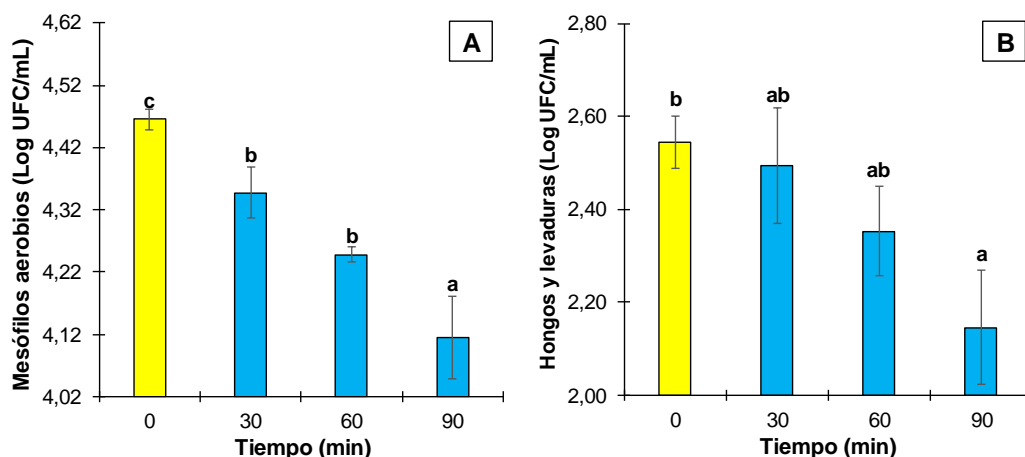


Imagen 2. Efecto del tiempo de aplicación de ultrasonidos de potencia (20 kHz, 120 W) a  $20 \pm 5^\circ\text{C}$  en la carga de mesófilos aerobios (A) y hongos y levaduras (B) en jugo de naranja y apio. Los superíndices a, b y c muestran grupos homogéneos establecidos a partir de los intervalos de Tukey ( $p < 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, la aplicación de UP resultó ser una tecnología no térmica apta para la conservación de las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de un jugo combinado de naranja y apio. Además de producir un jugo visualmente parecido al fresco, la aplicación de UP contribuyó a la estabilidad e inocuidad del producto final. Sin embargo, futuras investigaciones deben centrarse en estudiar la influencia de esta tecnología en las propiedades sensoriales y bioactivas de jugos mixtos de frutas y vegetales. Además, es importante estudiar la posible combinación de los UP con otras tecnologías no térmicas para la conservación de jugos mixtos.

## REFERENCIAS

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] Aneja, K. R., Dhiman, R., Aggarwal, N. K., & Aneja, A. (2014). Emerging preservation techniques for controlling spoilage and pathogenic microorganisms in fruit juices. *International Journal of Microbiology*, 2014, 1-15.
- [4] Rupasinghe, H. V., & Yu, L. J. (2012). Emerging preservation methods for fruit juices and beverages. En *Food Additive. InTech*. 65-82.
- [5] Paniagua-Martínez, I., Ramírez-Martínez, A., Serment-Moreno, V., Rodrigues, S., & Ozuna, C. (2018a). Non-thermal technologies as alternative methods for *Saccharomyces cerevisiae* inactivation in liquid media: a Review. *Food and Bioprocess Technology*, 487-510.
- [6] Xue, Z., Li, J., Yu, W., Lu, X., & Kou, X. (2016). Effects of non-thermal preservation technologies on antioxidant activity of fruits and vegetables: A review. *Food Science and Technology International*, 22(5), 440-458.
- [7] Abid, M., Jabbar, S., Wu, T., Hashim, M., Hu, B., Lei, S., Zhang, X., Zeng, X. (2013) Effect of ultrasound on different quality parameters of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 1182-1187
- [8] Saeeduddin, M., Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Khan, M. A., & Zeng, X. (2016). Physicochemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of sonicated pear juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 51(7), 1552-1559.
- [9] 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.
- [10] Choi, M. H., Kim, G. H & Lee, H. S. (2002). Effects of ascorbic acid retention on juice colour and pigments stability in blood orange (*Citrus sinensis*) juice during refrigerated storage. *Food Research International*, 35, 753-759.
- [11] 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.
- [12] AOAC (2000). Official methods of analysis of AOAC International, (17th ed.), Gaithersburg, MD, USA: AOAC.
- [13] Paniagua-Martínez, I., Mulet, A., García-Alvarado, M. A., & Benedito, J. (2018). Orange juice processing using a continuous flow ultrasound-assisted supercritical CO<sub>2</sub> system: Microbiota inactivation and product quality. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 47, 362-370.
- [14] Cohen, E., Birk, Y., Mannheim, C. H., & Saguy, I. S. (1998). A rapid method to monitor quality of apple juice during thermal processing. *LWT-Food Science and Technology*, 31(7-8), 612-616.
- [15] Norma Oficial Mexicana (1994). 092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México: Diario Oficial de la Federación.
- [16] Norma Oficial Mexicana (1994). 111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. México: Diario Oficial de la Federación.
- [17] Mason, T. J. (1991). Practical sonochemistry user's guide to application in chemistry and chemical engineering. UK: Ellis Horwood.
- [18] Aadil, M., Zeng, X., Han, Z., & Sun, D. (2013) Effects of ultrasound treatments on quality of grapefruit juice. *Food Chemistry*, 141, 3201-3206
- [19] Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: chemical aspects. *Food Research International*, 35(2-3), 279-284.
- [20] 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.