



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

---

---

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA  
COLEGIO DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**“Aplicación de factores abióticos emergentes (ultrasonido de potencia y luz UV-C) en zanahoria (*Daucus carota*) y su efecto sobre compuestos bioactivos con capacidad antioxidante”**

Tesis presentada como requisito para obtener el título de:  
**Licenciatura en Ingeniería en Alimentos**

Presenta:

**Victoria Sánchez Espíndola**

Director de Tesis:

**M.C. Hector Ruiz Espinosa**

Co-Director de Tesis:

**Dr. Carlos Enrique Ochoa Velasco**

**Agosto 2016**

## AGRADECIMIENTOS

La presentación de este trabajo refleja el esfuerzo, la dedicación de muchos años de estudio y la culminación una de las etapas más anheladas y esperadas de mi vida. Para iniciar, agradezco a mi mamá por mostrarme siempre su amor incondicional, confianza, paciencia y por darme alas para volar muy alto; Agradezco a mi abuelita Susana, todos sus cuidados, regaños y sus consejos para guiarme. Ambas lograron darme todo para ser feliz, las amo.

Continuando, agradezco al M.C. Héctor Ruiz Espinosa, por aceptar dirigir esta Tesis, además de su apoyo y confianza brindado a cada momento, incluyendo las anécdotas que surgían espontáneamente; al Dr. Carlos E.Ochoa Velasco, a mi co-director de Tesis por su constante y paciente seguimiento durante la realización este trabajo así como a la Dra. Paola Hernández Carranza y el Dr. Irving I.López Ruíz por sus sugerencias y comentarios que permitieron enriquecer este escrito.

Durante la realización de esta Tesis compartí espacio en el laboratorio con personas que con el transcurrir de los días me brindaron su amistad de manera sincera gracias Montse González, Manuel Tlahuiz, Ari Gallegos, Karen Armenta, Hilda Elías.

Los verdaderos amigos son pocos, pero son los suficientes para escucharte, comprenderte y quererte en tus mejores y peores momentos, Karina León, Vania Janeiro y Sebastián Camargo gracias por su amistad, desde tiempos inmemorables soñábamos con ser ingenieros y hoy somos colegas. Agradezco a Gustavo Méndez por su compañía durante los largos días de trabajo, su comprensión, sus consejos y sus palabras de aliento cuando se presentaban dificultades a lo largo del trabajo, eres muy importante para mí, queda cerca.

Gracias a la vida por este nuevo triunfo y a todas las personas que directa o indirectamente apoyaron y creyeron en la realización de esta Tesis.

**¡Gracias!**

*Victoria*

# ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
General.....	3
Específicos.....	3
HIPÓTESIS.....	3
CAPITULO I ANTECEDENTES.....	4
1.1 Origen e historia del cultivo de zanahoria.....	4
1.1.1 Producción de zanahoria.....	4
1.1.2 Descripción botánica y taxonómica.....	5
1.1.3 Composición nutricional.....	6
1.2 Generalidades de antioxidantes.....	7
1.2.1 Compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante.....	8
1.2.1.1 Flavonoides.....	11
1.2.2 Carotenoides.....	13
1.2.2.1 Clasificación.....	13
1.2.2.2 Funciones antioxidantes de los carotenoides.....	13
1.3 Ultrasonido.....	14
1.3.1 Efectos del ultrasonido.....	14
1.3.2 Clasificación del ultrasonido.....	16
1.3.3 Aplicación de ultrasonido de potencia en alimentos.....	16
1.4 Luz Ultravioleta.....	18
1.4.1 Fuente de Luz UV.....	19
1.4.2 Aplicación de luz UV en alimentos.....	20
1.5 Estrés en plantas.....	21
1.5.1 Tipos de factores de estrés.....	21
1.5.2 Uso de estrés abiótico en productos de origen vegetal.....	21
CAPITULO II METODOLOGÍA.....	23
2.1 Pruebas preliminares.....	23

2.2	Equipos.....	23
2.2.1	Cámara de luz ultravioleta onda corta (UV-C).....	23
2.2.2	Ultrasonido de potencia (US).....	24
2.2.2.1	Dispositivo adaptable a US para prismas triangulares.....	25
2.2.2.2	Dispositivo adaptable a US para extracto mecánico.....	26
2.3	Extracción asistida por tecnologías emergentes selectas.....	26
2.3.1	Acondicionamiento del vegetal.....	26
2.3.2	Preparación de extractos.....	27
2.4	Carotenoides.....	28
2.5	Flavonoides.....	28
2.6	Compuestos Fenólicos .....	29
2.7	Capacidad Antioxidante.....	29
2.8	Diseño Experimental.....	30
CAPITULO III DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....		31
3.1	Extracción de compuestos bioactivos sin asistencia de US y luz UV-C....	31
3.2	Extracción asistida con luz UV-C (extractos etanólicos).....	34
3.3	Extracción asistida con US (extracto acuoso) .....	42
3.4	Extracción asistida por US (extracto mecánico).....	50
IV CONCLUSIONES.....		55
V BIBLIOGRAFÍA.....		56
VI ANEXOS.....		63
6.1	Curvas de calibración.....	63
6.2	Energía específica de los tratamientos determinada a partir de la potencia eléctrica neta reportada por el equipo.....	64
6.3	Análisis Estadístico de la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante .....	65
6.4	Análisis ANOVA de los porcentajes de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante .....	87

## Índice de Figuras

	Página
<b>Figura 1.1</b> Corte transversal en zanahoria.....	6
<b>Figura 1.2</b> Estructura de compuestos fenólicos.....	10
<b>Figura 1.3</b> Flavonoides (lado izquierdo) y Carotenoides (lado derecho). Estructura básica y tipos.....	12
<b>Figura 1.4</b> Cavitación ultrasónica.....	15
<b>Figura 1.5</b> Espectro electromagnético.....	18
<b>Figura 2.1</b> Cámara de Luz UV-C.....	24
<b>Figura 2.2</b> Ultrasonido de potencia.....	25
<b>Figura 2.3</b> Dispositivo adaptable al ultrasonido para muestras sólidas. .....	25
<b>Figura 2.4</b> Dispositivo adaptable al ultrasonido para muestras líquidas.....	26
<b>Figura 3.1</b> Porcentaje de incremento de carotenoides, flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto etanólico asistido con UV-C .....	38
<b>Figura 3.2</b> Porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto acuoso asistido con US a 50% de amplitud.....	47
<b>Figura 3.3</b> Porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto acuoso asistido con US a 100% de amplitud.....	47
<b>Figura 3.4</b> Porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto mecánico asistido con US a 50% de amplitud .....	52
<b>Figura 6.1</b> Curva de calibración del estándar ácido gálico para el contenido total de compuestos fenólicos (Folin-Ciocalteu)...	63
<b>Figura 6.2</b> Curva de calibración del estándar Trolox para la capacidad antioxidante (DPPH) .....	63

## Índice de Tablas

	Página
<b>Tabla 1.1</b> Taxonomía de la zanahoria.....	5
<b>Tabla 1.2</b> Composición nutricional de zanahoria (valor nutricional por cada 100 g de producto fresco).....	7
<b>Tabla 1.3</b> Concentración relativa de compuestos fenólicos en tejidos vegetales.....	9
<b>Tabla 1.4</b> Ejemplos de extracción asistida por ultrasonidos en algunos alimentos.....	17
<b>Tabla 3.1</b> Concentración de compuestos bioactivos presentes en zanahoria, utilizando diferentes métodos de preparación para la muestra. ....	32
<b>Tabla 3.2</b> Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto etanólico asistido con luz UV-C.....	36
<b>Tabla 3.3</b> Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto acuoso sonicado a 50% de amplitud.....	43
<b>Tabla 3.4</b> Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto acuoso sonicados a 100% de amplitud.....	45
<b>Tabla 3.5</b> Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto mecánico sonicado a 50% de amplitud.....	50
<b>Tabla 6.1</b> Potencia eléctrica teórica del equipo, coeficiente específico de energía reportada por el procesador ultrasónico para los tratamientos realizados.....	64
<b>Tabla 6.2</b> Porcentaje de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto etanólico asistido con luz UV-C.....	87
<b>Tabla 6.3</b> Porcentaje de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto acuoso asistido con US a 50 y 100% de amplitud.....	87
<b>Tabla 6.4</b> Porcentaje de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto mecánico asistido con US a 50% de amplitud.....	87

## INTRODUCCIÓN

Los alimentos se pierden o desperdician a lo largo de toda la cadena alimentaria, desde la producción agrícola inicial hasta el consumo final en los hogares. Se tiene conocimiento que cerca de un tercio de los alimentos producidos para el consumo humano se desperdician en el mundo (FAO, 2011). Dicho despendio se debe en gran medida a que muchas frutas y vegetales no cumplen con los estándares de calidad (peso, tamaño y apariencia de los cultivos) establecidos por los canales preferentes de comercialización (p.e. supermercados) quienes se niegan a comprarlos aunque posean el mismo valor nutricional; esto redundando en un impacto negativo en los ingresos de agricultores y limita las opciones de compra de los consumidores. Si bien, algunos cultivos desechados se emplean como alimento animal, los estándares de calidad desvían alimentos concebidos en un principio para el consumo humano hacia otros usos.

Actualmente, uno de los enfoques en investigación relacionado con antioxidantes se basa en el uso de factores abióticos como temperatura, luz, pH, concentración de iones metálicos y no metálicos, contaminantes, hiperoxia, lesiones por daño mecánico, irradiación entre otras, que permitan incrementar la concentración de componentes bioactivos en productos de origen vegetal a partir de una respuesta de defensa del producto a estos factores (Jacobo-Velázquez *et al.*, 2011). Entre las verduras, la zanahoria es uno de más vendidos y consumidos de manera fresca o mínimamente procesados; su consumo mayoritariamente es en trozos, rayada, entera (zanahoria baby) y como jugo, su venta a nivel mundial ha aumentado en parte por la percepción de los efectos positivos para la salud relacionados con este producto (Martínez-Flores *et al.*, 2014; Du *et al.*, 2012), debido a que su consumo está asociado con la reducción en el riesgo de padecer enfermedades crónico-degenerativas (cardiovasculares, cáncer, aterosclerosis, entre otras), varias de ellas asociadas con la edad y/o inducidas por presencia de radicales libres, las cuales tienen la capacidad de inducir oxidación de biomoléculas mismo.

En estudios anteriores, se ha demostrado que los cortes en zanahorias frescas, en combinación con otros tipos de estrés abiótico actúan sinérgicamente en la acumulación de compuestos bioactivos (Du *et al.*, 2012). Avena-Bustillos *et al.* (2012) demostró que el contenido de fenoles solubles totales de productos de zanahoria (zanahoria entera, zanahoria pelada, zanahoria baby y zanahoria en rodajas) podía mejorarse a través de una baja dosis de tratamiento UV-B (130.4 mJ/cm<sup>2</sup>). Ellos concluyeron que las zanahorias en rodaja tuvieron mayor contenido de fenoles solubles totales. Esos resultados sugirieron que el estilo de corte y área expuesta eran importantes factores para la determinación de la capacidad de respuesta al tratamiento con UV). Por otro lado, se ha aplicado ultrasonido y temperaturas bajas en jugo de zanahoria con el objetivo de reducir carga microbiana, retener compuestos bioactivos y prolongar vida útil, obteniendo resultados satisfactorios al mantenerse bajo crecimiento microbiano durante 20 días y un incremento en el contenido fenólico en todos los tratamientos y retención de más del 98% de los carotenoides a 58°C (Martínez-Flores *et al.*, 2014).

En esta investigación, se propone someter a estrés abiótico con tecnologías emergentes selectas (radiación UV y ultrasonido de potencia) a zanahoria con apariencia objetable (deformidades, torcidas, etc.) y que por tanto resultaran no conformes con estándares de calidad de supermercados; con ello, se buscará explorar la influencia de estos tratamientos sobre la concentración y actividad de compuestos antioxidantes específicos.

## **OBJETIVOS**

### *General*

Evaluar el efecto de la aplicación de ultrasonido de potencia y luz UV-C como factor abiótico sobre la concentración de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante presentes en zanahoria (*Daucus carota* L.).

### *Objetivos Específicos*

- Determinar el efecto de tratamiento con ultrasonido de potencia a dos amplitudes sobre la concentración de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante, en cortes de zanahoria
- Determinar el efecto de tratamiento con luz UV-C sobre la concentración de compuestos fenólicos, carotenoides, flavonoides y capacidad antioxidante, en cortes de zanahoria.
- Determinar el efecto de tratamiento con ultrasonido de potencia a una amplitud sobre concentraciones de compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante, en jugo de zanahoria.

## **HIPÓTESIS**

El tratamiento con ultrasonido de potencia y luz UV-C afectarán de manera positiva la cantidad de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de zanahoria.

# I ANTECEDENTES

## 1.1 Origen e historia del cultivo de zanahoria

La zanahoria (*Daucus carota* L.) ha sido cultivada hace más 3.000 años en Asia, en la región que hoy ocupa Afganistán. Las primeras zanahorias eran blancas, violetas y amarillas. Los griegos y los romanos utilizaron las zanahorias con propósitos medicinales. Durante la Edad Media la zanahoria servía como tinte para la mantequilla y en Francia la hoja se utilizaba para decorar peinados y sombreros. La primera referencia escrita de consumo de zanahorias se ha encontrado en antiguos escritos españoles del siglo XII en los que se señala el consumo de zanahoria con aceite, vinagre y sal. La zanahoria que se conoce actualmente fue desarrollada por los holandeses en el siglo XVII. Es a partir de esta época cuando comienzan las primeras plantaciones en América. En el siglo XIX el descubrimiento de las vitaminas y fundamentalmente el de la vitamina A (retinol) presente en los carotenoides (pigmentos naranjas o amarillos) encontrados en las zanahorias y otros vegetales adquirieron una gran importancia en la alimentación; sirviendo estos útiles para la prevención de la ceguera nocturna. Por este motivo, durante la Segunda Guerra Mundial a los aviadores británicos se les proporcionaban grandes cantidades de zanahorias en sus comidas (Tirador, 2011).

### 1.1.1 Producción de zanahoria

Si bien el cultivo de zanahoria, ha experimentado un importante crecimiento en los últimos años, tanto en superficie, como en producción. Los principales países productores son: China principal productor, con un crecimiento sostenido, representa 24% del total mundial), Estados Unidos (10.6% del total mundial), que junto a Rusia, Polonia y Japón, los cuales en conjunto producen un poco más del 50% del total mundial; siendo los principales demandantes de zanahoria los países industrializados de Europa y América destacándose Alemania, Bélgica, Francia, Canadá y Estados Unidos (Tirador, 2011). En este contexto México no es uno de los principales

productores de zanahoria a nivel mundial, sin embargo en 2014 se generó una producción de 331,069.04 toneladas (SIAP, 2015).

### 1.1.2 Descripción botánica y taxonómica

La zanahoria proviene de la familia de *Umbelliferae* y su nombre científico es *Daucus carota* L., su clasificación taxonómica se especifica en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1** Taxonomía de la zanahoria.

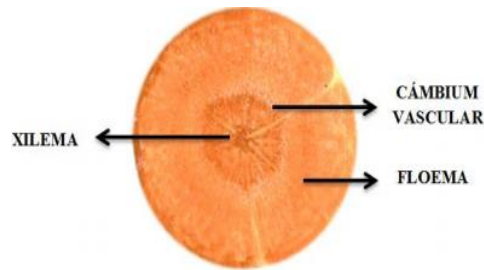
<b>Taxonomía y Nomenclatura</b>	
Familia	<i>Umbelliferae</i>
Reino	Vegetal
Subreino	Embriofitas
Clase	Angiosperma
Subclase	Dicotiledónea
Genero	<i>Daucus</i>
Especie	<i>Carota</i>

Adaptada de Naranjo-Freire (2015).

Esta planta bianual durante el primer año se forma una roseta de pocas hojas y la raíz. Después de un periodo de descanso, se presenta un tallo corto en el que se forman las flores durante la segunda estación de crecimiento. La raíz tiene la función de almacenar y también presenta numerosas raíces secundarias que sirven como órganos de absorción. Las flores son de color blanco (Olvera-Castelán, 2007).

El tejido exterior de la zanahoria consta de un peridermo, cuya función es reducir la pérdida de humedad y evitar el ataque de microorganismos. La región interna o corazón consta de un xilema y una medula (Olvera- Castelán, 2007). La zanahoria se encuentra constituida por una corteza llamada floema y por un centro llamado xilema. La constitución de la zanahoria de corte transversal se indica en la Fig. 1.1 Generalmente el floema contiene alrededor de un 30% más de pigmento que el xilema. Mientras que las raíces que contienen una relación floema/xilema más alta tienen mayor peso

específico y mayor contenido de azúcares totales y sacarosa. Además el floema de las zanahorias es más rico en materia seca que el xilema (Naranjo-Freire, 2015).



**Figura 1.1** Corte transversal en zanahoria (Naranjo-Freire, 2015).

En cuanto a las características de la raíz, ésta es fusiforme, jugosa y carnosa, de sabor dulce [su sabor y olor característicos se deben principalmente a la presencia de compuestos volátiles mayoritariamente terpenos, sesquiterpenos y azúcares (Hurtado-Díaz *et al.*, 2013)], de largo y color variables, representando la parte comestible de la hortaliza. La raíz se diferencia según: dimensión (larga, media, corta); forma (cónica, cilíndrica, fusiforme); tipo de ápice (redondeado, filiforme, obtuso); color externo (rojo, anaranjado, amarillo, violáceo), relación entre corteza y corazón y el color de estos tejidos; consistencia (fibrosa, leñosa, crocante), según Tirador (2011).

### 1.1.3 Composición nutricional

La zanahoria es reconocida nutricionalmente como una fuente importante de  $\beta$ -caroteno, el cual es un precursor de la vitamina A, así como vitamina B y C, a las cuales se les atribuyen propiedades anticarcinogénicas (Olvera-Castelán, 2007). La composición nutricional de la zanahoria se muestra en la Tabla 1.2. El agua es el componente más abundante, seguido de los hidratos de carbono, siendo estos nutrientes los que aportan energía, también es fuente de vitamina E y vitaminas del grupo B como los folatos y la Niacina. En cuanto a minerales, destaca su alto contenido en potasio (Hurtado-Díaz *et al.*, 2013).

**Tabla 1.2** Composición nutricional de zanahoria (valor nutricional por cada 100 g de producto fresco)

<b>Componente</b>	<b>Contenido en zanahoria</b>
Agua	88.29 g
Energía	41 kcal
Proteína	0.93 g
Lípidos	0.24 g
Carbohidratos	9.58 g
Fibra dietética	2.8 g
Azúcares totales	4.74 g
<b>Vitaminas</b>	
Vitamina A	16706 UI
Vitamina C	5.9 mg
Tiamina	0.066 mg
Rivoflavina	0.058 mg
Niacina	0.983 mg
Vitamina B6	0.138 mg
Folato	19 µg
<b>Minerales</b>	
Calcio	33 mg
Hierro	0.30 mg
Magnesio	12 mg
Fosforo	35 mg
Potasio	320 mg
Sodio	69 mg
Zinc	0.24 mg

Obtenida de USDA (2016).

## 1.2 Generalidades de los antioxidantes

Los compuestos antioxidantes poseen una estructura química apropiada para reaccionar fácilmente con un radical libre, de modo que, desde el punto de vista químico, un antioxidante es una sustancia que evita o retrasa la oxidación de otra; esta

acción se realiza mediante la reducción del agente oxidante para lo cual los antioxidantes deben tener una estructura química que permita la donación de iones hidrógenos o de electrones como resultado de dicha interacción (Flores-Maltos *et al.*, 2010). Los radicales libres se forman en el organismo mediante la respiración aeróbica y existen en diferentes formas como: anión superóxido, hidroxilos, peróxidos, y alcóxilos. Son dañinos ya que pueden reaccionar con componentes celulares importantes como el ADN o las membranas (González-Jiménez, 2010).

Sin embargo, las defensas natas del cuerpo humano pueden no ser suficientes para aliviar el estrés oxidativo, el cual está relacionado con el origen y desarrollo de enfermedades crónicas, como la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), enfermedades cardiovasculares, daño oxidativo al ADN, cáncer y alteración de la visión (Drago Serrano *et al.*, 2006; Flores-Maltos *et al.* 2010). Por lo tanto, ciertas cantidades de antioxidantes exógenos naturales (hidrosolubles y liposolubles) son recomendadas para mantener un nivel adecuado de antioxidantes con el fin de equilibrar los radicales libres (Flores-Maltos *et al.*, 2010). Los principales compuestos que tienen actividad antioxidante son: carotenoides, fosfolípidos, tocoferoles (vitamina E), vitamina C, compuestos fenólicos, pigmentos, y sistemas enzimáticos como la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Las vitaminas E, C, carotenos y los cofactores (Cu, Zn, Mn, Fe y Se) son importantes antioxidantes que funcionan de manera sinérgica inhibiendo la formación de radicales libres (González-Jiménez, 2010).

### **1.2.1 Compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante**

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por las plantas, algas y hongos, los cuales tienen una amplia gama de aplicaciones en la industria farmacéutica, cosméticos, suplementos dietéticos, alimentos e industrias (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013). En la Tabla 1.3 se muestra la concentración relativa en tejidos vegetales de estos compuestos fenólicos presentes en la naturaleza, se conocen aproximadamente 4000, siendo los flavonoides el grupo más importante. Un número

considerable de fenoles monocíclicos simples, quinonas fenólicas, lignanos, xantonas se incluyen en esta clasificación, al igual que materiales poliméricos tales como ligninas, lignanos, melaninas y taninos (González-Jiménez, 2010).

**Tabla 1.3** Concentración relativa de compuestos fenólicos en tejidos vegetales

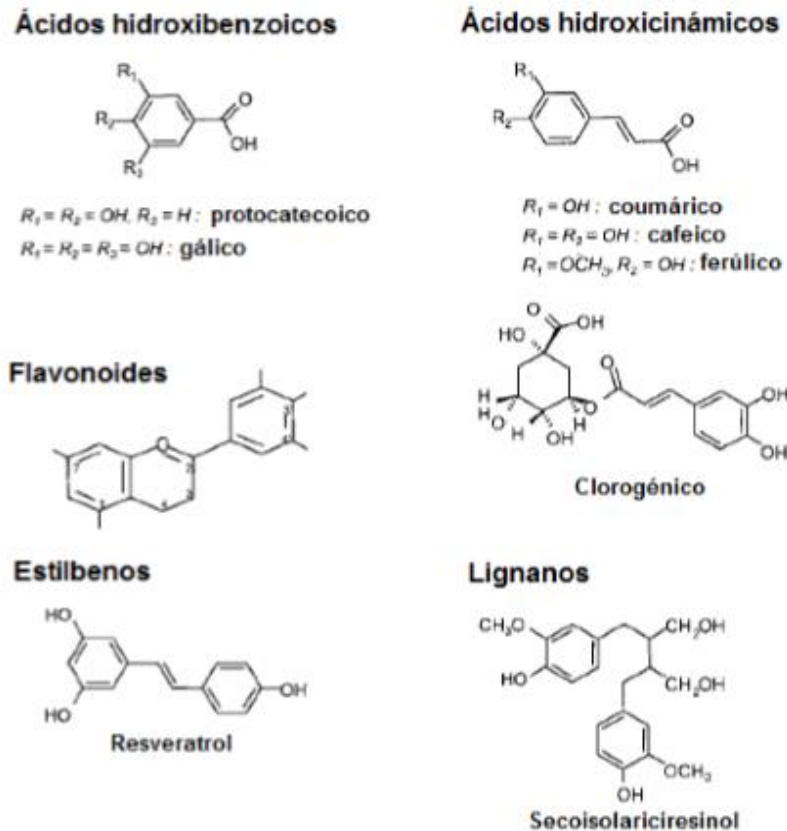
Tejido	Concentraciones relativas
Fruto	ácidos cinámicos > catequinas leucoantocianinas (flavan-3,4-dioles) > flavonoles
Hojas	flavonoles ácidos cinámicos > catequinas leucoantocianinas
Tronco	catequinas leucoantocianinas > flavonoles > ácidos cinámicos
Corteza	Al igual que en el tronco pero en altas concentraciones

Obtenida de González-Jiménez (2010).

Químicamente los compuestos fenólicos se pueden definir como sustancias que poseen anillos aromáticos (Fig.1.2) con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales; esta característica les confiere una acción antioxidante. Es importante señalar que son los compuestos bioactivos más abundantes en la dieta, ya que se trata de un amplio grupo de compuestos que se pueden clasificar de acuerdo al número de anillos fenólicos que contienen y a los elementos estructurales enlazados en los anillos en: ácidos fenólicos (hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos), flavonoides, estilbenos y lignanos (Olivera-Fox, 2012).

La mayoría de dichos compuestos se pueden encontrar en las frutas, siendo estos una excelente fuente de polifenoles mayor a las verduras, aunque la mejor fuente algunas bebidas como el vino tinto, café y té. Aunque, sólo algunos polifenoles se consideran importantes en los alimentos y en la misma alimentación, estos compuestos son: el ácido gálico, sináptico, ferúlico, cafeico, p-cumárico, y sus derivados así como los flavonoides y sus glucósidos. Las antocianinas y flavonoles son pigmentos importantes en una gran variedad de frutas y verduras. Mientras que la mayoría de los polifenoles no son pigmentos, son de igual importantes pues son responsables de la pérdida de

color, principalmente el oscurecimiento, que se desarrolla durante el almacenamiento y procesamiento de frutas y verduras, formando parte de las reacciones de oscurecimiento enzimático y no enzimático (González-Jiménez, 2010).



**Figura 1.2.** Estructura de compuestos fenólicos (Olivera-Fox, 2012).

Una de las principales propiedades de los compuestos fenólicos es su capacidad antioxidante, esta capacidad antioxidante se puede considerar como la actividad biológica responsable de inhibir la oxidación de biomoléculas importantes promoviendo un efecto preventivo sobre determinadas enfermedades asociadas con el estrés oxidativo tales como cáncer, cardiovasculares y neurodegenerativas. Esta actividad de los compuestos fenólicos parece estar relacionada con su capacidad quelante, inhibición de la lipoxigenasa y captura de radicales libres, aunque en ocasiones también pueden promover reacciones de oxidación *in vitro* (González-Jiménez, 2010). Entre los compuestos fenólicos con una reconocida capacidad antioxidante destacan los flavonoides (quercetina, kaemferol, miricetina), los ácidos fenólicos (gálico, coumárico,

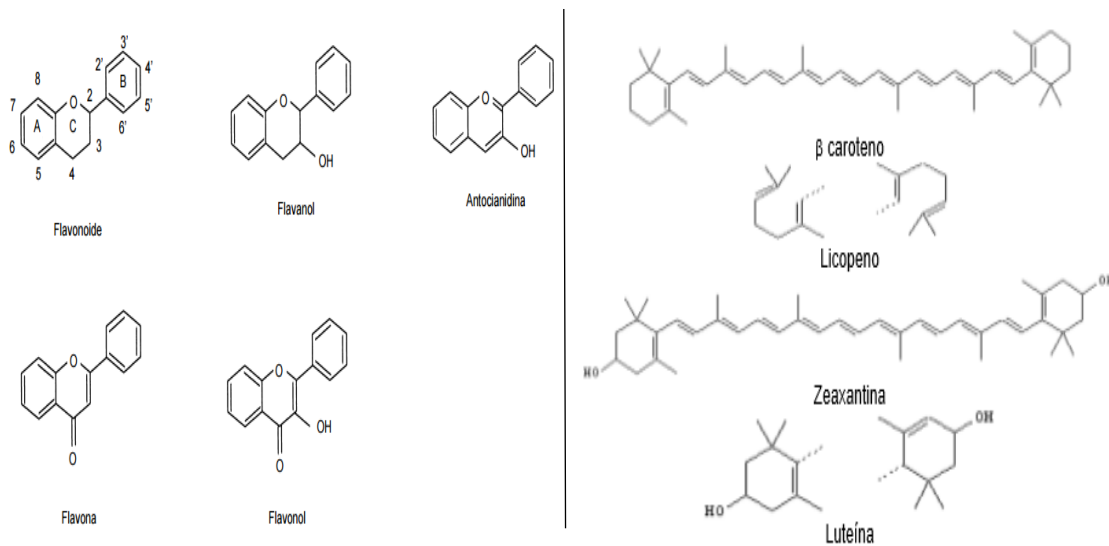
caféico, clorogénico) y taninos (elagitaninos); los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos de origen vegetal. Si bien, la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos varía en función del grupo de compuesto estudiado y de su solubilidad. Sin embargo, en general se puede decir que esta propiedad va a depender de la estructura química de los compuestos y de la presencia de grupos hidroxilo presentes en la molécula. Además, va a depender de su bioaccesibilidad en el alimento y su biodisponibilidad en el tracto gastrointestinal (Quirós-Sauceda *et al.*, 2012; Olivera-Fox, 2012).

### 1.2.1.1 Flavonoides

Uno de los dos grupos de compuestos fenólicos son los flavonoides; estos son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Químicamente, los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos ( $C_6-C_3-C_6$ ), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2 al 6 (Fig. 1.3). Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. En función de sus características estructurales se pueden clasificar en: flavanos, flavonoles, flavonas, antocianidinas (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer. Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen

fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica (Martínez-Flórez *et al.*, 2002).



**Figura 1.3** Flavonoides (lado izquierdo) y Carotenoides (lado derecho). Estructura básica y tipos (Martínez-Flórez *et al.*, 2002; Olivera-Fox, 2012).

### 1.2.2 Carotenoides

Los carotenoides son compuestos tetraterpenoides, formados por ocho unidades de isoprenos y biosintetizados a partir del precursor isopentenil pirofosfato, el cual proviene del ácido mevalónico (Olivera-Fox, 2012). Esta subclase de terpenos se encuentra en los pigmentos de color amarillo intenso, naranja y rojo de los vegetales como el tomate, el perejil, la naranja, la toronja roja, la espinaca, el aceite de palma, la yema de huevo, etc. La familia de los carotenoides, de los cuales existen más de 600 compuestos, incluyen dos tipos de moléculas: carotenos y xantofilas. Por otro lado, los carotenos, incluyen alfa, beta y épsilon caroteno, los únicos que poseen actividad como vitamina A. El beta-caroteno es el más activo. Estos carotenos, conjuntamente con el gama-

caroteno, el licopeno y la luteína (que no tienen actividad como vitamina A), parecen ofrecer protección contra algunas enfermedades (Chasquibol *et al.*, 2003).

### **1.2.2.1 Clasificación**

Como se menciona anteriormente, los carotenoides se clasifican principalmente en dos grupos: carotenos y xantofilas. Los carotenos presentan una estructura que solo contiene carbono e hidrogeno; en tanto que las xantofilas, además de poseer carbón e hidrogeno, contienen oxígeno en forma de grupos sustituyentes como hidroxilo, carbonilo y epóxido. Entre los carotenoides más comunes se encuentra el  $\beta$ -caroteno, licopeno, zeaxantina, luteína, entre otros (Fig. 1.3). Los carotenoides son responsables de los colores amarillos, anaranjados y rojos que presentan los alimentos, los tallos, flores y hojas de plantas, bacterias y algunos animales invertebrados marinos. En los tejidos verdes se localiza en los cloroplastos y en los tejidos rojos, anaranjados y amarillos se encuentra en los cromoplastos. Estos compuestos junto con las antocianinas y clorofilas, son los pigmentos vegetales de mayor distribución en la naturaleza. Por su diversidad estructural y numerosas funciones, están involucrados en la fotosíntesis. Solo algunos de los carotenoides presentes en los alimentos son precursores de la vitamina A1, como es el caso del  $\beta$ -caroteno y otros carotenoides que poseen anillo  $\beta$  no sustituido (Olivera-Fox, 2012).

### **1.2.2.2 Funciones antioxidantes de los carotenoides**

Los carotenoides previenen y protegen la salud de los seres humanos, por su significativa capacidad antioxidante. También se ha demostrado que intervienen en la respuesta inmune y en la comunidad celular *in vivo*, ya que regulan la expresión de algunos genes. Varios estudios epidemiológicos han mostrado una relación entre el alto consumo de frutas y vegetales y una disminución en el riesgo de enfermedades degenerativas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y degeneración

muscular, debido principalmente a la presencia de compuestos con capacidad antioxidante (Olivera-Fox, 2012).

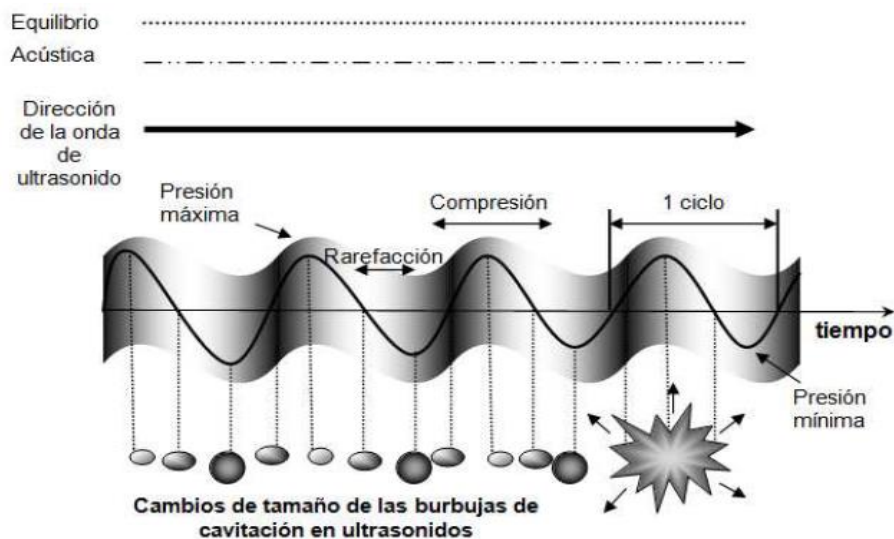
## **1.2 Ultrasonido**

Hoover (2000) define ultrasonido (US) como una forma de energía que viaja en ondas de sonido iguales o mayores a 20000, en unas ocupas, vibraciones por segundo. Por otra parte se define como ondas sonoras que tienen una frecuencia que excede el límite de audición del oído humano (16 KHz) (Awad *et al.*, 2012; Soria y Villamiel, 2010). La generación de US se fundamenta en la deformación elástica de materiales ferroeléctricos, dentro de un campo eléctrico de alta frecuencia y es causada por la mutua atracción de moléculas polarizadas en el campo. Para la polarización de las moléculas se debe transmitir una frecuencia alternante mediante dos electrodos hasta el material ferroeléctrico. Después se obtiene la conversión a oscilación mecánica y el sonido puede ser transmitido a un amplificador para finalmente transmitirse al medio. El ultrasonido es generado por una corriente eléctrica que se transforma mediante transductores, los más empleados son: transductores conducidos por líquidos, de magneto rígido y piezoeléctricos, estos últimos transductores son los más empleados para la generación de sonido y tienen cerca del 95% de eficiencia y pueden operar en todo el intervalo ultrasónico (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012).

### **1.3.1 Efectos del US**

Si bien, el efecto conservador del ultrasonido está asociado a los fenómenos complejos de cavitación gaseosa, que explican la generación y evolución de microburbujas en un medio líquido. La cavitación se produce en aquellas regiones de un líquido que se encuentran sometidas a presiones de alta amplitud que alternan rápidamente. Durante la mitad negativa del ciclo de presión, el líquido se encuentra sometido a un esfuerzo tensional y durante la mitad positiva del ciclo experimenta una compresión. El resultado es la formación ininterrumpida de microburbujas cuyo tamaño aumenta miles de veces

en alternancia de los ciclos de presión. Las microburbujas que alcanzan un tamaño crítico implosionan o colapsan violentamente para volver al tamaño original como se ve en la Fig. 1.4. La implosión supone la liberación de toda la energía acumulada, ocasionando incrementos de temperatura instantáneos y focales, que se disipan sin que supongan una elevación sustancial de la temperatura del líquido tratado. Sin embargo, la energía liberada, así, como el choque mecánico asociadas al fenómeno de implosión, afectan la estructura de las células situadas en el microentorno. Se considera que dependiendo de la frecuencia empleada y la longitud de las ondas de sonido, se pueden generar diferentes cambios físicos, químicos y bioquímicos que pueden emplearse en un sin número de aplicaciones en los diferentes campos industriales (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012).



**Figura 1.4** Cavitación ultrasónica. (Adaptación de Soria y Villamiel, 2010).

Por lo que, la combinación de los factores (calor, presión y turbulencia) que ocurren al aplicar ultrasonidos, puede acelerar la transferencia de masa en reacciones químicas, creando nuevas vías de reacción e incluso descomponiendo o generando productos distintos de los obtenidos en condiciones convencionales. Otro efecto a destacar del ultrasonido es el que ejerce sobre las moléculas de agua; ya que las puede romper generando radicales libres altamente reactivos ( $H_2O \rightarrow H + \bullet OH$ ) que pueden reaccionar y/o modificar otras moléculas (Hurtado-Díaz, 2013).

### **1.3.2 Clasificación del ultrasonido**

El US aplicado en alimentos se dividen en dos categorías: US de baja energía (alta frecuencia-baja intensidad) y ultrasonido de potencia (baja frecuencia-alta intensidad). El US de baja energía tiene frecuencias mayores a 100 kHz e intensidades menores a 1 W por lo que puede ser utilizado para análisis no invasivos y para obtener información de las propiedades fisicoquímicas del alimento como la firmeza, maduración, contenido de azúcar y acidez. Mientras que el ultrasonido de potencia utiliza intensidades mayores a 1 W y frecuencias entre 20 y 500 kHz, las cuales son destructivas e inducen efectos en las propiedades físicas, mecánicas o químicas de los alimentos (Awad et al., 2012; Soria y Villamiel, 2010).

### **1.3.3 Aplicación de US en alimentos**

Esta tecnología emergente ha sido utilizada como alternativa a las operaciones convencionales de procesado de alimentos para controlar la microestructura y modificar la textura de los productos grasos, emulsificarlos, modificar las propiedades funcionales de las diferentes proteínas de los alimentos, inactivación o aceleración de actividad enzimática para mejorar la vida de anaquel y la calidad de los productos, inactivación microbiana, congelamiento, secado y extracción de varios componentes bioactivos de los alimentos (Awad *et al.*, 2012; Soria y Villamiel, 2010). Cabe señalar que existe evidencia del uso de tecnologías emergentes como coadyuvantes en la extracción de compuestos fitoquímicos por ejemplo, se ha investigado la influencia del ultrasonido asistido para la extracción de polifenoles, en particular de flavonoides presentes en la cáscara de naranja, empleando como solvente el etanol, demostrando la eficacia en comparación con métodos convencionales cuya extracción puede causar la degradación de los compuestos fenólicos debido a las altas temperaturas (Khan *et al.*, 2010). Dubie *et al.* (2013), utilizó ultrasonido de alta intensidad para optimizar la extracción de antioxidantes en harina de semilla de mostaza, controlando variables

como la temperatura, proporción de disolvente, duración de la sonicación y la concentración de etanol; el ultrasonido no afecto la degradación de los antioxidantes presentes en la harina de semilla de mostaza. Además el ultrasonido, ha resultado ser un método eficaz para aumentar el rendimiento extractivo de compuestos bioactivos (entre un 6 y un 35%) en distintos alimentos (Hurtado-Díaz, 2013) (Tabla 1.4).

**Tabla 1.4** Ejemplos de extracción asistida por ultrasonidos en algunos alimentos

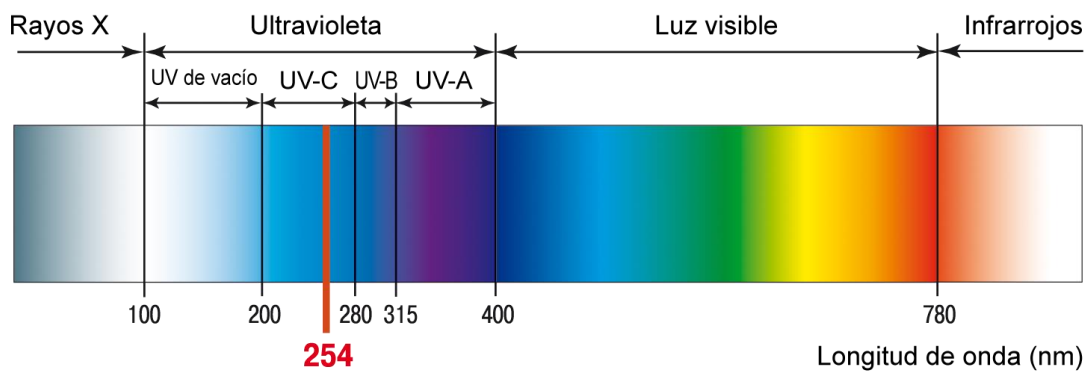
Compuestos	Producto	Solvente	Frecuencia (KHz)	Condiciones	Incremento (%)
β-carotenos	Zanahoria	Acuoso	24	T ambiente	15-25
		Etil-acetato	24	T ambiente	8-20
	Orujo de uva tinta	Acuoso	24	T ambiente	11-35
Polifenoles	Té negro	Acuoso	24	90° C	6-18
	Manzana	Acuoso	40	80 °C	6
Gingerol	Jengibre	CO <sub>2</sub> súper crítico	20	Presión (160 bar)	30

Obtenida de Hurtado-Díaz (2013).

## 1.4 Luz ultravioleta

La radiación es definida como la propagación y emisión de energía a través del espacio o la materia. El espectro electromagnético contiene diferentes tipos de radiación de distinto poder de penetración, frecuencia y longitud de onda, tales como las ondas de radio, rayos infrarrojos, luz ultravioleta, rayos X, radiación gama y los rayos cósmicos. La radiación UV ocupa una banda ancha de longitudes de onda de la región no ionizante del espectro electromagnético y se divide en varias regiones (Fig. 1.5) (Schenk, 2010).

Dentro de la región UV, la longitud de onda larga (UV-A) es la que produce cambios en la piel como envejecimiento, arrugas y pérdida de elasticidad, la longitud de onda media (UV-B) puede provocar cáncer de piel y la longitud de onda corta (UV-C) es la que causa el mayor daño e involucra alteraciones de las moléculas de ADN a través principalmente de la formación de dímeros de pirimidinas (timina y citosina) que se encuentran adyacentes, impidiéndose el apareamiento normal de bases e imposibilitando la reproducción. El daño causado en el ADN es proporcional a la cantidad de radiación UV a la que ha sido expuesto. Este efecto es letal para la mayoría de los microorganismos, incluyendo bacterias, virus, protozoos, hongos filamentosos, levaduras y algas. También puede ocasionar un efecto sobre las proteínas alterando sus funciones básicas dentro de la célula (Schenk, 2010).



**Figura 1.5** Espectro electromagnético (Schenk, 2010).

### 1.4.1 Fuentes de Luz UV

La radiación ultravioleta es parte de la radiación del sol que llega al planeta. La absorción de la radiación de onda corta por parte de la capa de ozono de la Tierra impide que cantidades significativas de UV-B y UV-C no puedan atravesar la capa de ozono que se ubica en la estratosfera (Schenk, 2010). Por ello las aplicaciones prácticas de desinfección UV dependen de fuentes artificiales de UV. Entre las fuentes de UV más comunes se encuentran las lámparas de arco de mercurio de baja y mediana presión, esta consiste de un tubo de sílice vítrea o cuarzo, el cual permite el máximo de la transmisión de la radiación UV (aprox. 90% de la energía irradiada), herméticamente cerrado y con electrodos a ambos extremos. El interior tubo se llena con una pequeña cantidad de mercurio y un gas inerte (habitualmente argón) cuya función es extender la vida útil de los electrodos y reducir las pérdidas térmicas. Dentro de la lámpara se encuentran también los electrodos de tungsteno a través de los cuales se aplicará el voltaje apropiado para la formación del arco de mercurio. La aplicación de alto voltaje provocará la excitación de los electrones de los átomos de mercurio pasando a un nivel de mayor energía. Al volver los electrones a su estado normal (a un nivel de energía menor) emitirán la energía restante en forma de luz ultravioleta (Wright y Cairns, 1998; Schenk, 2010).

Las lámparas de arco de mercurio de baja presión son usadas en la desinfección de agua, están diseñadas para operar a su óptima eficiencia con una temperatura de 40°C en la pared de lámpara y una potencia de arco eléctrico cercana a 0.3 W/cm. Bajo estas condiciones, la presión del vapor de mercurio dentro de la lámpara es de 0.9 Pascales y la mayor parte del mercurio dentro de la lámpara se encuentra en estado líquido. Mientras que las lámparas de arco de mercurio de mediana presión también son usadas en la desinfección de agua, sin embargo la temperatura de pared de la lámpara se encuentra entre 650 y 850 °C y todo el mercurio dentro de la lámpara se vaporiza a una presión de vapor cercana a 13 kPa. Debido a la alta temperatura del plasma, el mercurio vaporizado se encuentra en varios estados de excitación. Por lo que el paso de estos niveles de excitación a un nivel de energía menor da como resultado la

liberación de luz con diferentes longitudes de onda. Entonces, por lo menos 44% de la radiación total emitida por una lámpara de mediana presión es UV-B y UV-C (Wright y Cairns, 1998).

#### **1.4.2 Aplicación de luz UV en alimentos**

La luz ultravioleta de onda corta se comenzó a utilizar para la desinfección de superficies. Sin embargo con los años ha crecido el interés de aplicarlo como una tecnología de preservación de alimentos, por ser un proceso que posee destacadas ventajas (Schenk, 2010). Con finalidad de prevenir la posible oxidación de ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, carbohidratos, así como daños en la membrana de la célula vegetal ocasionados por especies reactivas de oxígeno (ERO), esta ha desarrollado mecanismos que involucran la síntesis de metabolitos secundarios y expresión de enzimas antioxidantes (Quintero-Cerón *et al.*, 2013)

Al respecto, se evaluó el efecto de la dosis de irradiación UV-C y tiempo de almacenamiento (15 días) sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y antioxidantes de frutas tropicales mínimamente procesadas (piña, mango y mamey). Las frutas fueron cortadas en rebanadas (paralelepípedos) y se sometieron a dosis de irradiación UV-C (0.7 y 14 kJ/m<sup>2</sup>). Las mayores características antioxidantes (contenido de fenoles totales y flavonoides) y menor recuento microbiológico se obtuvieron con la dosis de irradiación UV-C de 14 kJ/m<sup>2</sup> durante el almacenamiento (Márquez-Villacorta y Pretell-Vásquez, 2013). En el siguiente caso, se evaluó el choque térmico (HS, 100 C / 45 s) y radiación UV-C (0.78 ± 0.36 kJ/m<sup>2</sup>) en zanahorias frescas enteras para inducir la síntesis de compuestos bioactivos y prevenir el decaimiento en frutas y verduras recién cortadas, obteniendo como resultado un aumento tres veces mayor en el contenido de carotinoides después de su almacenamiento, para muestras taradas con UV-C (Alegría *et al.*, 2012).

## **1.5 Estrés en plantas**

Como organismos vivos, las plantas están expuestas a diversas tensiones durante su crecimiento. En el tema de la fisiología de las plantas, "estrés" es considerado como una desviación significativa de las condiciones óptimas para la vida, los cambios que suscitan y las respuestas a todos los niveles funcionales del organismo son reversibles al principio, pero también puede llegar a ser permanentes. Dado que las condiciones de estrés son potencialmente letales para la vida de las plantas, las plantas han desarrollado reacciones de respuesta al estrés para protegerse a sí mismos a un estado normal; la respuesta al estrés va a depender de la dosis. Un estrés bajo puede ser favorable para las plantas mediante la activación del metabolismo celular y actividad fisiológica sin dañar las plantas. Sin embargo, con dosis altas de estrés es probable que causen efectos perjudiciales o incluso llevar a la muerte si duran por mucho tiempo (Yu, 2014).

### **1.5.1 Tipos de factores de estrés**

Existen variadas clasificaciones de los factores de estrés. En general, estos pueden ser clasificados como factores bióticos y abióticos. El estrés biótico es causado por la acción de otros seres vivos: animales, otras plantas (por competencia, alelopatía, etc.), microorganismos (bacterias, hongos) y otros agentes fitopatógenos como los virus. El estrés abiótico, dependiendo del agente causal, puede dividirse en físicos y químicos. Entre los factores físicos se pueden mencionar el estrés por déficit o exceso de agua, temperatura (calor, frío, congelación), salinidad (en su componente osmótico) y radiación UV. Entre los factores químicos destacan la contaminación atmosférica por metales pesados, toxinas, salinidad (en su componente tóxico) y carencia de elementos minerales (Azcón- Bieto y Talón, 2008).

### **1.5.3 Uso de estrés abiótico en productos de origen vegetal**

Si bien, este tema ha sido de gran interés en el área alimenticia pues se ha estudiado el efecto que tienen los cortes (rectángulos, rodajas y en rebanadas de pastel) y la

hiperoxia en zanahoria respecto a su contenido fenólico. En dicho estudio, la zanahoria fue almacenada durante 48 horas a temperatura de 20 °C presentando un incremento en el contenido de fenoles totales y actividad enzimática (Jacobo-Velázquez, *et al.*, 2011) En un caso similar, se estudió la biosíntesis de antioxidantes y compuestos fenólicos en zanahoria bajo diferentes tipos de corte (rodajas de 5mm de espesor, rebanas de pastel, minúsculas tiras) durante el almacenamiento (8 días). Se demostró que conforme aumenta la intensidad del corte aumenta el contenido fenólico (97% rodajas, 76% rebanas de pastel y 252% minúsculas tiras), después de 4 días de almacenamiento (Surjadinata *et al.*, 2012).

## **II METODOLOGÍA**

### **2.1 Pruebas preliminares**

Con el objetivo de conocer el comportamiento de los compuestos bioactivos con capacidad antioxidante en zanahoria recién cortada, sometidas a tratamientos selectos de ultrasonido (US) como un factor de estrés abiótico, se desarrollaron y evaluaron dos dispositivos diferentes de acero inoxidable (vertical y horizontal) para contener la muestra durante el tratamiento de sonicación, así como la evaluación de dos tipos de cortes en zanahoria (enteras y prismas triangulares), los parámetros de tiempo de tratamiento fueron 15, 30, 60, 90, 120, 210 s, a amplitudes de 50 y 100%. En base a los resultados, se concluyó que al procesar zanahoria recién cortada en forma de prismas triangulares con tratamiento US utilizado el dispositivo horizontal se obtiene un mayor rendimiento en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante; siendo estas condiciones las adecuadas para su reproducibilidad. Es por ello, que se utilizará el dispositivo horizontal para las pruebas posteriores en zanahoria recién cortada en prisma triangular y sometido a tratamientos selectos con US. En lo que respecta a la aplicación de luz UV-C se evaluaron inicialmente tiempos de tratamiento (15, 30, 60, 90, 300 y 600 s) para posteriormente realizar dos tipos de extractos uno extracto acuoso y otro etanólico, teniendo mayor eficiencia el extracto etanólico, por lo que para las posteriores pruebas en zanahoria se eligieron los tiempos de exposición (30, 60, 90, 300 y 600 s) y el uso del solvente etanol para determinar los compuestos bioactivos.

### **2.2 Equipos**

#### **2.2.1 Cámara de luz ultravioleta onda corta (UV-C)**

Se utilizó una cámara de luz ultravioleta ensamblada en la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, la cual está integrada por 6 lámparas de luz UV-C marca Philips Aqua Coral TLD 15W/03 con una dimensión de

45cm cada una (Fig.2.1), colocadas en el interior de la cámara en el centro de cada cara con la finalidad de que la superficie de la muestra quede irradiada completamente.



**Figura 2.1** Cámara de Luz UV-C.

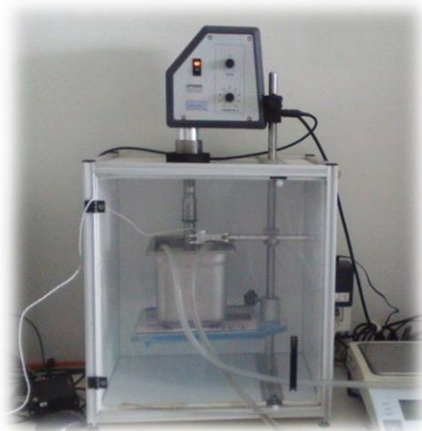
La dosis de intensidad de las lámparas es de  $5.8 \text{ W/m}^2$ , para calcular la dosis de irradiación con respecto al tiempo de tratamiento se utiliza la Ecuación 1.

$$Dosis = Intensidad \text{ de la lámpara } \left( \frac{W}{m^2} \right) * Tiempo (s)$$

(Ec.1)

### **2.2.2 Ultrasonido de potencia (US)**

Se utilizó un equipo de ultrasonido UP400S HIELSCHER (400 vatios, 24kHz) con sonotrodos de diferentes rangos de diámetro que van de 3 a 40 mm. El dispositivo es adecuado para volúmenes de muestra de 5 a 2000 mL; aproximadamente de 10 a 50 L por hora pueden ser tratados. Se utiliza para los métodos de tratamiento de líquidos, tales como homogeneización, dispersión, extracción y la ruptura hacia abajo de las células. El procesador de ultrasonido está conectado a un control de PC o un cable de conexión a una central de control de la planta del usuario con el fin de aumentar la seguridad del proceso. La alta potencia genera la cavitación intensiva requerida, pero el resultado es el ruido no deseado, lo cual incluye una caja de protección de sonido (Fig. 2.2).



**Figura 2.2** Ultrasonido de potencia.

### **2.2.2.1 Dispositivo adaptable a US para prismas triangulares**

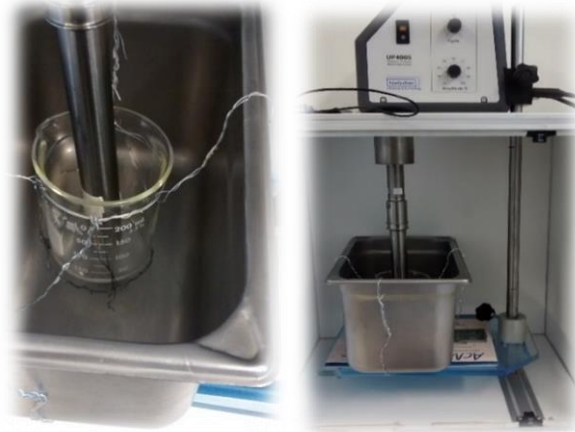
Se utilizó un dispositivo horizontal con una capacidad de 500 mL de acero inoxidable, en el cual se colocó la sonda del US, a través de un orificio recubierto con malla de acero inoxidable (5 cm de diámetro) que evita el contacto de la muestra sólida y la sonda (Fig.2.3).



**Figura 2.3** Dispositivo adaptable al ultrasonido para muestras solidas.

### 2.2.2.2 Dispositivo adaptable a US para jugo de zanahoria

Se utilizó un dispositivo horizontal con una capacidad de 2000 mL de acero inoxidable), al cual se adaptó un vaso de precipitados de 100 mL sujetado con alambres (acero inoxidable) sin que el vaso tocara la base del dispositivo, esto con el propósito de simular un baño frío, finalmente la sonda del US se colocó dentro del vaso de vidrio en contacto con la muestra, pero sin tocar la base (Fig.2.4).



**Figura 2.4** Dispositivo adaptable al generador de ultrasonido para muestras líquidas.

## 2.3 Extracción asistida por tecnologías emergentes selectas

### 2.3.1 Acondicionamiento del vegetal

Para esta investigación se utilizó zanahoria (*Daucus carota* L.) fresca, la cual se obtuvo de un establecimiento local de la ciudad de Puebla. Se seleccionaron zanahorias con tamaños y grosores semejantes entre sí, se les dio un acondicionamiento que consiste en la eliminación de materia extraña con agua.

### 2.3.2 Preparación de extractos

Se elaboraron tres extractos diferentes con base en las tecnologías emergentes empleadas; para las muestras asistidas con luz UV-C se realizó un extracto etanólico mientras que para las muestras asistidas con US se realizaron dos extractos (acuoso y mecánico).

**Extracto etanólico:** Se cortaron las zanahorias seleccionadas en prismas triangulares con un cuchillo, se colocaron 2 prismas triangulares de la muestra (equivalentes a 13 g) en la cámara de luz UV-C durante tiempos de 15, 30, 60, 90, 300 y 600 s. Posteriormente se mezclaron los prismas triangulares de zanahoria y 100 mL de etanol con una batidora de inmersión (Continental Electric, 60 Hz) durante 60 s y finalmente se filtraron con algodón para obtener la muestra. El control de cada extracto corresponde a la muestra sin tratamiento. Se realizó por duplicado cada tratamiento.

**Extracto acuoso:** Se cortaron las zanahorias seleccionadas en prismas triangulares con un cuchillo, se colocaron 4 prismas triangulares de la muestra (equivalentes a 60 g) en forma horizontal junto con 400mL de agua destilada en el dispositivo adaptable al US. Se aplicaron dos amplitudes una de 50 y 100% en tiempos de 15, 30, 60 y 90s, respectivamente. Posteriormente se licuan los prismas triangulares de zanahoria con el agua durante 25 s y finalmente se filtraron con algodón para obtener el extracto. El control de cada extracto corresponde a la muestra sin irradiación UV-C. Cada tratamiento se realizó por duplicado.

**Extracto mecánico:** Se elaboró jugo de zanahoria con un extractor comercial de jugos (120 V) , una vez obtenido el jugo se colocaron 110 mL en el dispositivo y se aplicó 50% de amplitud en tiempos de 15, 45, 75, 90 y 300 s, enseguida se filtró con algodón para obtener el extracto . El control de cada extracto corresponde a la muestra sin tratamiento sónico. Cada tratamiento se realizó por duplicado.

## 2.4 Carotenoides

El contenido de carotenoides se evaluó de acuerdo con la metodología de Luna-Guevara *et al.* (2014). Para las muestras sólidas, se tomaron 2 g de extracto y se homogenizaron durante 80 s con 10 mL de acetona al 90% (v/v) con una batidora de inmersión (Continental Electric, 60 Hz) durante posteriormente, se agitaron durante 30 min para extraer los carotenoides; la fase líquida resultante se filtró a través de algodón y se aforó a 25 mL con acetona (90%) y se realizó su lectura en el espectro UV-Vis. Para la obtención de carotenoides en muestras líquidas se tomó un 1 mL de jugo de zanahoria (extracto mecánico) y se diluyó con 2 mL de acetona al 90% v/v, se agitó e inmediatamente pasó a leerse espectrofotométricamente (Spectronic 20 génesis, E.U.A) a 470, 645 y 662 nm. La acetona se usó como blanco y el cálculo de carotenoides se realiza a través de las Ecuaciones 2, 3 y 4, mostrada a continuación.

$$C_a = 11.75Abs_{662} - 2.350Abs_{645} \quad (\text{Ec.2})$$

$$C_b = 18.61Abs_{645} - 3.96Abs_{662} \quad (\text{Ec.3})$$

$$C_c = \frac{1000Abs_{470} - 2.27C_a - (81.4C_b)}{227} \quad (\text{Ec.4})$$

Donde Abs es la absorbancia,  $C_a$  es la clorofila a,  $C_b$  es la clorofila b, y  $C_c$  es el contenido de carotenoides ( $\mu\text{g}$  de carotenoides / 100 g de muestra). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

## 2.5 Flavonoides

Los flavonoides se calcularon de acuerdo con la metodología reportada por Hernández-Carranza *et al.* (2015). En un tubo ámbar se combinaron 0.2 mL de jugo más 0.3 mL de

etanol y 0.5 mL de  $\text{NaNO}_2$  (1.5 %). La mezcla se agito durante 5 min en un vortex, transcurrido ese tiempo se agregó 1 mL de  $\text{AlCl}_3$  (3 %) se agito durante 1 min, por último se adiciono a la mezcla anterior 1 mL de  $\text{NaOH}$  (1 N) agitando durante 1 min. La concentración de la mezcla se midió utilizando un espectrofotómetro UV-vis (Spectronic 20 génesis, E.U.A) a 490 nm. Al blanco de muestra o del estándar se le adiciono agua en lugar del reactivo  $\text{AlCl}_3$ . El estándar de 50 ppm se utiliza para el blanco del estándar. Para la curva de calibración se utilizó catequina como estándar a partir de ella se obtuvo el contenido de flavonoides totales expresados como mg equivalentes de catequina (CE/100 g de muestra). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

## **2.6 Compuestos Fenólicos**

Los compuestos fenólicos fueron calculados de acuerdo a la metodología de Hernández-Carranza *et al.* (2015). En un tubo de vidrio ámbar se adicionó 1 mL de extracto con 1 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu 0.1N, el tubo se agitó con un vortex y 3 min después se agregó 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0.5%) y se dejó almacenado durante 30 minutos a temperatura ambiente; para el blanco de la muestra se adiciono agua en lugar de reactivo de Folin-Ciocalteu. Las lecturas de absorbancia fueron realizadas con un espectrofotómetro UV-Vis (Spectronic 20 génesis, E.U.A) a 765 nm. Para la curva de calibración se utilizó ácido gálico como estándar a partir de ella se obtuvo el contenido fenoles totales expresados como mg de equivalente de ácido gálico (EAG) / 100 g de muestra. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

## **2.7 Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante fue analizada empleando el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) (Luna-Guevara *et al.*, 2014). El grado de decoloración de la solución indico la eficiencia antioxidante de la sustancia agregada. Se agregó 200  $\mu\text{L}$  de extracto, 800  $\mu\text{L}$  de agua, 1 mL de radical DPPH a una concentración de 0.004 % y se

almacenó durante 30 min en ambiente oscuro a temperatura ambiente. Al blanco de la muestra se agregó etanol en lugar de DPPH. La absorbancia fue medida a 517 nm usando un espectrofotómetro UV-vis (Spectronic 20 génesis, E.U.A). Para la curva de calibración se utilizó Trolox (100 ppm) como solución estándar a partir de ella se obtuvo la capacidad antioxidante expresada en mg de Trolox / 100 g de muestra. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

## 2.8 Diseño Experimental

Todos los tratamientos implementados se hicieron de acuerdo a diseños experimentales completamente aleatorizados; para el caso de los tratamientos ultrasónicos y radiación UV-C se empleó el tiempo de exposición como única variable independiente. Las variables de respuesta fueron contenido de carotenoides ( $\mu\text{g}$  / 100g), flavonoides (mg de catequina / 100 g), compuestos fenólicos (mg de equivalentes de ácido gálico /100 g muestra), y capacidad antioxidante (mg de Trolox / 100g). Todas las pruebas se realizaron triplicado y cada tratamiento se llevó a cabo por duplicado. Los resultados se analizaron mediante ANOVA de una vía, para los tratamientos de ultrasonido y UV-C, empleando la prueba de Tukey para determinar la existencia de diferencias significativas entre las medias, considerando un valor de significancia de  $p < 0.05$ ; sin embargo para medir el porcentaje de incremento de las variables de respuesta, se hicieron equiparables utilizando la Ecuación 5, mostrada a continuación.

$$\% \text{ de incremento} = \left( \frac{a - b}{b} \right) * 100\%$$

(Ec.5)

*a = promedio de concentración de extracto asistido con luz UV o US*

*b = promedio de concentración de extracto control*

## III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Extracción de compuestos bioactivos sin asistencia US o UV-C

En la Tabla 3.1 se presentan los valores correspondientes a la concentración de compuestos bioactivos de muestras representativas de homogeneizados de zanahoria fresca en diferentes solventes, sin la aplicación de ningún tratamiento adicional. Aunque las muestras se obtuvieron del mismo lote de producto y de la misma matriz alimentaria se observan variaciones importantes en las concentraciones de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante. Esto puede atribuirse al tipo de solvente usado durante cada proceso, en la literatura se mencionan diferentes solventes de extracción para compuestos bioactivos a partir de productos frescos, tales como metanol, etanol, acetona, propanol, acetato de etilo y dimetilformamida, con o sin el agregado de agua y/o ácido (Paulino *et al.*, 2013) y por tanto, a las capacidades extractivas de los mismos o bien, al método de tratamiento de muestra desarrollado (especialmente para el caso de carotenoides). Las muestras sólidas destinadas a procesarse por UV-C fueron mezcladas con etanol puro mientras que las muestras sólidas para sonicación fueron homogeneizadas con agua destilada utilizadas para el proceso de sonicación de manera posterior al proceso respectivo; finalmente, la muestra líquida (jugo de zanahoria) fue simplemente filtrada. En el caso concreto de la prueba de determinación de carotenoides, ésta se realizó de manera independiente al resto de las pruebas, sin la necesidad de llevar a cabo una extracción previa y por ello los resultados no se incluyen en la Tabla 3.1; las variaciones en los controles se atribuyen a la materia prima empleada en cada proceso. Así, las muestras control para los tratamientos de UV-C, ultrasonido en muestra sólida y en jugo presentaron concentraciones de carotenoides de  $2140 \pm 657$ ,  $7135 \pm 584$  y  $4078 \pm 113$ , respectivamente.

Como puede observarse en la Tabla 3.1, se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de zanahorias sometidas a diferentes tratamientos de extracción. Así, la mayor eficiencia

de extracción se observó empleando el método mecánico, seguido de los extractos etanólicos y finalmente los acuosos, mientras que la presencia de compuestos flavonoides únicamente fue detectada en extractos etanólicos de la muestra.

**Tabla 3.1** Concentración de compuestos bioactivos presentes en zanahoria, utilizando diferentes métodos de preparación para la muestra.

<b>Compuestos Bioactivos</b>	<b>Extracto etanólico*</b>	<b>Extracto acuoso *</b>	<b>Extracto mecánico**</b>
Flavonoides (mg CE/100 g)	21.62±3.46	ND	ND
Compuestos fenólicos (mg EAG/100g)	9.36±0.73 <sup>a</sup>	6.95±0.59 <sup>b</sup>	11.63 ±0.28 <sup>c</sup>
Capacidad antioxidante (mg Trolox/100g)	49.07±3.09 <sup>a</sup>	12.76±4.78 <sup>b</sup>	63.14±2.92 <sup>c</sup>

Superíndices diferentes en la misma fila indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en preparación de materia prima

\* Extractos obtenidos moliendo materia prima sin tratamiento junto con el solvente respectivo + filtrado

\*\* Obtenido en un extractor de jugos comercial + filtrado

Dado que la técnica de carotenoides no requiere una extracción previa, los resultados obtenidos no se presentan

ND: No Detectado.

Como se describió en la metodología, la extracción de flavonoides se realiza a partir del material vegetal fresco, el cual debe molerse finamente para facilitar la extracción de dichos compuestos, ya que al poseer un gran número de grupos hidroxilos no sustituidos o azúcares que son considerados compuestos polares, son moderadamente solubles en solventes de esta naturaleza como etanol, metanol, butanol, acetona y agua (Pérez-Nájera *et al.*, 2013). En este trabajo, los solventes seleccionados fueron de naturaleza polar; aunque se aplicó a los extractos etanólicos, acuoso y mecánico y únicamente en los extractos etanólicos se detectaron presencia de flavonoides. De acuerdo a lo reportado en la bibliografía, los alcoholes de bajo peso molecular (etanol, metanol, propanol, etc.) fueron descritos como los más apropiados para la extracción de estos flavonoides en productos de origen vegetal. En un estudio realizado por Mokrani y

Madani (2016) se encontró que el mejor disolvente para la extracción de flavonoides totales en melocotón fue etanol al 60% (57 mg equivalentes de quercetina (QE)/100 g) seguido por metanol al 60%, acetona al 60% y agua obteniendo valores de 47, 38 y 17 mg QE/100 g, respectivamente; cabe destacar que aunque estos autores no utilizaron la misma matriz alimentaria que esta investigación, nos sirve de referencia para valorar el poder extractivo del etanol para la recuperación de flavonoides. Mientras que Hung *et al.* (2012) compararon la eficiencia del método de secado (frio y caliente) en zanahoria para la extracción de compuestos bioactivos, la extracción fue con una solución etanólica (80% v/v) donde se extrajeron 11.2 µg de equivalentes de rutina (RE)/g de muestra para el secado en frio mientras que para el secado en caliente se obtuvieron 8.9 2 µg RE/ g de muestra; así la extracción fue más efectiva en producto fresco que en un liofilizado.

La concentración de compuestos fenólicos extraídos con agua destilada resultó ser menor en comparación con el extracto etanólico y el extracto mecánico. Estos resultados se asemejan a los reportados por Paulino *et al.* (2013) quienes estudiaron el efecto del tipo de solvente en la extracción de polifenoles y antioxidantes de 27 especies diferentes de vegetales crudos, hallando que el agua destilada fue el solvente menos eficiente para extraer compuestos fenólicos. Estos autores atribuyen esto a la oxidación de fenoles totales por presencia de la enzima polifenol-oxidasa, la cual se activa en el medio acuoso mientras que en los extractos de metanol, etanol y acetona la enzima se encuentra inactiva. La recuperación de los polifenoles a partir de materiales de plantas se ve influida por la solubilidad de los compuestos fenólicos en el disolvente utilizado para el proceso de extracción.

Además, como se observó con otros compuestos bioactivos, la polaridad del disolvente juega un papel clave en la capacidad de solubilidad fenólica (Alothman *et al.*, 2009a). Con respecto a esto, Allothman *et al.* (2009a) realizaron un estudio en el cual comparaban diferentes solventes (metanol, etanol y acetona) a distintos porcentajes de sustitución (90, 70 y 50) como medios para la extracción de compuestos fenólicos en guayaba; la mayor eficiencia de extracción se obtuvo con acetona al 90% y etanol al 90% (191 ± 4.3 mg EAG/100 g pesos fresco, 185 ± 3.02 mg EAG/100 g pesos fresco, respectivamente) los cuales no exhibieron una diferencia significativa entre sí ( $p < 0.05$ );

finalmente, el solvente con menor poder extractivo fue el metanol al 90% ( $109 \pm 1.00$  mg EAG/ 100 g pesos fresco).

Existe una enorme variedad de antioxidantes contenidos en las frutas; por tanto, la medición de la capacidad antioxidante de cada compuesto por separado es sumamente complicada; hay varios métodos que han sido desarrollados para estimar la capacidad antioxidante global de diferentes plantas incluyendo DPPH, ABTS, FRAP, ORAC, entre otros. En investigaciones previas se ha demostrado que la capacidad antioxidante varía en función del disolvente utilizado para la extracción del alimento. Recientemente se estableció que el porcentaje de captación de radical DPPH para melocotón en agua fue del 11% para etanol 37% y para metanol 40%; aunque estos últimos no exhibieron diferencia significativa (Mokrani y Madani, 2016). Por su parte, Gajewski *et al.* (2007) reportan mayor capacidad antioxidante en extractos metanólicos de zanahorias moradas que en los extractos de zanahorias naranjas y amarillas y concluyeron que las zanahorias de color púrpura poseen una mayor cantidad de antioxidantes que las típicas de color naranja. Se cree que este fenómeno se relaciona con el nivel más alto de compuestos fenólicos en los cultivares de color púrpura, por lo que se establece que además de los solventes utilizados para la extracción, es importante considerar el origen de la muestra. Estos resultados coinciden con los presentados en la Tabla 3.1, siendo el agua el solvente con menor concentración de capacidad antioxidante y los extractos etanólicos por encima de estos.

### **3.2 Extracción asistida con luz UV-C (extractos etanólicos)**

La irradiación UV-C tiene su máximo pico de emisión a 254 nm y se ha comprobado que a esta longitud de onda presenta su mayor acción germicida; por tanto, ha sido ampliamente estudiada en varios tejidos vegetales. Se conoce que el mecanismo directo de acción de la irradiación UV-C sobre la inactivación microbiana reside en el daño que causa al ADN y genera así mutaciones que bloquean la replicación celular, la

cual, si no es reparada, conduce a la muerte celular. También actúa de manera indirecta induciendo mecanismos de resistencia por acumulación de compuestos fungicidas como fenoles, flavonoides y poliamidas (Rivera-Pastrana *et al.*, 2007). En la Tabla 3.2 se presentan los cambios en la concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de la extracto etanólico previamente asistido con luz UV-C con respectivos controles y la dosis aplicada para cada tratamiento la cual se obtuvo a partir de la Ecuación 1. Sólo tratamientos selectos permitieron incrementar significativamente el contenido de compuestos bioactivos; en la mayor parte de los procesos se observó un ligero aumento (no significativo) como consecuencia de la exposición de zanahoria a radiación UV-C y en algunas se observaron disminuciones significativas. Con respecto al contenido de carotenoides es posible observar que sólo los tratamientos más cortos (30 s) y largos (600 s) produjeron un incremento significativo en este parámetro con respecto a su control; por otra parte, la radiación UV-C no incrementó significativamente el contenido de flavonoides en ninguno de los tratamientos aplicados y se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) con el tratamiento de mayor duración (600 s). En cuanto al contenido fenólico, sólo el tratamiento de exposición a UV-C por 60 s muestra un incremento significativo con respecto a su control; sin embargo, la capacidad antioxidante se mantiene sin cambios significativos en todos los tratamientos.

Se ha reportado que el efecto de la radiación UV-C sobre los compuestos bioactivos en productos vegetales es muy variado y depende de la longitud de onda de la radiación y del uso de exposiciones únicas o continuadas a lo largo de cierto periodo de evaluación. Así, Jayakumar *et al.* (1999) reportan una disminución al día 1 en el contenido de carotenoides, antocianinas, clorofila total y flavonoides con respecto a su control en helechos acuáticos sometidos a UV-C a 254 nm, misma que se fue equilibrando tras exposiciones múltiples durante 13 días de tratamiento.

**Tabla 3.2** Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto etanólico asistido con luz UV-C.

Control (s) / Tratamiento (s)	Dosis (W*s/ m <sup>2</sup> )	Carotenoides (µg/100g)	Flavonoides (mg CE/100 g)	Compuestos Fenólicos (mg EAG/100g)	Capacidad Antioxidante (mg Trolox/100g)
Control 30	—	1675.98±238.63 <sup>a</sup>	23.86±0.41 <sup>a</sup>	9.44±0.63 <sup>a</sup>	49.51±6.17 <sup>a</sup>
Tratamiento 30	174	3279.63±197.12 <sup>b</sup>	24.64±0.09 <sup>a</sup>	9.88±0.17 <sup>a</sup>	54.75±1.64 <sup>a</sup>
Control 60	—	3329.01±279.45 <sup>a</sup>	18.81±0.66 <sup>a</sup>	8.73±0.08 <sup>a</sup>	38.72±7.23 <sup>a</sup>
Tratamiento 60	348	3468.64±253.46 <sup>a</sup>	19.62±0.32 <sup>a</sup>	9.48±0.12 <sup>b</sup>	44.10±0.48 <sup>a</sup>
Control 90	—	1618.63±43.45 <sup>a</sup>	15.46±1.61 <sup>a</sup>	10.71±0.45 <sup>a</sup>	48.98±4.55 <sup>a</sup>
Tratamiento 90	522	1695.05±223.78 <sup>a</sup>	16.19±0.59 <sup>a</sup>	10.87±0.36 <sup>a</sup>	39.78±0.23 <sup>a</sup>
Control 300	—	2021.37±419.81 <sup>a</sup>	24.02±0.84 <sup>a</sup>	9.31±0.10 <sup>a</sup>	43.88±0.25 <sup>a</sup>
Tratamiento 300	1740	2510.96±183.17 <sup>a</sup>	24.27±0.06 <sup>a</sup>	9.53±0.45 <sup>a</sup>	45.33±1.67 <sup>a</sup>
Control 600	—	2575.56±79.10 <sup>a</sup>	23.70±1.36 <sup>a</sup>	8.52±0.54 <sup>a</sup>	50.06±2.29 <sup>a</sup>
Tratamiento 600	3480	3293.70±92.06 <sup>b</sup>	16.69±0.85 <sup>b</sup>	9.14±0.29 <sup>a</sup>	54.52±4.22 <sup>a</sup>

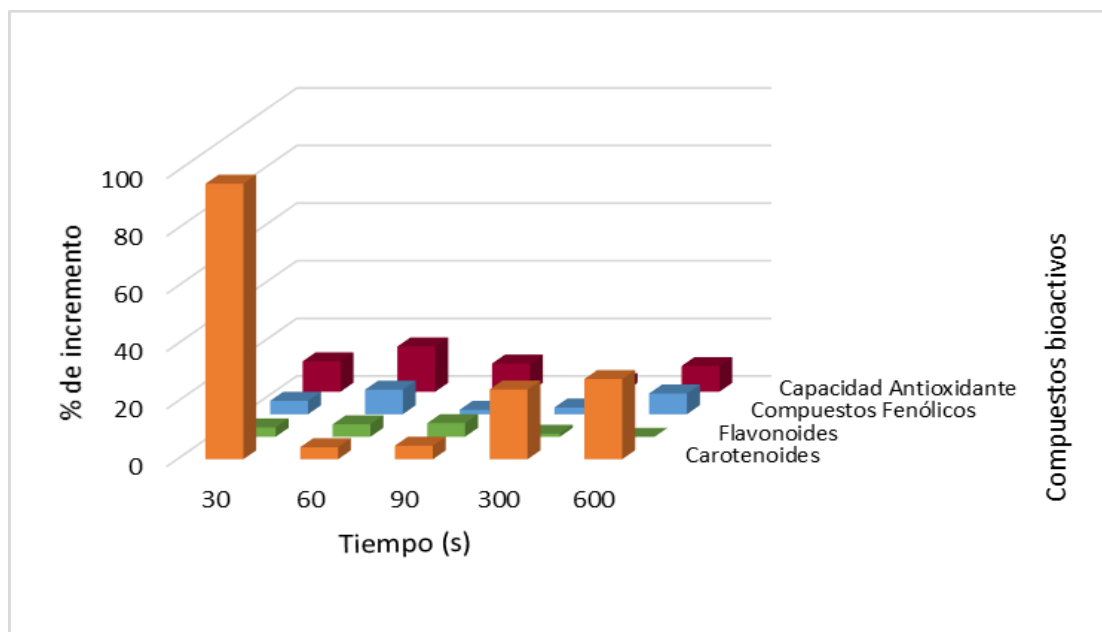
Superíndices diferentes entre tratamiento y control en cada columna indican diferencia significativa (p<0.05)

Por su parte, Rodrigues *et al.* (2010) observaron que la aplicación de UV-C como tratamiento postcosecha en variedades de cebolla blanca y roja no alteraba el contenido de flavonoides de manera significativa. Se estima que aunque los procesos de radiación UV-C pueden inducir un incremento en la concentración de sustancias bioactivas, este efecto se encuentra en competencia con procesos de fotooxidación también inducidos por la misma radiación. Se sabe que las reacciones de fotooxidación en plantas producen radicales libres, generando efectos perjudiciales sobre el tejido vegetal. Los radicales libres y superóxidos puede tener como objetivo diferentes estructuras celulares, incluyendo membranas y paredes, y compuestos específicos, como ácidos nucleicos y enzimas (Alegría *et al.*, 2012; Maharaj *et al.*, 1999). En comparación con un estudio realizado por Rudolf y Resurrección (2005) quienes utilizaron cacahuete molido, picado, en rodaja y entero para someterlo a estrés abiótico mediante la exposición de luz UV por 10 min, el estudio mostró que no hubo un efecto significativo (p<0.05) sobre compuestos fenólicos totales independientemente de la

reducción de tamaño o tiempo de incubación; con respecto a la capacidad antioxidante ,todas las muestras de cacahuete expuestas a la luz UV tuvieron una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) después de 24 h de incubación.

A continuación, en las Figuras 3.1 – 3.4 se presentan los porcentajes de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante (calculados con la Ecuación 5) con respecto al tiempo en gráficos de columna 3D; en el apartado 6.3 de Anexos de este escrito, se puede encontrar la media de desviación estándar y análisis estadístico para cada uno de los datos mostrados en estas gráficas.

En la Fig. 3.1 se muestra el porcentaje de incremento en cada tratamiento con radiación UV-C correspondiente a la prueba de carotenoides, flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante. Se observa que el tratamiento con mayor incremento corresponde a la exposición de la muestra por 30 s (~95%), mientras que el menor incremento registrado se tiene en los tiempos de 60 y 90 s de exposición (~4%). Mientras tanto, para la exposición del producto a UV-C por 300 y 600 s se registró un incremento de ~25%. Si bien los carotenoides son abundantes en la parte del floema de la zanahoria éstos se vuelven susceptibles a la degradación después de la eliminación de la epidermis y el tejido del xilema durante el pelado (Du *et al.*, 2012) a lo cual se podrían atribuir los resultados obtenidos, ya que al estar cortada la zanahoria en forma de prisma triangular existe mayor tiempo de interacción entre los tejidos del floema y xilema con el medio ambiente antes de someterse a la radiación UV-C, por lo que se pudo ver reducido su contenido de carotenoides totales con respecto al tiempo mientras que el incremento pudo deberse a la radiación UV que estimula la biosíntesis de compuestos bioactivos, los cuales realizan una función foto-protectora. Los carotenoides están implicados en la protección directa de los fotosistemas contra la radiación UV (Salama *et al.*, 2011).



**Figura 3.1** Porcentaje de incremento de carotenoides, flavonoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto etanólico asistido con UV-C.

En este contexto, Du *et al.* (2012) presentaron resultados similares a los de este trabajo, donde el contenido de carotenoides totales en zanahoria *baby* recién cortada y zanahorias cortadas en diferentes formas (ralladas, cilíndricas, chips, cilíndricas con ondulaciones y prismas rectangulares) tratadas con luz UV-B y posteriormente almacenadas a 15° C durante 3 días no presentan ningún cambio en el contenido de carotenoides en ninguna de las muestras y solo en un caso (zanahoria cortada en chips) exhibió una ligera disminución en la concentración final de carotenoides, aunque no se determinó la influencia del tratamiento con UV-B en el contenido de carotenoides individuales. En otro estudio realizado con zanahorias mínimamente procesadas, específicamente expuestas a luz UV-C se reportó que el contenido de carotenoides totales aumentó consistentemente durante los primeros días de almacenamiento y al séptimo día se alcanzó un incremento tres veces mayor respecto a su control almacenado; sin embargo el valor máximo observado de estos compuestos bioactivos apenas igualó al control general de zanahoria fresca sin almacenar (Alegría *et al.*, 2012); cabe resaltar que en esa investigación no se presentaron resultados sobre el seguimiento de la concentración de carotenoides durante el almacenamiento.

Recientemente, Porto-Pinto *et al.* (2016) atribuyeron la acumulación postcosecha de compuestos fenólicos en uvas tratadas por UV-C a la expresión de genes relacionados con la síntesis de estas sustancias.

Con respecto al porcentaje de incremento del contenido de flavonoides totales tratados con UV-C (Fig. 3.1); se observó incrementos para el tratamiento de 30 s (3.24%), para los tratamientos de 60 y 90 s existe un incremento de ~5%, finalmente para el tratamiento de 300s incremento del 1%, sin embargo la exposición de zanahoria a irradiación UV-C a 600 s no mostró ningún cambio. Esto puede atribuirse a diversos factores. La irradiación UV puede inducir la acumulación de compuestos fenólicos y flavonoides en plantas como un mecanismo de defensa contra la irradiación; se asume que este comportamiento fue el observado en los rangos de tiempo de 30 a 300 s. El aumento de flavonoides también se ha asociado con cambios en la actividad de enzimas precursoras de biosíntesis de flavonoides, como la flavanona 3- hidroxilasa (F3H). Allothman *et al.* (2009b), de manera análoga a lo observado en el presente estudio, observaron que la radiación UV-C no afectó inmediatamente el contenido de flavonoides en diversas frutas tropicales en comparación con sus respectivos controles; sin embargo, al analizar este mismo parámetro durante el almacenamiento se observó una mayor acumulación de flavonoides totales a los 7 días post proceso, atribuyendo este incremento al retraso (inducido por la radiación UV) en la aparición de daño en los tejidos (Andrade-Cuvi *et al.*, 2010). Por otra parte, en otros estudios se ha establecido que el contenido de flavonoides puede incrementarse de forma significativa en matrices selectas inmediatamente tras la aplicación de radiación UV-C. Por ejemplo, Porto-Pinto *et al.* (2016) obtuvieron incrementos significativos en el contenido de catequina y epocatequina (dos flavonoides comunes) tras aplicar radiaciones de UV-C en uvas por 5 min en cada cara; este aumento se asoció al incremento en la concentración de transcritos de genes codificantes en enzimas precursoras de compuestos antioxidantes, como F3H. Por otra parte, la disminución en el contenido de flavonoides detectada a tiempos largos de proceso pudo ser consecuencia de la acumulación de productos de degradación inducidos por la aplicación de radiación UV-C, como lo reportan Zvezdanovic *et al.* (2012) en sistemas modelo de quercetina y rutina; estos

flavonoles se degradaron en soluciones metanólicas sometidas a radiación UV-C siguiendo una cinética de primer orden. Tras 10 min de proceso la concentración de quercetina disminuyó en 7%, mientras que a los 20 min la reducción fue mayor al 30%.

Analizando los cambios en compuestos fenólicos asociados a la aplicación de UV-C en los extractos etanólicos (Fig.3.1). Es posible observar que el mayor incremento es de 8.53, 7.21 y 4.68% en los tiempos de 60, 600 y 30 s, respectivamente, mientras que en los tratamientos de 90 y 300 s apenas y se observan incrementos de ~2%. Por tanto, la radiación UV-C se presume que no alteró el contenido fenólico de zanahoria fresca cortada en prismas rectangulares inmediatamente tras el proceso. Allende *et al.* (2007) analizaron cambios en compuestos fenólicos de fresas tratadas por UV-C a 1 kJ/m<sup>2</sup>, las fresas no tratadas tras 12 días de almacenamiento, reportando disminución en el contenido de éstos (>50%) por una reducción significativa en el contenido de procianidinas (>70% al día 0 y aún superior tras almacenarse en refrigeración); asimismo, se observó un deterioro de factores de calidad (color, apariencia) al incrementarse la dosis de radiación. En otro estudio realizado por Alegría *et al.* (2012) se comprobó el efecto de luz UV-C y choque térmico (HS) como factores abióticos en zanahorias, donde se reportó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) y progresiva en el contenido de fenoles totales a partir del día cero siendo de 37, 24 y 17% en el control y zanahorias tratadas por UV-C y HS. Una posible explicación a estos acontecimientos, es que los vegetales tratados por UV-C potencian el contenido fenólico debido a que existe un incremento de la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa (FAL) (Porto-Pinto *et al.*, 2016; González-Aguilar *et al.*, 2007) probablemente por estimulación de la expresión de genes relacionados con mecanismos biosintéticos de fenólicos; en otro estudio anterior (Artés-Hernández *et al.*, 2010) se concluye que aunque tratamientos selectos de radiación UV-C pueden aumentar la concentración de compuestos fenólicos, el mecanismo que lo posibilita no ha sido identificado por completo y es necesario realizar más investigaciones.

Con respecto a la capacidad antioxidante, se muestra que la luz UV-C a 30 y 90 s mostró un incremento de ~10%, los incrementos menores fueron 600 s (8.9%) y 300 s (3.8%); sin embargo, la mayor capacidad antioxidante (+15.7%) correspondió al

tratamiento UV-C de 60s. Se observa que para todas las muestras la actividad antioxidante medida mediante la prueba DPPH exhibió una tendencia similar con respecto a la concentración de compuestos fenólicos obtenidos a partir de la asistencia con luz UV-C. Esto podría deberse a que se ha confirmado que los compuestos fenólicos son los principales microelementos que contribuyen a la capacidad antioxidante de frutas y vegetales como zanahoria; además de que los resultados también podría atribuirse a la oxidación que pudo haber ocurrido durante los tratamientos de exposición a UV-C en los grupos antioxidantes (compuestos fenólicos, flavonoides, etc.) que contribuyen en gran medida a la capacidad antioxidante del vegetal (Allothman *et al.*, 2009b). Coincidiendo con los resultados presentados en zanahoria, Allothman *et al.*, (2009b) encontraron que los valores de inhibición tanto de FRAP y DPPH se mantuvieron casi constantes para piñas irradiadas (0, 10, 20 y 30 min) por UV-C, así como su control, asimismo, las diferencias entre los valores de capacidad antioxidante (DPPH) para guayaba irradiada fueron insignificantes tras 0, 10, y 20 min de tratamiento, aunque con el método FRAP los valores aumentaron significativamente ( $p < 0.05$ ) en el tratamiento de 30 min. Sin embargo, hay casos en el que la radiación UV-C muestra un efecto positivo sobre la capacidad antioxidante, como en mango fresco recién cortado e irradiado por luz UV-C. El mango tratado por UV-C incrementó su capacidad antioxidante (medido por pruebas de ORAC y DPPH), con el tiempo de proceso, alcanzando un máximo a los 10 min; sin embargo, el contenido de otras sustancias potencialmente útiles para aumentar la capacidad antioxidante, como el ácido ascórbico y  $\beta$ -caroteno se redujo por efecto de la radiación UV-C (González-Aguilar *et al.*, 2007).

### **3.3 Extracción asistida con US (extracto acuoso)**

En la industria alimentaria, la búsqueda de tecnologías no contaminantes y consideradas “verdes” ha sido una constante en los últimos años; dentro de ellas, la extracción asistida con US, empleada como técnica emergente de separación, cumple con estos requisitos ya que posibilita reducir el volumen de solvente y la energía requerida para este tipo de procesos (Robles-Ozuna y Ochoa-Martínez, 2012). En la

Tabla 3.3 se muestran los datos de cambios en la concentración de compuestos bioactivos selectos (carotenoides y fenólicos) y la actividad antioxidante en zanahoria tratada por US de potencia a 50% de amplitud (200W teóricos), así como el coeficiente específico de energía ultrasónica entregada para cada tratamiento, el cálculo de dicho coeficiente se encuentra detallado en el apartado 6.1 de Anexos de este escrito. En términos generales, el US al 50% de amplitud tuvo un mayor efecto sobre la concentración de carotenoides y la capacidad antioxidante de zanahoria en tratamientos selectos, mientras que las variaciones en la concentración de compuestos fenólicos el efecto fue mínimo. Es posible observar que no existe una relación clara entre los cambios en el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante, con excepción del tratamiento US 50%, 15 s donde el mayor incremento en la concentración de carotenoides con respecto a su control (+40%) correspondió con el único cambio significativo en capacidad antioxidante (+33%); en cuanto a las pruebas de carotenoides para los tratamientos a 30 y 90 s, se observa un decremento en la concentración de agentes bioactivos mientras que para la sonicación a 60 s un ligero aumento no significativo ( $p < 0.05$ ). Lo que compete a compuestos fenólicos, se observaron efectos positivos (30 y 90 s) y negativos (15 y 60 s) sin ninguna tendencia y sin diferencia significativa entre tratamientos experimentales y controles ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 3.3** Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto acuoso sonicado a 50% de amplitud.

<b>Control (s) / Tratamiento (s)</b>	<b><math>E_{v1}</math> ( W*s/ mL )</b>	<b>Carotenoides (<math>\mu\text{g}/100\text{g}</math>)</b>	<b>Compuestos Fenólicos (mg EAG/100g)</b>	<b>Capacidad Antioxidante (mg Trolox/100g)</b>
Control 15	—	6726.14 $\pm$ 1230.04 <sup>a</sup>	6.47 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>	9.01 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>
Tratamiento15	7.5	9477.93 $\pm$ 767.93 <sup>b</sup>	6.10 $\pm$ 0.36 <sup>a</sup>	12.09 $\pm$ 0.95 <sup>b</sup>

Control 30	—	8353.57±2259.40 <sup>a</sup>	6.52±0.35 <sup>a</sup>	14.97±2.77 <sup>a</sup>
Tratamiento 30	15	8233.62±390.67 <sup>a</sup>	7.14±1.22 <sup>a</sup>	12.57±0.30 <sup>a</sup>
Control 60	—	6470.85±735.46 <sup>a</sup>	8.06±0.49 <sup>a</sup>	13.40±0.55 <sup>a</sup>
Tratamiento 60	30	8692.45±2297.25 <sup>a</sup>	7.70±0.48 <sup>a</sup>	12.35±0.35 <sup>a</sup>
Control 90	—	7075.15±1605.83 <sup>a</sup>	6.95±0.12 <sup>a</sup>	8.59±0.01 <sup>a</sup>
Tratamiento 90	45	6068.18±350.42 <sup>a</sup>	7.11±0.09 <sup>a</sup>	8.99±0.18 <sup>a</sup>

Superíndices diferentes entre tratamiento y control en cada columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).  
 $E_{v1}$ =Coeficiente específico de energía para los resultados del proceso ultrasónico.

El efecto neto del ultrasonido sobre la capacidad antioxidante y la concentración de compuestos bioactivos no está del todo aclarada y varía sensiblemente de matriz a matriz alimenticia. Por una parte, la actividad de los antioxidantes en los alimentos y sistemas biológicos depende del grado de hidroxilación; por tanto, la formación de radicales asociada al tratamiento ultrasónico puede considerarse como una desventaja para la conservación de la bioactividad de componentes alimenticios selectos. Sin embargo, otros estudios consideran que es posible mejorar la actividad antioxidante y de otros componentes a través de procesos de sonicación debido al aumento en el grado de hidroxilación de componentes selectos, como aquellos de naturaleza fenólica, ya que la ruptura de las paredes celulares durante la cavitación ultrasónica facilita la liberación de dichos compuestos (Soria y Villamiel, 2010). Así, el balance entre estos efectos positivos y negativos puede generar variaciones en estos valores dependiendo de la magnitud de tiempo de proceso. Por ejemplo, Rudolf y Resurrección (2005) sometieron a estrés abiótico cacahuate molido, picado, en rodaja y entero a ultrasonido de potencia, observando que los productos cortados en rodaja mostraron una disminución en su capacidad antioxidante tras la incubación durante 24 y 36 h pero aumentaron sus niveles a las 0 y 48 h de incubación, mientras que aquella del cacahuate molido no cambió significativamente ( $p < 0.05$ ) tras 24-48 horas de incubación.

En la Tabla 3.4 se muestran los resultados obtenidos para los cambios en concentración de los compuestos bioactivos estudiados y su capacidad antioxidante

asociada tras aplicar diversos tratamientos de US al 100% de amplitud (400 W teóricos), además se muestra su coeficiente específico de energía ultrasónica entregada para cada tratamiento, el cálculo de dicho coeficiente se encuentra detallado en el apartado 6.1 de Anexos de este documento. Con respecto a carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante durante el tratamiento US a 15 y 30 s se observa un mayor incremento con respecto a los otros tratamientos aunque no es significativo ( $p < 0.05$ ); sin embargo, para tiempos más largos de proceso, todas las respuestas disminuyen (de nuevo, de manera no significativa) con excepción de la concentración de compuestos fenólicos para el tratamiento de US a 60 s. Los resultados evidentemente no son conclusivos y se requeriría explorar nuevos parámetros de proceso para observar tendencias más claras. Una posible explicación a la disminución de concentración de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante al incrementarse el tiempo de proceso ultrasónico es el aumento en la concentración de radicales hidroxilo ( $\text{OH}\bullet$ ) producidos por efecto del US; se ha demostrado que la producción de  $\text{OH}\bullet$  se incrementa linealmente con el aumento de nivel de amplitud ultrasónica y disminuye al incrementarse la temperatura (Tiwari *et al.*, 2010), lo que a su vez presenta una posible respuesta del porque los tiempos cortos de proceso resultaron en una mayor concentración de carotenoides y compuestos fenólicos y un incremento en la capacidad antioxidante. De manera similar a lo concluido a partir de resultados anteriores (Tabla 3.3) se presume que los tratamientos ultrasónicos cortos a la amplitud implementada funcionan mejor desde el punto de vista práctico, tecnológico y económico.

**Tabla 3.4** Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto acuoso sonicados a 100% de amplitud.

Control (s) / Tratamientos (s)	$E_{v1}$ (W*s/ mL)	Carotenoides ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )	Compuestos Fenólicos (mg EAG/100g)	Capacidad Antioxidante (mg Trolox/100g)
Control 15	—	7497.63 $\pm$ 508.40 <sup>a</sup>	6.74 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	12.10 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>
Tratamiento15	15	8037.07 $\pm$ 760.04 <sup>a</sup>	6.78 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>	12.40 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
Control 30	—	7465.87 $\pm$ 2791.76 <sup>a</sup>	7.07 $\pm$ 1.51 <sup>a</sup>	10.02 $\pm$ 0.45 <sup>a</sup>

Tratamiento 30	30	9660.21±1037.30 <sup>a</sup>	7.64±1.47 <sup>a</sup>	10.38±0.28 <sup>a</sup>
Control 60	—	6362.66±2217.83 <sup>a</sup>	7.96±1.30 <sup>a</sup>	17.58±1.27 <sup>a</sup>
Tratamiento 60	60	6340.90±1767.53 <sup>a</sup>	8.28±1.10 <sup>a</sup>	17.25±2.34 <sup>a</sup>
Control 90	—	7175.41±174.95 <sup>a</sup>	6.86±0.14 <sup>a</sup>	15.49±5.47 <sup>a</sup>
Tratamiento 90	90	6459.28±305.72 <sup>a</sup>	6.77±0.17 <sup>a</sup>	12.56±1.84 <sup>a</sup>

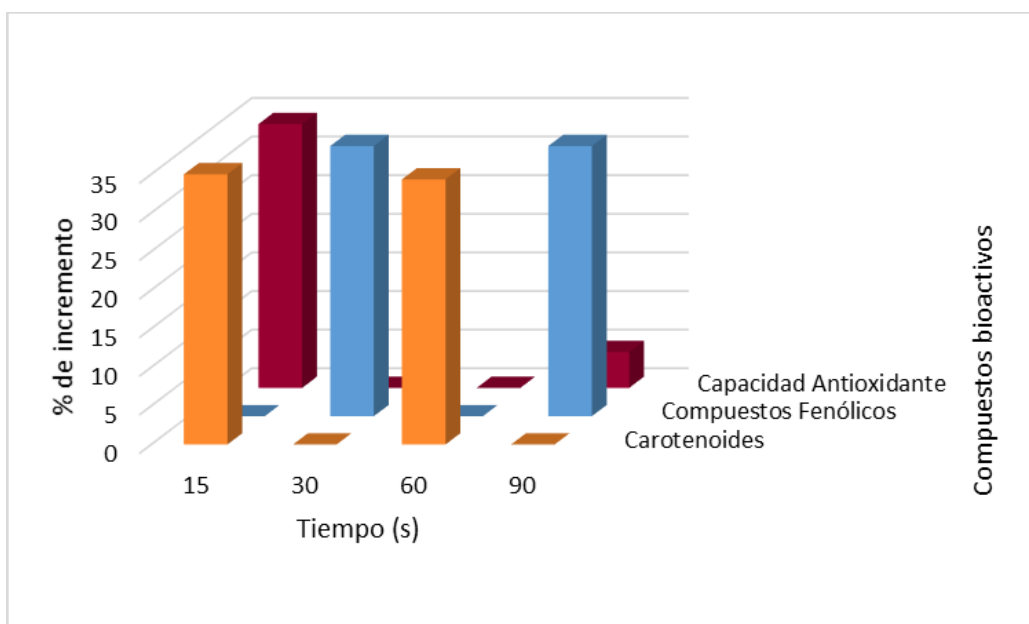
Superíndices diferentes entre tratamiento y control en cada columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).  
 $E_{v1}$ =Coeficiente específico de energía para los resultados del proceso ultrasónico.

Recientemente, Yu *et al.* (2016) evaluaron el efecto de US de potencia (2 KW, 1-3 min) sobre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos bioactivos (fenólicos) en lechuga romana, observando un incremento en la concentración de los últimos que se vio reflejado en un aumento en la primera. Estos autores proponen un posible mecanismo para el funcionamiento del US como factor abiótico, que involucra cambios en la permeabilidad de células que incrementan el flujo transmembrana de iones selectos, entre ellos,  $Ca^{2+}$  y  $K^+/H^+$ ; asimismo, se genera un incremento en la concentración de especies reactivas de oxígeno (ERO). Estos dos eventos pueden mejorar la respuesta de la planta a un inductor como el US; adicionalmente el US puede estar involucrado en la producción de óxido nítrico, el cual junto con alguna ERO, como el peróxido de hidrógeno, sirven como moléculas de señalización para activar rutas metabólicas que activen la síntesis de ácido jasmónico, el cual a su vez activa mecanismos metabólicos secundarios que pueden incidir sobre la producción de compuestos bioactivos. Evidentemente, se requiere una amplia exploración de parámetros de proceso para elucidar cuáles de ellos pueden inducir esta serie compleja de respuestas concatenadas.

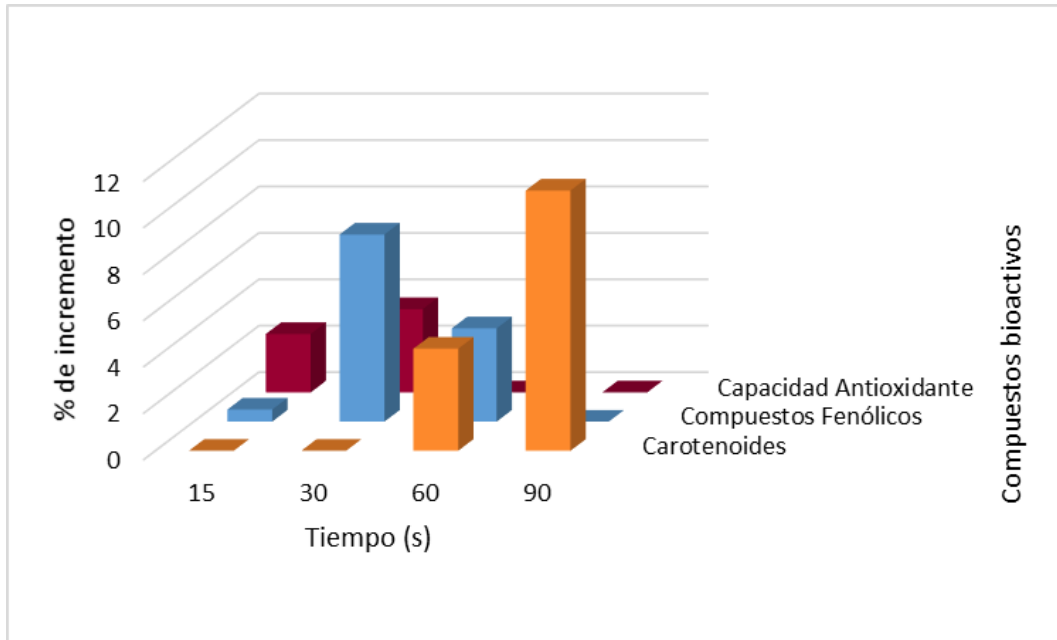
En la Figura 3.2 se presenta el porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante evaluados en extractos acuosos, donde la muestra vegetal previamente fue tratada por sonicación a 50% de amplitud (200W teóricos) y en lo que respecta al incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante tratados por sonicación a 100% de amplitud (400 W teóricos) se presentan en la Figura

3.3. Para carotenoides tratados a 50 % de amplitud, se observaron variaciones en la concentración dependientes del tiempo de proceso; en términos generales la concentración resultante fluctuó a lo largo del tratamiento. Así, procesos ultrasónicos de 15s incrementaron la concentración de carotenoides en 40.9%, a los 60 s la concentración presentó un incremento considerable (+34.3 %); sin embargo, para los tiempos de 30 y 90 s de proceso no mostraron ningún cambio. Esta variación pudo estar causada por el efecto mecánico generado por la cavitación ultrasónica. Las partículas chocan a alta velocidad y producen una ligera perturbación en los microporos de la muestra sólida, con lo que se aumentó la difusión turbulenta y la velocidad de difusión interna de disolvente y soluto (Ye *et al.*, 2011).

Por su parte, para procesos US a amplitud del 100% (Fig 3.3), los tratamientos ultrasónicos cortos presentaron la mayor eficiencia como factor abiótico para potenciar la concentración de carotenoides en la matriz alimenticia empleada. Tratamientos de US a 15 y 30 s no mostraron un porcentaje de incremento por otra parte tratamientos largos (60 y 90 s) presentaron un incremento en esta variable de respuesta de 4.39 y 11.21 %, respectivamente. Los incrementos de concentración de carotenoides en zanahoria tratada por US concuerdan con lo reportado por Vilku *et al.* (2008) quienes muestran un aumento (15-20%) en compuestos  $\beta$ -caroteno en zanahoria ultrasonificada a 24 kHz, temperatura ambiente y en medio acuoso.



**Figura 3.2** Porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto acuoso asistido con US a 50% de amplitud.



**Figura 3.3** Porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto acuoso asistido con US a 100% de amplitud.

En lo que respecta a los porcentajes de incremento en contenido fenólico sonicados a 50% de amplitud (Fig.3.2). Nuevamente, la concentración de compuestos bioactivos fluctuó a lo largo del proceso. Así, a tiempos de 15 y 60 s a una amplitud de 50% no se observó un efecto positivo del estrés abiótico en estos compuestos bioactivos mientras que a tiempos de 30 y 90 s se vio un ligero incremento del ~ 9.5 y 2% respectivamente. Para los tratamientos ultrasónicos asistidos con 100% de amplitud (Fig.3.3), el US durante 30 s indujo un un porcentaje de incremento (+8%) mientras que para 60 y 15 el cambio fue de 4 y 0.5%, respectivamente y la sonicación a 90 s se mantuvo sin cambios. Esta disminución en el contenido fenólico puede atribuirse al consumo de compuestos fenólicos para superar el estrés oxidativo de especies reactivas de oxígeno (ERO) causados por el tratamiento con ultrasonido. El contenido fenólico total de una planta está determinado por la interacción entre los factores que promueven la

producción de compuestos fenólicos y los que consume. Por tanto, una reducción de contenido fenólico indica que el consumo de compuestos fenólicos puede haber superado lo generado y/o acumulado, si múltiples estimulaciones en un período de tiempo seleccionado podrían producir un significativo aumento de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante, mejorando su permanencia en los productos. Estos resultados concuerdan con los resultados presentados por Yu (2014) quien trató hojas enteras de lechuga romana con US de potencia (2000 W nominales) a amplitud de 100% y 25 KHz de frecuencia, y reportó que no se encontró diferencia significativa en la concentración de compuestos fenólicos inmediatamente después de la sonicación; sin embargo, después del almacenamiento a temperatura ambiente durante 30 h, las muestras tratadas con ultrasonido durante 1 min presentaban un contenido de compuestos fenólicos más bajo que el control, mientras que tras 60 h de almacenamiento las muestras sonicadas por 1, 2 y 3 min presentaban un contenido fenólico de 22.50%, 16.25%, y 17.92% mayor que el control. Se asume entonces que el efecto del US sobre contenido de fenólicos (y otros bioactivos) puede no ser inmediato, probablemente por el tiempo que se requiere para inducir todos los mecanismos previamente mencionados y por tanto, vale la pena hacer un seguimiento de la concentración de los mismos durante el almacenamiento.

Los porcentajes de incremento de capacidad antioxidante para extractos acuosos previamente tratados con US de potencia muestran que en lo que respecta a la amplitud de 50% (Fig.3.2), se aprecia un incremento significativo (~34%) para el tratamiento de 15 s, seguido del tratamiento de 90 s (~4%) y finalmente los tratamientos de 30 y 60 s no presentaron ningún incremento. Por su parte, para la amplitud del 100% (Fig.3.3) se puede observar que para los tiempos de 15 y 30 s el porcentaje de incremento es de 2.5 y 3.5% respectivamente, mientras que para los tiempos de 60 y 90 s no se visualiza un estrés abiótico que potencie la capacidad antioxidante. Estos resultados pueden atribuirse a diferentes factores, incluyendo la generación por cavitación de radicales hidroxilo, los cuales pueden generar con facilidad reacciones que oxiden a los compuestos alimenticios. Dependiendo del proceso y la matriz alimentaria, los efectos químicos de cavitación acústica pueden ser beneficiosos o perjudiciales (Soria y Villamiel, 2010). De igual forma en el estudio realizado por Yu

(2014) en hojas de lechuga romana no se encontró diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en capacidad antioxidante después de la sonicación como fue el caso de los prismas de zanahoria tratados a 100% de amplitud.

Por otro lado, la lechuga ultrasonicada durante 1 y 2 min experimentó una fuerte disminución en la capacidad antioxidante de 50.87% o 64.24% respectivamente, durante las primeras 30 h de almacenamiento refrigerado, seguido de un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en capacidad antioxidante de 97.07% o 83.67% durante las siguientes 30 h. Cabe señalar que no observó como tal un patrón de cambio en el grupo de tratamiento ultrasónico (3 min) o del grupo control. El autor atribuyó los cambios a que durante el almacenamiento los antioxidantes que pudieron ser generados a causa del ultrasonido (estrés abiótico), eran continuamente sintetizados por las células de lechuga es decir, los antioxidantes naturales promovían la eliminar los efectos adversos del estrés oxidativo.

### **3.4 Extracción asistida por US (extracto mecánico)**

En la Tabla 3.5, se presentan los resultados obtenidos para cada compuesto bioactivo estudiado, mostrando su tratamiento con su respectivo control y su coeficiente de energía ultrasónica entregada cálculo de dicho coeficiente se encuentra detallado en el apartado 6.1 de Anexos de este escrito; se puede apreciar que el contenido de carotenoides tratados con UV-C se ve afectado en comparación con su control, en los tiempos de 45 y 75 s se observa una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al control.

**Tabla 3.5** Concentración de compuestos bioactivos obtenidos a partir de extracto mecánico sonicado a 50% de amplitud.

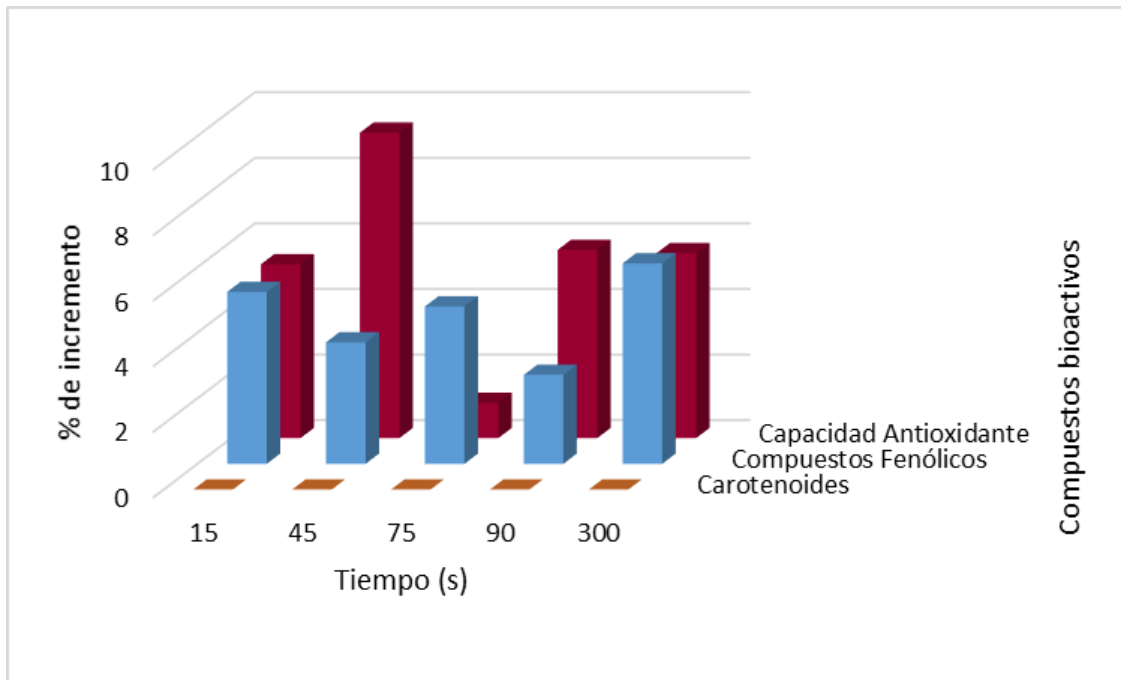
Control (s) / Tratamiento (s)	$E_{v1}$ (W*s/mL)	Carotenoides ( $\mu$ g/100g)	Compuestos Fenólicos (mg EAG/100g)	Capacidad Antioxidante (mg Trolox/100g)
Control 15	—	4131.22 $\pm$ 67.83 <sup>a</sup>	11.72 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	65.74 $\pm$ 6.28 <sup>a</sup>
Tratamiento 15	27.27	3929.60 $\pm$ 272.56 <sup>a</sup>	12.34 $\pm$ 0.49 <sup>a</sup>	69.23 $\pm$ 4.84 <sup>a</sup>
Control 45	—	4068.04 $\pm$ 241.94 <sup>a</sup>	11.74 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	65.74 $\pm$ 6.28 <sup>a</sup>
Tratamiento 45	81.81	3083.91 $\pm$ 59.72 <sup>b</sup>	12.18 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	71.86 $\pm$ 4.43 <sup>a</sup>
Control 75	—	3893.43 $\pm$ 92.78 <sup>a</sup>	11.77 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>	61.54 $\pm$ 1.10 <sup>a</sup>
Tratamiento 75	136.36	3059.25 $\pm$ 214.03 <sup>b</sup>	12.34 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	62.20 $\pm$ 1.46 <sup>a</sup>
Control 90	—	4003.86 $\pm$ 321.26 <sup>a</sup>	11.79 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	61.54 $\pm$ 1.10 <sup>a</sup>
Tratamiento 90	163.63	3702.53 $\pm$ 104.16 <sup>a</sup>	12.11 $\pm$ 0.20 <sup>a</sup>	65.07 $\pm$ 1.74 <sup>a</sup>
Control 300	—	4237.24 $\pm$ 76.98 <sup>a</sup>	11.04 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	58.51 $\pm$ 4.87 <sup>a</sup>
Tratamiento 300	150	3988.32 $\pm$ 312.31 <sup>a</sup>	11.71 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>	61.81 $\pm$ 3.05 <sup>a</sup>

Superíndices diferentes entre tratamiento y control en cada columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).  
 $E_{v1}$ =Coeficiente específico de energía para los resultados del proceso ultrasónico.

Con relación a los valores de compuestos fenólicos se observa un leve aumento (no significativo) en cada tratamiento y de igual manera la capacidad antioxidante presenta ligeros incrementos los cuales no resultan ser significativos ( $p < 0.05$ ). Se infiere que los bajos valores de carotenoides, se deben a que durante la extracción asistida por ultrasonido, las extremas condiciones físicas que se producen como el colapso de las burbujas durante la cavitación y así varias reacciones sonoquímicas se producen de forma simultánea o aislada por lo que, los efectos químicos producido por la cavitación generan una alta temperatura local y presión (Tiwari *et al.*, 2010). En un estudio realizado por Zhao *et al.* (2006) estos autores observaron la disminución de la concentración del pigmento carotenoide (astaxantina), cuando más aumentaba el tiempo de tratamiento y la potencia ultrasónica, mayor era la degradación del color. Tiwari *et al.* (2010) determinaron el efecto sobre la concentración de antocianinas en jugo de uva tratado por US; estos autores observaron un ligero aumento en

antocianinas, entre más bajos eran los niveles de amplitud y los tiempos de tratamiento mejores eran los resultados, sin embargo también se presentó la degradación de antocianinas, la cual podrían deberse a la sonólisis del agua debido a la cavitación que a su vez promueve la formación de radicales hidroxilo que conducen a la descomposición de productos químicos. Es importante mencionar que aunque en los resultados presentados no se determinaron antocianinas; en la investigación mencionada reporta que los tiempos cortos de tratamiento y baja amplitud en ultrasonido resultan ser favorecedores para los compuestos bioactivos, en este caso como lo fue para los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante.

En la Fig. 3.4 se presentan los porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en extracto mecánico sonicado a 50% de amplitud, en lo que respecta a carotenoides se observa que no hay incremento en ningún tratamiento ultrasónico. Dicho lo anterior, se puede atribuir el aumento de carotenoides totales por tratamiento con ultrasonidos a la rotura mecánica de la pared celular del vegetal, lo que mejora la libertad de carotenoides en jugos (Abid *et al.* 2014). En el estudio que se presenta a continuación se compara la disminución del contenido de carotenoides presentados en la Fig. 3.4. Martínez-Flores *et al.* (2015) realizaron una investigación con jugo de zanahoria tratado por US de potencia, demostró que los carotenoides disminuyeron de 1774 a 1464  $\mu\text{g}/100\text{ mL}$  en la muestra de control al día 6, mientras que la muestra tratada por US a 50°C y 54°C inmediatamente disminuyó su contenido de carotenoides totales de forma significativa ( $p < 0.05$ ), asimismo, a los 12 y 14 días de almacenamiento (4°C) hubo un descenso de - 5.87%, y - 2.78% respectivamente. Por el contrario, las muestras ultrasonificadas a 58°C retuvieron el 97.33 % del contenido original de carotenoides totales después de 20 días.



**Figura 3.4** Porcentaje de incremento de carotenoides, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto mecánico asistido con US a 50% de amplitud.

En los resultados de porcentaje de para compuestos de fenólicos (Fig. 3.4) se visualizan incrementos de 6.1, 5.2, 4.8, 3.7 y 2.7% en los tiempos de 300, 15, 75, 45 y 90 s; estos resultados no muestran una tendencia con respecto al tiempo de ultrasonicación. Se sabe que los compuestos fenólicos totales obtenidos por extracción asistida por ultrasonido (40°C, 150 W, 80% de etanol) durante 15 min en cascara de naranja fue mayor (35-40%) que la extracción por solvente durante 60 min; esto ocurrió debido a los efectos mecánicos del US sobre las paredes celulares, los cuales fueron evidenciados por microscopía electrónica de barrido; esta técnica de extracción asistida permite obtener altos rendimientos de extracción en períodos más cortos de tiempo, lo que reduce la entrada de energía (Khan *et al.*, 2010). En estudio de Khan *et al.* (2010) no hay evidencia de la degradación de compuestos fenólicos sonicados, de hecho la degradación ultrasónica de fenoles es típicamente lenta en comparación con los compuestos aromáticos volátiles que se difunden más fácilmente en la burbuja de cavitación. Por tanto, se puede establecer que la generación y acumulación de

compuestos fenólicos con un tratamiento ultrasónico pueden llevar tiempo (Yu, 2014). En una investigación realizada por Chia *et al.* (2012) se analizó el comportamiento de compuestos fenólicos en jugo de piña fresco tratado térmicamente (97 °C durante 5 min) y con luz UV-C. El jugo sin tratamiento fue de  $643.63 \pm 2.26$  mg EAG /L el cual se vio reducido a  $537.10 \pm 0.88$  mg EAG/L cuando se aplicó una dosis de UV-C  $53.42$  mJ/cm<sup>2</sup>. Por otro lado, el contenido fenólico se redujo a  $419.96 \pm 1.66$  mg EAG/L cuando el jugo era tratado térmicamente; estos resultados correspondían al tiempo 0 de almacenamiento, mientras que a lo largo de las 13 semanas de almacenamiento, el contenido total de fenoles de jugo irradiado con UV-C se mantuvo por encima del jugo pasteurizado. Sin embargo, no existieron cambios significativos durante el periodo de almacenamiento. Lo anterior, demuestra que el uso de tecnologías emergentes puede mantener el mismo contenido de compuestos fenólicos que un proceso térmico en jugo de piña.

Los carotenoides y compuestos fenólicos son antioxidantes naturales capaces de secuestrar radicales libres, los cuales están asociados al estrés oxidativo y por consiguiente a las enfermedades cardiovasculares (Martínez-Flores *et al.*, 2015). Para los porcentajes de incremento de capacidad antioxidante en extracto mecánico previamente ultrasonificado a 50% de amplitud (Fig.3.4); el mayor incremento se obtiene a los 45 s de tratamiento (~9%), para los tratamientos de 15, 90 y 300 s se muestra un incremento de ~5% y finalmente el tratamiento de 75 s mostro un incremento de (~1%). La capacidad antioxidante en muestras sonicadas aumentaron poco en comparación con el control, debido probablemente a las variaciones entre las muestras biológicas, también existe la posibilidad de que el ultrasonido puede funcionar como un inductor de estrés y a su vez desencadenar estallidos oxidativos *in vivo* que conduce a respuestas de defensa de las células vegetales. Por lo que el estrés oxidativo causado por ultrasonido puede ser perjudicial para las células, debido a que los antioxidantes naturales que ya están presentes en las plantas se utilizaron directamente para combatir especies de oxígeno reactivo en el principio (Yu, 2014). Nuevamente, Martínez-Flores *et al.* (2015) determinaron la capacidad antioxidante en jugo de zanahoria sonicado (10 min) a temperaturas de 50°C, 54°C y 58 °C con un incremento

de 2.30, 3.07 y 5.21% respectivamente aunque el trabajo presente no se llegó a tiempos y temperaturas durante sonicación podemos apreciar que los incrementos de capacidad antioxidante son semejantes a los que obtenidos en la investigación antes mencionada; sin embargo estos autores dieron un seguimiento de la capacidad antioxidante durante el almacenamiento y encontraron un aumento en la muestra control de 7.07  $\mu\text{mol Trolox/mL}$  en el día 10 esto a causa en el aumento de compuestos fenólicos ya que es posible que el aumento constante de compuestos fenólicos durante el almacenamiento de la muestra de control puede estar asociada con el aumento en el valor de la capacidad antioxidante.

## IV CONCLUSIONES

El empleo de ultrasonido de potencia y luz UV-C como factores con potencial efecto abiótico en zanahoria no arrojó resultados conclusivos en las magnitudes empleadas. Por tanto, es necesario explorar otros rangos de magnitud de dichos factores.

Evaluando las variables de respuesta de los extractos acuosos previamente sonicados a 50% de amplitud, durante el parámetro de 15 s se observó un incremento en carotenoides (40%), capacidad antioxidante (34%) y en compuestos fenólicos (9%) a 30 s, superior a los otros tratamientos evaluados, por otro lado para la amplitud 100% en el parámetro de 30 s se mostró el mayor efecto de incremento en compuestos fenólicos (20%) y capacidad antioxidante (3%); para carotenoides (29%) se registra en 60 s; sin embargo los tiempos cortos favorecían el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante más que los tiempos largos en ambas amplitudes.

En lo que respecta a los extractos etanólicos asistidos con UV-C, evaluando las condiciones establecidas se mostró que el contenido de compuestos fenólicos (8%) y capacidad antioxidante (15%) era mayor en el parámetro de 30s, por otro lado los flavonoides en los parámetros de 30, 60, 90 y 300s obtuvieron un incremento en el rango de 1 a 5%, mientras en la magnitud de 600 s no presentó ningún incremento contrariamente que los carotenoides manifiestan un incremento de 95%, 24% y 27% en los parámetros de 30, 300 y 600 s, respectivamente.

El extracto mecánico sonicado a 50% de amplitud en las magnitudes evaluadas mostró un incremento en un rango de 2 a 6% en compuestos fenólicos y un incremento de ~9% y ~5% a 45 s y (15, 90 y 300s) en el parámetro de capacidad antioxidante, sin embargo la concentración de carotenoides en los parámetros evaluados no mostro ningún incremento.

## V BIBLIOGRAFÍA

- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. W., Wu, T., Lei, S., Ammar-Khan, M. y Zeng, X. (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of Apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21: 984–990.
- Alegría, C., Pinheiro, J., Duthoit, M., Gonçalves, E. M., Moldão-Martins, M. y Abreu, M. (2012). Fresh-cut carrot quality as affected by abiotic stress (heat shock and UV-C irradiation) pre-treatments. *Food science and Technology*, 48:197-203.
- Allende, A., Marín, A., Buendía, B., Tomás-Barberán, F. y Gil, M. I. (2007). Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O<sub>3</sub>, superatmospheric O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub>) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 46: 201-211.
- Alothman, M., Bhat, R. y Karim, A.A. (2009a). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115: 785-788.
- Alothman, M., Bhat, R. y Karim, A. A. (2009 b) .UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 512–516.
- Andrade-Cuvi M.J., Moreno-Guerrero, C., Henríquez-Bucheli, A., Gómez-Gordillo, A. y Concellón, A. (2010). Influencia de la radiación UV-C como tratamiento postcosecha sobre carambola (*averroha carambola* L.) mínimamente procesada almacenada en refrigeración. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 11 (1): 18-27
- Artés-Hernández, F., Robles, P.A., Gómez, P.A., Tomás-Callejas, A. y Artés, F. (2010). Low UV-C illumination for keeping overall quality of fresh-cut watermelon. *Postharvest Biology and Technology*; 55: 114–120.
- Avena-Bustillos, R. J., Du, W-X, Woods, R. D., Olson, D. A., Breksa III, A. P. y McHugh, T. H. (2012). Ultraviolet-B light treatment increases antioxidant capacity of carrot products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92: 2341–2348.

- Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O.E., Asker, D., y Youssef, M.M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48: 410-427.
- Azcón-Bieto, J. y Talon, M. (2008) Fundamentos de la Fisiología Vegetal. Capítulo 29: Fisiología de las plantas y el estrés (2da Ed.) Interamericana-McGraw, Hill: Madrid.
- Chasquibol, N., Lengua, L., Delmás, I., Rivera, D. Bazán, D., Aguirre, R. y Bravo, M. (2003). Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 5(2): 9-20.
- Chia, S. L., Rosnah, S., Noranizan, M. A. y Wan Ramli, W. D. (2012). The effect of storage on the quality attributes of ultraviolet-irradiated and thermally pasteurised pineapple juices. *International Food Research Journal*, 19 (3): 1001-1010.
- Drago-Serrano, M. E., López-López, M. y Sainz-Espuñes, T. R. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37: 58-68.
- Du, W. X., Avena-Bustillos, R. J., Breksa III A. P. y McHugh, T. H. (2012). Effect of UV-B light and different cutting styles on antioxidant enhancement of commercial fresh-cut carrot products *Food Chemistry*, 134, 1862–1869.
- Dubie, J., Stancik, M., Morra, M. y Nindo, C., (2013). Antioxidant Extraction from Mustard (*Brassica juncea*) Seed Meal Using High-Intensity Ultrasound. *Journal of Food Science*, 78: 4.
- FAO. (2011). Disponible en: <http://www.fao.org/food-loss-and-food-waste/es/> Consultado el 12 de noviembre, 2015.
- Flores-Maltos, D.A., Sandoval-Cortés, J., Valdivia-Urdiales, B. y Aguilar-González, C. N. (2010). Uso de técnicas electroquímicas para evaluar el poder antioxidante en alimentos. *Investigación y ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 49: 20-25.
- Gajewski, M., Szymczak, P., Elkner, K., Dabrowska, A., Kret. A. y Danilcenko, H. (2007). Some aspects of nutritive and biological value of carrot cultivars of orange, yellow, and purple colored roots. *Veg Crops Res Bull* 67:149–161.

- González-Aguilar, G. A., Villegas-Ochoa, M. A., Martínez-Téllez, M.A., Gardea, A.A. y Ayala-Zavala, J.F. (2007). Improving Antioxidant Capacity of Fresh-Cut Mangoes Treated with UV-C. *Journal of Food Science* 72(3): 197-202
- González-Jiménez, E. F. (2010). Caracterización de compuestos fenólicos presentes en la semilla y aceite de chía (*salvia hispánica L.*), mediante electroforesis capilar. (Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional. México, D.F.
- Hernández-Carranza, P., Ávila-Sosa R., Guerrero-Beltrán, J. A., Navarro-Cruz, A.R., Corona-Jiménez, E. y Ochoa-Velasco, C.E. (2015). Optimization of Antioxidant Compounds Extraction from Fruit By-Products: Apple Pomace, Orange and Banana Peel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1-13.
- Hoover D. G. (2000). Ultrasound: Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. *Journal Food Science*, 65: 93- 95.
- Hung, P. V. y Duy, T. L. (2012). Effects of drying methods on bioactive compounds of vegetables and correlation between bioactive compounds and their antioxidants. *International Food Research Journal* 19(1): 327-332.
- Hurtado-Diaz, S. (2013). Efecto de la aplicación de ultrasonidos en vegetales: Impacto sobre la microbiota, textura y color de la zanahoria (*Daucus carota*). (Tesis de Licenciatura). Universitat Politecnica de Catalunya Barcelona tech. Castelldefels.
- Jacobo-Velázquez, D. A., Martínez-Hernández, G. B., Rodríguez, S.C., Cao, C. M. y Cisneros-Zevallos, L. (2011). Plants as Biofactories: Physiological Role of Reactive Oxygen species on the accumulation of Phenolic Antioxidants in Carrot Tissue under wounding and Hyperoxia stress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 6583-6593.
- Jayakumar, M., Eyini, M., Selvinthangadurai., P., Lingakumar, K., Premkumar. A. y Kulandaivelu, G. (1999). Changes pigment composition and photosynthetic activity of aquatic fern (*Azolla microphylla* Kaulf.) exposed to low doses of UV-C (254 nm) radiation. *Phosynthetica*, 37 (1): 33-38.

- Khan, M., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O. y Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119: 851-858.
- Luna-Guevara, M. L., Jiménez-González, O., Luna-Guevara, J. J., Hernández-Carranza P. y Ochoa-Velasco C.E. (2014). Quality Parameters and Bioactive Compounds of Red Tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) cv Roma VF at Different Postharvest Conditions. *Journal of Food Research*, 3(5): 8-18.
- Maharaj, R. Arul, J. y Nadeau, P. (1999). Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 15:13–23
- Márquez-Villacorta, L. y Pretell-Vásquez, C. (2013). Irradiación UV-C en frutas tropicales mínimamente procesadas. *Scientia Agropecuaria*, 4: 147-161.
- Martínez-Flores, H. E., Garnica-Romo, M. G., Bermúdez-Aguirre, D., Pokhrel, R. P. y Barbosa-Cánovas, V. G. (2014). Physico-chemical parameters, bioactive compounds and microbial quality of thermo-sonicated carrot juice during storage. *Food Chemistry*, 172: 650–656.
- Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M. y Tuñón, M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, XVII (6): 271-278.
- Mokrani, A. y Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*. 162: 68–76
- Naranjo-Freire, C. G. (2015). Optimización de un proceso de fritura de zanahoria. (Tesis de Licenciatura). Universidad Central del Ecuador. Quito.
- Olvera-Castelán, D.F. (2007) Frecuencia y comportamiento de *Salmonella* y microorganismos indicadores de higiene en jugo de zanahoria. (Tesis de Licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Hidalgo.
- Olivera-Fox, E.M. (2012). Evaluación de subproducto obtenido en la elaboración de jugos de mango y guayaba como fuente de fibra antioxidante. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, Qro.

- Paulino C., Kessler, A., Ochoa, M. y De Michelis, A. (2013). Compuestos bioactivos en frutas pequeñas de la Patagonia argentina: Efecto del solvente de extracción en su determinación cuantitativa. Universidad Nacional del Comahue-INTA AER El Bolsón. Argentina.
- Pérez-Nájera V. C, Lugo-Cervantes E.C, Gutiérrez-Lomelí M. y Del-Toro-Sánchez C. L. (2013) Extracción de Compuestos Fenólicos de la Cáscara. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. XV (3): 18-22.
- Porto-Pinto, E., Cristina-Perina, E., Bulsing-Schotta, I., Da Silva-Rodrigues, R., Lucchettab, L., Manfroic, V. y Valmor-Rombaldia, C. (2016) The effect of postharvest application of UV-C radiation on the phenolic compounds of conventional and organic grapes (*Vitis labrusca* cv. 'Concord'). *Postharvest Biology and Technology*, 120: 84–91.
- Quintero-Cerón, J. P., Bohorquez-Pérez, Y., Valenzuela-Real, C. y Solanilla-Duque, J. F. (2013) Avances en la aplicación de luz ultravioleta de onda corta (UVC) en frutas y vegetales enteros y mínimamente procesados: revisión. *Revista Tumbaga*, (8): 29-60.
- Quiroz-Sauceda, A. H. Palafox, H., Robles-Sánchez, R. M. y González-Aguilar, G. A. (2012). Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, XIII (3): 3-11.
- Rivera-Pastrana, M. D., Gardea Béjar, A. A., Martínez-Téllez, M. A., Rivera-Domínguez, M. y González-Aguilar, G.A. (2007). Efectos Bioquímicos Postcosecha de la Irradiación UV-C en Frutas y Hortalizas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4): 361-372.
- Robles-Ozuna, L. E. y Ochoa-Martínez, L. A. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13 (2):109-122
- Rodrigues, A. S., Pérez-Gregorio, M. R., García-Falcón, M. S., Simal-Gándara, J. y Almeida, D. (2010). Effect of post-harvest practices on flavonoid content of red and white onion cultivars. *Food Control*, 21: 878–884.

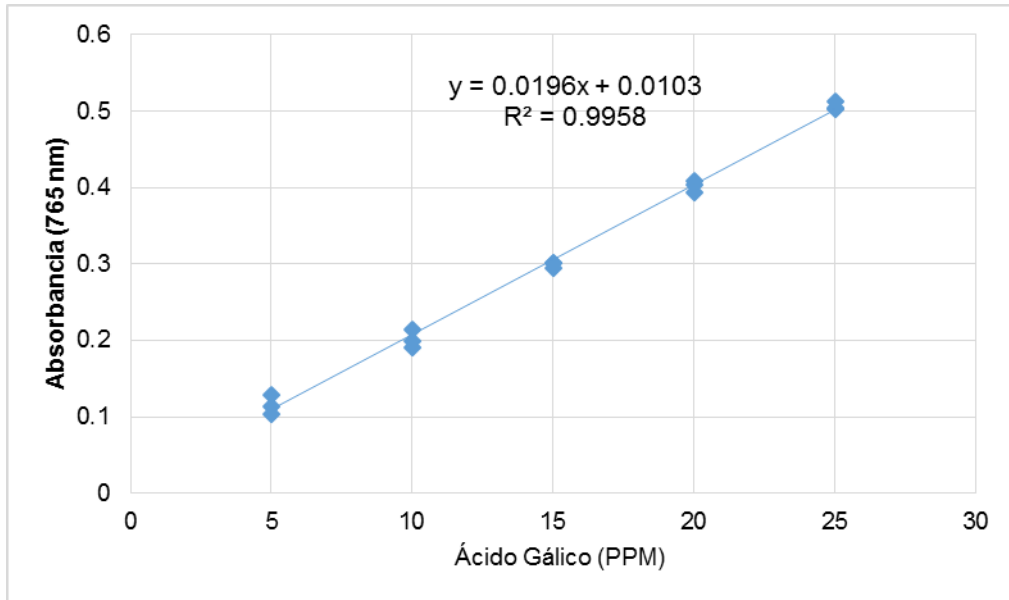
- Rudolf, J. R., y Resurrección, A. V. A. (2005). Elicitation of Resveratrol in Peanut Kernels by Application of Abiotic Stresses. *Journal Agricultural y Food Chemistry*, 53: 10186-10192
- Salama, M.H., Al Watban, A.A. y Al-Fughom, A. T. (2011)Effect of ultraviolet radiation on chlorophyll, carotenoid, protein and proline contents of some annual desert plants. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18: 79–86.
- Sánchez-Rangel, J.C., Benavides J. y Jacobo-Velázquez D. A. (2013). Bioprocesos basados en fenólicos antioxidantes de alto valor: una revisión. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13: 49-61.
- Schenk, M. L. (2010). Preservación de productos frutales mínimamente procesados mediante la aplicación de luz UV y su combinación con otras tecnologías emergentes. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
- SIAP. (2015). Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/> Consultado: 25 de noviembre de 2015.
- Soria, A. C. y Villamiel, M. (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21 (7): 323–331.
- Surjadinata B. B., Cisneros-Zevallos, L. (2012). Biosynthesis of phenolic antioxidants in carrot tissue increases with wounding intensity. *Food Chemistry*, 134: 615–624.
- Tirador, M. (2011).Caracterización del contenido de nitratos y la composición nutricional en zanahoria (*Daucus carota L.*) cultivada con diferentes dosis de fertilización NP. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, República Argentina.
- Tiwari, B. K., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P.J. y O'Donnell, C.P. (2010). Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17: 598–604.
- USDA (2016). Disponible en: <https://ndb.nal.usda.gov> Consultado: 08 de abril de 2016.

- Vilkhov K, Mawson R, Simons L, Bates D (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry: A review. *Food Science & Emerging Technol* (9):161-169.
- Wright, H. B. y Cairns, W. L. (1998). Ultraviolet Light. Trojan Technologies Inc.3020, Canadá N5V 4T7
- Ye, J., Feng, L., Xiong, J. y Xiong, Y. (2011). Ultrasound-assisted extraction of corn carotenoids in ethanol. *International Journal of Food Science and Technology*, 46: 2131–2136.
- Yu, J. (2014). Ultrasonication as an Abiotic Elicitor - Effects on Antioxidant Capacity and Overall Quality of *Romaine Lettuce*. (Tesis de Maestría). Universidad de Illinois en Urbana-Champaign. Urbana, Illinois.
- Yu, J., Engeseth, J. N. y Feng, H. (2016). High Intensity Ultrasound as an Abiotic Elicitor -Effects on Antioxidant Capacity and Overall Quality of Romaine Lettuce. *Food Bioprocess Technol*.
- Zhao, I., Zhao, G., Chen, F., Wang, Z., Wu, J., y Hu, W. (2006). Different Effects of Microwave and Ultrasound on the Stability of (All-E)-Astaxanthin. *Journal Agricultural y Food Chemistry*, 54: 8346-8351.
- Zvezdanović, J. B., Stanojević, J. S. Marković, D. y Cvetković, J.D. (2012). Irreversible UV-induced quercetin and rutin degradation in solution studied by UV spectrophotometry and HPLC chromatography. *Journal of the Serbian. Chemical. Society*, 77 (3): 297–312.

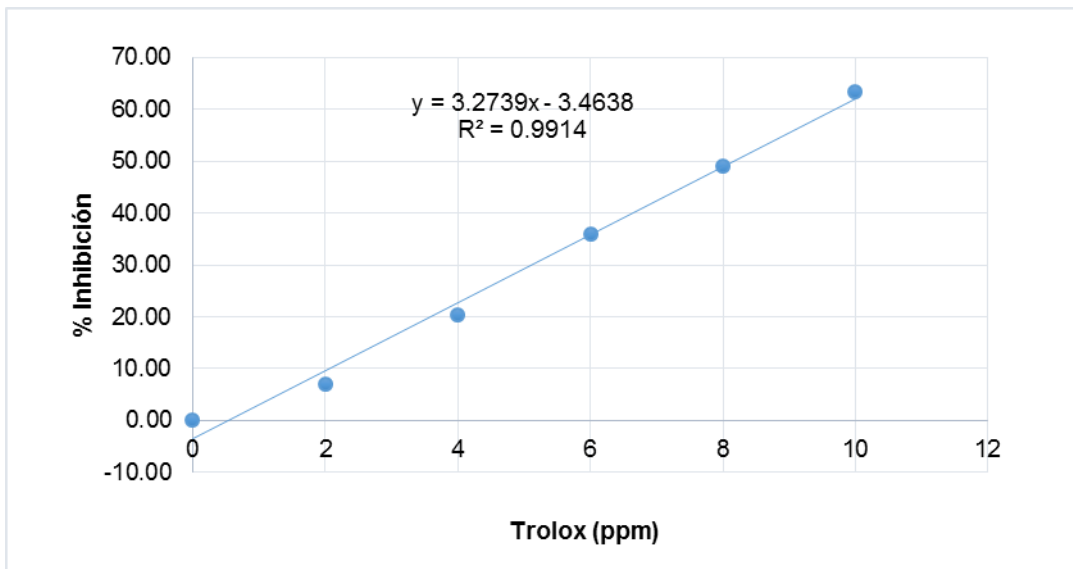
## VI ANEXO

### 6.1 Curvas de Calibración

**Figura 6.1** Curva de calibración del estándar ácido gálico para el contenido total de compuestos fenólicos (Folin-Ciocalteu).



**Figura 6.2** Curva de calibración del estándar Trolox para la capacidad antioxidante (DPPH).



## 6.2 Energía específica de los tratamientos determinada a partir de la potencia eléctrica neta reportada por el equipo

En las pruebas realizadas en zanahoria cortada y jugo de zanahoria de este trabajo se obtuvieron a través del software del procesador ultrasónico (UPCCTRL V3.2 WIN).

**Tabla 6.1** Potencia eléctrica teórica del equipo, coeficiente específico de energía reportada por el procesador ultrasónico para los tratamientos realizados

AMPLITUD	t ( s )	V ( mL )	P ( W )	E <sub>T</sub> ( kW*s )	E <sub>v1</sub> ( W*s/mL )
50	15	400	200	3	7.5
50	30	400	200	6	15
50	60	400	200	12	30
50	90	400	200	18	45
50	15	110	200	3	27.27
50	45	110	200	9	81.81
50	75	110	200	15	136.36
50	90	110	200	18	163.63
50	300	110	200	60	150
100	15	400	400	6	15
100	30	400	400	12	30
100	60	400	400	24	60
100	90	400	400	36	90

T=tiempo; V=Volumen; P=Potencia eléctrica teórica; E<sub>T</sub>= Energía total; E<sub>v1</sub>=Coeficiente específico de energía para los resultados del proceso ultrasónico.

La potencia eléctrica teórica son datos establecidos por el fabricante del ultrasonido. La energía total, es el producto de la potencia por el tiempo de exposición. El coeficiente específico de la energía se obtuvo dividiendo la energía total entre el volumen tratado.

### 6.3 Análisis Estadístico de la concentración de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en la Tabla 3.1 en el software Minitab 17, para cada compuesto bioactivo.

#### ANOVA unidireccional: Extractos vs. Concentraciones (compuestos fenólicos)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	2	167.97	83.9858	256.06	0.000
Error	41	13.45	0.3280		
Total	43	181.42			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	12	11.6333	0.2781	(11.2995; 11.9672)
2	20	6.953	0.595	(6.694; 7.212)
3	12	9.358	0.731	(9.024; 9.691)

Desv.Est. agrupada = 0.572706

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	12	11.6333	A
3	12	9.358	B
2	20	6.953	C

#### ANOVA unidireccional: Extractos vs. Concentraciones (capacidad antioxidante)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	2	20512.6	10256.3	680.89	0.000
Error	39	587.5	15.1		
Total	41	21100.1			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	12	63.135	2.918	(60.869; 65.401)
2	18	12.76	4.78	(10.91; 14.61)
3	12	49.067	3.085	(46.800; 51.333)

Desv.Est. agrupada = 3.88113

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	12	63.135	A
3	12	49.067	B
2	18	12.76	C

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en la Tabla 3.2 en el software Minitab 17, para cada compuesto bioactivo.

### **ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (carotenoides)**

#### **(30 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	2571670	2571670	53.69	0.018
Error	2	95801	47901		
Total	3	2667471			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	1676	239	(1010; 2342)
30	2	3280	197	(2614; 3945)

Desv.Est. agrupada = 218.862

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	3280	A
1	2	1676	B

#### **(60 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	19498	19498	0.27	0.653
Error	2	142331	71166		
Total	3	161829			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	3329	279	(2517; 4141)
30	2	3469	253	(2657; 4280)

Desv.Est. agrupada = 266.769

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	3469	A
1	2	3329	A

#### **(90 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	5840	5840	0.22	0.682
Error	2	51967	25983		
Total	3	57806			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	1618.6	43.4	(1128.2; 2109.0)
30	2	1695	224	(1205; 2185)

Desv.Est. agrupada = 161.194  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	1695	A
1	2	1618.6	A

**(300 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	239697	239697	2.29	0.270
Error	2	209790	104895		
Total	3	449487			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	2021	420	(1036; 3007)
30	2	2511	183	(1526; 3496)

Desv.Est. agrupada = 323.875  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	2511	A
1	2	2021	A

**(600 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	515736	515736	70.02	0.014
Error	2	14731	7365		
Total	3	530466			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	2575.6	79.1	(2314.4; 2836.7)
30	2	3293.7	92.1	(3032.6; 3554.8)

Desv.Est. agrupada = 85.8221  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	3293.7	A
1	2	2575.6	B

**ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (flavonoides)**

**(30 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.5965	0.59650	6.87	0.120
Error	2	0.1736	0.08678		
Total	3	0.7701			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
----	---	-------	-----------	-----------

1	2	23.863	0.406	(22.966; 24.759)
30	2	24.6350	0.0919	(23.7387; 25.5313)

Desv.Est. agrupada = 0.294592

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	24.6350	A
1	2	23.863	A

**(60 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.6590	0.6590	2.45	0.258
Error	2	0.5370	0.2685		
Total	3	1.1960			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	18.813	0.660	(17.237; 20.390)
30	2	19.625	0.318	(18.048; 21.202)

Desv.Est. agrupada = 0.518188

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	19.625	A
1	2	18.813	A

**(90 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.5461	0.5461	0.37	0.603
Error	2	2.9164	1.4582		
Total	3	3.4625			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	15.46	1.60	(11.78; 19.13)
30	2	16.195	0.587	(12.521; 19.869)

Desv.Est. agrupada = 1.20755

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	16.195	A
1	2	15.46	A

**(300 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.06065	0.06065	0.17	0.719
Error	2	0.70822	0.35411		
Total	3	0.76887			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
----	---	-------	-----------	-----------

1	2	24.024	0.840	(22.213; 25.834)
30	2	24.2700	0.0566	(22.4595; 26.0805)

Desv.Est. agrupada = 0.59507

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	24.2700	A
1	2	24.024	A

**(600 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	49.241	49.241	38.09	0.025
Error	2	2.586	1.293		
Total	3	51.826			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	23.705	1.364	(20.246; 27.165)
30	2	16.688	0.851	(13.229; 20.148)

Desv.Est. agrupada = 1.13706

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	23.705	A
30	2	16.688	B

## **ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (compuestos fenólicos)**

**(30 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.1948	0.1948	0.91	0.441
Error	2	0.4289	0.2144		
Total	3	0.6237			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	9.437	0.632	(8.028; 10.846)
2	2	9.878	0.172	(8.469; 11.287)

Desv.Est. agrupada = 0.463061

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
2	2	9.878	A
1	2	9.437	A

**(60 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.55395	0.55395	51.32	0.019
Error	2	0.02159	0.01079		
Total	3	0.57554			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	8.7303	0.0853	(8.4142; 9.0464)
2	2	9.4746	0.1196	(9.1585; 9.7907)

Desv.Est. agrupada = 0.103898

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
2	2	9.4746	A
1	2	8.7303	B

**(90 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.02590	0.02590	0.16	0.731
Error	2	0.33331	0.16665		
Total	3	0.35921			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	10.712	0.449	(9.470; 11.955)
2	2	10.873	0.363	(9.631; 12.115)

Desv.Est. agrupada = 0.408232

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
2	2	10.873	A
1	2	10.712	A

**(300s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.04932	0.04932	0.46	0.569
Error	2	0.21665	0.10833		
Total	3	0.26597			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	9.3094	0.0999	(8.3080; 10.3107)
30	2	9.531	0.455	(8.530; 10.533)

Desv.Est. agrupada = 0.329130

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	9.531	A
1	2	9.3094	A

**(600 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.3748	0.3748	1.99	0.294
Error	2	0.3766	0.1883		
Total	3	0.7515			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	8.523	0.541	(7.202; 9.843)
2	2	9.135	0.290	(7.815; 10.455)

Desv.Est. agrupada = 0.433958

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
2	2	9.135	A
1	2	8.523	A

## ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (capacidad antioxidante)

### (30 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	27.44	27.44	1.35	0.366
Error	2	40.74	20.37		
Total	3	68.18			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	49.51	6.17	(35.78; 63.24)
30	2	54.75	1.64	(41.02; 68.48)

Desv.Est. agrupada = 4.51341

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	54.75	A
1	2	49.51	A

### (60 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	28.94	28.94	1.10	0.404
Error	2	52.49	26.25		
Total	3	81.44			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	38.72	7.23	(23.13; 54.31)
30	2	44.102	0.478	(28.515; 59.689)

Desv.Est. agrupada = 5.12323

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	44.102	A
1	2	38.72	A

### (90s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
--------	----	-----------	-----------	---------	---------

C1	1	84.57	84.57	8.17	0.104
Error	2	20.71	10.35		
Total	3	105.28			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	48.98	4.54	(39.19; 58.77)
30	2	39.780	0.226	(29.991; 49.570)

Desv.Est. agrupada = 3.21766

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	48.98	A
30	2	39.780	A

### (300 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	16.42	16.42	0.49	0.557
Error	2	67.26	33.63		
Total	3	83.68			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	49.38	8.03	(31.74; 67.03)
30	2	45.33	1.67	(27.69; 62.97)

Desv.Est. agrupada = 5.79895

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	49.38	A
30	2	45.33	A

### (600 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	19.89	19.89	1.72	0.320
Error	2	23.10	11.55		
Total	3	42.99			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	50.06	2.30	(39.72; 60.41)
2	2	54.52	4.22	(44.18; 64.87)

Desv.Est. agrupada = 3.39865

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
2	2	54.52	A
1	2	50.06	A

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en la Tabla 3.3 en el software Minitab 17, para cada compuesto bioactivo.

### **ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (carotenoides)**

#### **(15 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	7572354	7572354	7.20	0.115
Error	2	2102718	1051359		
Total	3	9675072			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6726	1230	(3607; 9846)
30	2	9478	768	(6358; 12598)

Desv.Est. agrupada = 1025.36

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	9478	A
1	2	6726	B

#### **(30 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	14387	14387	0.01	0.948
Error	2	5257531	2628765		
Total	3	5271917			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	8354	2259	(3421; 13286)
30	2	8234	391	(3301; 13166)

Desv.Est. agrupada = 1621.35

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	8354	A
30	2	8234	A

#### **(60 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	4935509	4935509	1.70	0.323
Error	2	5818297	2909149		
Total	3	10753806			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6471	735	(1282; 11660)
30	2	8692	2297	(3503; 13882)

Desv.Est. agrupada = 1705.62

Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	8692	A
1	2	6471	A

**(90 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	1013989	1013989	0.75	0.478
Error	2	2701493	1350747		
Total	3	3715483			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	7075	1606	(3539; 10611)
30	2	6068	350	(2532; 9604)

Desv.Est. agrupada = 1162.22  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	7075	A
30	2	6068	A

## **ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (compuestos fenólicos)**

**(15 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.1380	0.1380	0.57	0.528
Error	2	0.4802	0.2401		
Total	3	0.6182			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6.471	0.596	(4.981; 7.962)
30	2	6.100	0.354	(4.609; 7.591)

Desv.Est. agrupada = 0.490007  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	6.471	A
30	2	6.100	A

**(30 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.3812	0.3812	0.48	0.562
Error	2	1.6016	0.8008		
Total	3	1.9828			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6.523	0.350	(3.800; 9.245)
30	2	7.140	1.216	(4.417; 9.863)

Desv.Est. agrupada = 0.894874  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	7.140	A
1	2	6.523	A

**(60 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.1261	0.1261	0.54	0.540
Error	2	0.4693	0.2347		
Total	3	0.5954			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	8.060	0.495	(6.586; 9.534)
30	2	7.705	0.474	(6.231; 9.179)

Desv.Est. agrupada = 0.484421  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	8.060	A
30	2	7.705	A

**(90 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.02442	0.02442	2.02	0.291
Error	2	0.02420	0.01210		
Total	3	0.04862			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6.9487	0.1255	(6.6141; 7.2834)
30	2	7.1050	0.0919	(6.7703; 7.4397)

Desv.Est. agrupada = 0.109999  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	7.1050	A
1	2	6.9487	A

**ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (capacidad antioxidante)**

**(15 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	9.499	9.4986	15.23	0.060
Error	2	1.247	0.6236		
Total	3	10.746			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	9.008	0.591	(6.605; 11.411)
30	2	12.090	0.948	(9.687; 14.493)

Desv.Est. agrupada = 0.789712

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	12.090	A
1	2	9.008	B

**(30 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	5.795	5.795	1.49	0.347
Error	2	7.794	3.897		
Total	3	13.589			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	14.97	2.78	(8.97; 20.98)
30	2	12.565	0.304	(6.559; 18.571)

Desv.Est. agrupada = 1.97406

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	14.97	A
30	2	12.565	A

**(60 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	1.0919	1.0919	5.15	0.151
Error	2	0.4243	0.2122		
Total	3	1.5162			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	13.400	0.552	(11.999; 14.801)
30	2	12.355	0.346	(10.954; 13.756)

Desv.Est. agrupada = 0.460620

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	13.400	A
30	2	12.355	A

**(90 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.16328	0.16328	9.65	0.090
Error	2	0.03383	0.01692		
Total	3	0.19711			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	8.58592	0.00577	(8.19021; 8.98163)
30	2	8.990	0.184	(8.594; 9.386)

Desv.Est. agrupada = 0.130064  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	8.990	A
1	2	8.58592	A

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en la Tabla 3.4 en el software Minitab 17, para cada compuesto bioactivo.

### ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (carotenoides)

#### (15 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	290988	290988	0.70	0.492
Error	2	836124	418062		
Total	3	1127112			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	7498	508	(5530; 9465)
30	2	8037	760	(6070; 10004)

Desv.Est. agrupada = 646.577  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	8037	A
1	2	7498	A

#### (30 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	4815158	4815158	1.09	0.407
Error	2	8869884	4434942		
Total	3	13685042			

#### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	7466	2792	(1059; 13873)
30	2	9660	1037	(3253; 16067)

Desv.Est. agrupada = 2105.93  
 Comparaciones en parejas de Tukey  
 Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	9660	A
1	2	7466	A

#### (60 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	474	474	0.00	0.992
Error	2	8042916	4021458		
Total	3	8043390			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6363	2218	(261; 12464)
30	2	6341	1768	(240; 12442)

Desv.Est. agrupada = 2005.36

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	6363	A
30	2	6341	A

**(90 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	512841	512841	8.27	0.103
Error	2	124071	62035		
Total	3	636912			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	7175	175	(6418; 7933)
30	2	6459	306	(5702; 7217)

Desv.Est. agrupada = 249.069

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	7175	A
30	2	6459	A

## **ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (compuestos fenólicos)**

**(15 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.001090	0.001090	0.01	0.942
Error	2	0.318277	0.159139		
Total	3	0.319367			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6.742	0.492	(5.528; 7.956)
30	2	6.775	0.276	(5.561; 7.989)

Desv.Est. agrupada = 0.398922

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	6.742	A
30	2	6.775	A

30 2 6.775 A  
1 2 6.742 A

**(30 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.3310	0.3310	0.15	0.736
Error	2	4.4329	2.2164		
Total	3	4.7638			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	7.06	1.51	(2.54; 11.59)
30	2	7.64	1.47	(3.11; 12.17)

Desv.Est. agrupada = 1.48877

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	7.64	A
1	2	7.06	A

**(60 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.1023	0.1023	0.07	0.816
Error	2	2.9089	1.4545		
Total	3	3.0112			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	7.960	1.301	(4.291; 11.629)
30	2	8.280	1.103	(4.611; 11.949)

Desv.Est. agrupada = 1.20601

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	8.280	A
1	2	7.960	A

**(90 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.007462	0.007462	0.32	0.628
Error	2	0.046329	0.023164		
Total	3	0.053791			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	6.8564	0.1324	(6.3933; 7.3194)
30	2	6.770	0.170	(6.307; 7.233)

Desv.Est. agrupada = 0.152199

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
----	---	-------	------------

1	2	6.8564	A
30	2	6.770	A

## ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (capacidad antioxidante)

### (15 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.09431	0.09431	1.29	0.374
Error	2	0.14600	0.07300		
Total	3	0.24030			

### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	12.098	0.379	(11.276; 12.920)
30	2	12.4050	0.0495	(11.5830; 13.2270)

Desv.Est. agrupada = 0.270185

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	12.4050	A
1	2	12.098	A

### (30 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.1294	0.1294	0.91	0.441
Error	2	0.2845	0.1422		
Total	3	0.4139			

### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	10.020	0.452	(8.873; 11.168)
30	2	10.380	0.283	(9.233; 11.527)

Desv.Est. agrupada = 0.377148

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	10.380	A
1	2	10.020	A

### (60 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.1042	0.1042	0.03	0.880
Error	2	7.0751	3.5375		
Total	3	7.1792			

### Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	17.57	1.277	(11.850; 23.295)
30	2	17.25	2.33	(11.53; 22.97)

Desv.Est. agrupada = -1.88083

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	17.573	A
30	2	17.25	A

**(90 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	8.624	8.624	0.52	0.546
Error	2	33.282	16.641		
Total	3	41.906			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	15.49	5.47	(3.08; 27.90)
30	2	12.56	1.83	(0.14; 24.97)

Desv.Est. agrupada = 4.07935

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	15.49	A
30	2	12.56	A

A continuación, se presenta el análisis estadístico aplicado a los datos presentados en la Tabla 3.5 en el software Minitab 17, para cada compuesto bioactivo.

### **ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (carotenoides)**

**(15 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	40652	40652	1.03	0.417
Error	2	78890	39445		
Total	3	119542			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	4131.2	67.8	(3527.0; 4735.5)
30	2	3930	273	(3325; 4534)

Desv.Est. agrupada = 198.607

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	4131.2	A
30	2	3930	A

**(45 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	968497	968497	31.19	0.031
Error	2	62103	31051		

Total 3 1030599

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	4068	242	(3532; 4604)
30	2	3083.9	59.7	(2547.8; 3620.0)

Desv.Est. agrupada = 176.214

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	4068	A
30	2	3083.9	B

**(75 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	695856	695856	25.58	0.037
Error	2	54416	27208		
Total	3	750272			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	3893.4	92.8	(3391.6; 4395.3)
30	2	3059	214	(2557; 3561)

Desv.Est. agrupada = 164.948

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	3893.4	A
30	2	3059	B

**(90 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	90799	90799	1.59	0.334
Error	2	114058	57029		
Total	3	204858			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	4004	321	(3277; 4730)
30	2	3702.5	104.2	(2976.0; 4429.1)

Desv.Est. agrupada = 238.808

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	4004	A
30	2	3702.5	A

**(300 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	61962	61962	1.20	0.388
Error	2	103462	51731		

Total 3 165424

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	4237.2	77.0	(3545.3; 4929.2)
30	2	3988	312	(3296; 4680)

Desv.Est. agrupada = 227.444

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
1	2	4237.2	A
30	2	3988	A

## ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (compuestos fenólicos)

### (15 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.3841	0.3841	1.61	0.332
Error	2	0.4764	0.2382		
Total	3	0.8605			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	11.725	0.488	(10.240; 13.210)
30	2	12.345	0.488	(10.860; 13.830)

Desv.Est. agrupada = 0.488075

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	12.345	A
1	2	11.725	A

### (45 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.2023	0.2023	1.53	0.342
Error	2	0.2648	0.1324		
Total	3	0.4671			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	11.725	0.488	(10.618; 12.832)
30	2	12.175	0.163	(11.068; 13.282)

Desv.Est. agrupada = 0.363891

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	12.175	A
1	2	11.725	A

### (75 s) Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1		0.3162	0.3162	2.98	0.226
Error	2		0.2123	0.1061		
Total	3		0.5285			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	11.773	0.456	(10.781; 12.764)
30	2	12.3350	0.0636	(11.3438; 13.3262)

Desv.Est. agrupada = 0.325787

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	12.3350	A
1	2	11.773	A

**(90 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1		0.1029	0.1029	0.55	0.536
Error	2		0.3742	0.1871		
Total	3		0.4771			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	11.789	0.579	(10.473; 13.105)
30	2	12.110	0.198	(10.794; 13.426)

Desv.Est. agrupada = 0.432561

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	12.110	A
1	2	11.789	A

**(300 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC	Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1		0.4520	0.45202	6.66	0.123
Error	2		0.1358	0.06792		
Total	3		0.5879			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	11.043	0.159	(10.250; 11.836)
30	2	11.715	0.332	(10.922; 12.508)

Desv.Est. agrupada = 0.260615

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	11.715	A
1	2	11.043	A

**ANOVA unidireccional: Tratamientos/Controles vs. Concentraciones (capacidad antioxidante)**

**(15 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	12.15	12.15	0.39	0.598
Error	2	62.88	31.44		
Total	3	75.03			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	65.74	6.28	(48.68; 82.80)
30	2	69.23	4.84	(52.17; 86.29)

Desv.Est. agrupada = 5.60712

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	69.23	A
1	2	65.74	A

**(45 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	37.49	37.49	1.27	0.377
Error	2	59.09	29.54		
Total	3	96.57			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	65.74	6.28	(49.20; 82.28)
30	2	71.86	4.43	(55.33; 88.40)

Desv.Est. agrupada = 5.43531

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	71.86	A
1	2	65.74	A

**(75 s)** Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	0.4322	0.4322	0.26	0.662
Error	2	3.3497	1.6749		
Total	3	3.7820			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	61.543	1.099	(57.606; 65.480)
30	2	62.20	1.46	(58.26; 66.14)

Desv.Est. agrupada = 1.29417

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	62.20	A
1	2	61.543	A

**(90 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	12.451	12.451	5.90	0.136
Error	2	4.222	2.111		
Total	3	16.673			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	61.543	1.099	(57.122; 65.964)
30	2	65.07	1.74	(60.65; 69.49)

Desv.Est. agrupada = 1.45296

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	65.07	A
1	2	61.543	A

**(300 s) Análisis de Varianza**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
C1	1	10.87	10.87	0.66	0.503
Error	2	33.09	16.55		
Total	3	43.96			

Medias

C1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	2	58.51	4.87	(46.14; 70.89)
30	2	61.81	3.05	(49.43; 74.19)

Desv.Est. agrupada = 4.06761

Comparaciones en parejas de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

C1	N	Media	Agrupación
30	2	61.81	A
1	2	58.51	A

## 6.4 Análisis ANOVA de los porcentajes de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante

**Tabla 6.2** Porcentaje de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto etanólico asistido con luz UV-C.

Tiempo (s)	Carotenoides (%)	Flavonoides (%)	Compuestos Fenólicos (%)	Capacidad Antioxidante (%)
30	95.68±11.76 <sup>a</sup>	3.24±0.38 <sup>a</sup>	4.68±1.79 <sup>a</sup>	10.58±3.31 <sup>a</sup>
60	4.19±7.61 <sup>b</sup>	4.33±1.69 <sup>a</sup>	8.53±1.37 <sup>a</sup>	15.72±6.66 <sup>a</sup>
90	4.72±13.82 <sup>b</sup>	4.75±3.79 <sup>a</sup>	1.54±3.36 <sup>a</sup>	9.78±4.02 <sup>a</sup>
300	24.22±9.06 <sup>b</sup>	1.04±0.23 <sup>a</sup>	2.36±4.86 <sup>a</sup>	3.30±3.80 <sup>a</sup>
600	27.88±3.57 <sup>b</sup>	-29.57±3.58 <sup>b</sup>	7.21±3.40 <sup>a</sup>	8.91±8.43 <sup>a</sup>

Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en incremento de porcentaje.

**Tabla 6.3** Porcentaje de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto acuoso asistido con US a 50 y 100% de amplitud.

Amplitud (%)	Tiempo (s)	Carotenoides (%)	Compuestos Fenólicos (%)	Capacidad Antioxidante (%)
50	15	40.91±11.41 <sup>a</sup>	-5.71±5.46 <sup>a</sup>	34.18±10.51 <sup>a</sup>
50	30	-1.43±4.67 <sup>a</sup>	9.50±18.65 <sup>a</sup>	-16.06±2.03 <sup>b</sup>
50	60	34.33±35.50 <sup>a</sup>	-4.40±5.87 <sup>a</sup>	-7.79±2.58 <sup>b</sup>
50	90	-14.23±4.95 <sup>a</sup>	2.23±1.32 <sup>a</sup>	4.65±2.14 <sup>b</sup>
100	15	-6.29±8.86 <sup>a</sup>	0.51±4.09 <sup>a</sup>	2.52±0.40 <sup>a</sup>
100	30	-22.26±8.34 <sup>a</sup>	8.06±20.80 <sup>a</sup>	3.59±2.82 <sup>a</sup>
100	60	4.39±29.10 <sup>a</sup>	4.02±13.85 <sup>a</sup>	-1.87±13.27 <sup>a</sup>
100	90	11.21±5.26 <sup>a</sup>	-1.31±2.47 <sup>a</sup>	-18.94±11.82 <sup>a</sup>

Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en incremento de porcentaje

**Tabla 6.4** Porcentaje de incremento de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante obtenidos a partir de extracto mecánico asistido con US a 50% de amplitud.

Amplitud (%)	Tiempo (s)	Carotenoides (%)	Compuestos Fenólicos (%)	Capacidad Antioxidante (%)
50	15	-4.88±6.59 <sup>a</sup>	5.24±4.15 <sup>a</sup>	5.30±7.36 <sup>a</sup>
50	45	-24.19±1.46 <sup>a</sup>	3.70±1.38 <sup>a</sup>	9.31±6.73 <sup>a</sup>
50	75	-21.42±5.49 <sup>a</sup>	4.80±0.54 <sup>a</sup>	1.07±2.37 <sup>a</sup>
50	90	-7.52±2.60 <sup>a</sup>	2.71±1.67 <sup>a</sup>	5.73±2.82 <sup>a</sup>
50	300	-5.87±7.37 <sup>a</sup>	6.11±3.01 <sup>a</sup>	5.64±5.22 <sup>a</sup>

Superíndices diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en incremento de porcentaje