

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA**

PASTEURIZACIÓN DE UNA BEBIDA DE TÉ MATCHA (*Camellia sinensis*) Y JUGO DE NARANJITA (*Citrus microcarpa* B.) IRRADIADO CON UV-C Y ASISTIDO CON TECNOLOGÍAS TÉRMICAS MODERADAS

POR:

ING. MAGDALENA DEL ROSARIO ORIZAGA HEREDIA

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

NOVIEMBRE DE 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Chihuahua, Chih. A 30 de noviembre 2020.

Oficio: 66/CA/SIP/20

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
Presente:

Los integrantes del comité, informamos a Usted que efectuamos la revisión de la Tesis intitulada: **Pasteurización de una bebida de té matcha (*Camellia sinensis*) y jugo de naranjita (*Citrus microcarpa* B.) irradiado con UV-C y asistido con tecnologías térmicas moderadas**, presentada por la **Ing. Magdalena del Rosario Orizaga Heredia**, alumna del Programa de Maestría en Ciencias en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Después de la revisión, indicamos a la tesista las correcciones que eran necesarias efectuar y habiéndolas realizado, manifestamos que la tesis, de la cual adjuntamos un ejemplar, ha cumplido con los objetivos señalados por el Comité de Tesis, por lo que puede ser considerada como adecuada para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

Atentamente
"Por la Ciencia para Bien del Hombre"

Dra. Carmen Oralía Meléndez Pizarro
Co-Directora de tesis

Dr. José Carlos Espinoza Hicks
Asesor de tesis

Dr. Miguel Ángel Sánchez Madrigal
Asesor de tesis

M.C. Ricardo Talamás Abbud
Asesor de tesis

Dr. Armando Quintero Ramos
Director de tesis

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado



FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARÍA
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

***El que suscribe certifica que las firmas que aparecen en esta acta, son auténticas, y las mismas que utilizan los C. Profesores mencionados.

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Circuito Universitario
Campus Universitario #2 C.P. 31125
Tel. +52 (614) 236 6000
Chihuahua, Chihuahua, México
<http://www.fcq.uach.mx>

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar deseo expresar mi agradecimiento a Dios, por acompañar cada paso y desición a lo largo de mi vida y siempre ser mi guía.

Al director de esta tesis de maestría, el Dr. Armando Quintero Ramos, por la dedicación y apoyo que ha brindado a este trabajo, por el respeto a mis sugerencias e ideas y por la dirección y rigor que ha facilitado a las mismas. Gracias por la confianza ofrecida desde que llegué a esta facultad de Ciencias Químicas.

Un trabajo de investigación es siempre fruto de proyectos y esfuerzos previos que corresponden a otras personas. Por su orientación y atención a mis consultas sobre ejecución de tecnologías, mi más profundo agradecimiento al Ing. Ricardo Talamás Abbud a la Dra. Carmen Oralía Meléndez Pizzaro, el Dr. Miguel Ángel Sánchez y el Dr. José Carlos Espinoza Hicks por el material facilitado y las sugerencias recibidas.

Gracias a mis amigas hermanas Aurora Soto y Cielo Valdez que siempre me han prestado su apoyo moral y humano, necesarios en los momentos difíciles de este trabajo y esta profesión, así como también, me han brindado gratas experiencias felices que hacen que la vida sea más sencilla y el trabajo menos pesado. Por sus ocurrencias y vivencias, las adoro. Asimismo, agradezco a mis compañeros y vecinos de laboratorio Danger, Velvet, Denisse y Samuel por su apoyo personal y humano, simplemente gracias por su hospitalidad y buenos momentos.

A la facultad de Ciencias Químicas por el apoyo para la realización de este proyecto de investigación, así como a mis maestros que aportaron su granito de arena a mi desarrollo académico y formación personal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por su apoyo a través de la beca otorgada. A todos, gracias infinitas.

DEDICATORIA

A mis padres

Gracias a mi familia por estar presente en cada una de mis decisiones, a mi madre por ser mi consuelo en días de estrés y a mi padre por ser mi guía y soporte en todo momento, por impulsarme a ser mejor cada día. Sin su apoyo este trabajo no se habría culminado, muchísimas gracias, los amo.

Gracias a Martin, por tu paciencia, amor, comprensión y palabras de aliento con este proyecto, te amo.



ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Tendencias en la producción de alimentos	3
2.2. Componentes empleados para el desarrollo de bebidas funcionales.....	5
2.3. Compuestos bioactivos presentes en alimentos	6
2.4 Métodos de conservación de bebidas.....	9
2.4.1 Tratamientos térmicos.....	10
2.4.1.1. Limitaciones del uso de tratamientos térmicos	10
2.4.2. Tecnologías alternativas	12
2.4.2.1 Tecnología de radiación ultravioleta	13
2.4.2.1.1. Aspectos generales.....	13
2.4.2.1.2. Mecanismo de acción de la radiación UVC	14
2.4.2.1.3. Ventajas y limitaciones de la luz ultravioleta	16
2.4.3. Sinergia de tecnologías de procesamiento	18
III. HIPÓTESIS	19
IV. OBJETIVOS	19
4.1 Objetivo general	19
4.2 Objetivos específicos	19
V. MATERIALES Y MÉTODOS	20
5.1 Materiales.....	20
5.2 Métodos.....	20
5.2.1 Procedimiento experimental.....	20
5.2.1.1. Primera fase: Formulación y caracterización de la bebida funcional ..	22
5.2.1.2. Segunda fase: Impacto del tratamiento de irradiación UV-C individual y	
tratamiento térmico (85 °C x 30 s) en bebidas de té matcha con diferente adición	
de jugo de naranjita.....	22
5.2.1.2.1 Cálculo de dosis	24



5.2.1.3. Tercera fase: Evaluación del tratamiento combinado de UV-C+tratamiento térmico moderado (55 °C x 30 s) vs. tratamiento térmico convencional (85 °C x 30 s)	24
5.2.1.4. Tratamiento térmico	25
5.2.3 Métodos físicos	25
5.2.3.1. Caracterización de las mezclas.....	25
5.2.3.2 Métodos microbiológicos.....	26
5.2.3.2.1 Determinación de aerobios totales: mesófilos y psicrófilos.....	26
5.2.3.2.2 Determinación de hongos y levaduras	27
5.2.3.2.3 Determinación de coliformes totales	27
5.2.4 Métodos químicos	28
5.2.4.1. Determinación del contenido de polifenoles totales (CPT)	28
5.2.4.2. Determinación del contenido de flavonoides totales (FT)	28
5.2.4.3. Determinación de actividad antioxidante (AA)	28
5.2.4.4. Evaluación de las mezclas en almacenamiento.	29
5.2.4.5. Determinación de polifenoles individuales por HPLC	29
5.2.5. Evaluación sensorial	30
5.2.5.1. Prueba triangular.....	30
5.3. Diseño experimental y análisis estadístico.	31
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
6.1. Primera fase: formulación y caracterización de la bebida funcional	31
6.2. Segunda fase: impacto del tratamiento de irradiación UV-C individual y tratamiento térmico (85 °C x 30 s) en las tres bebidas de té matcha con jugo de naranjita.....	33
6.2.1. Inactivación de la carga microbiana nativa en mezclas de té matcha con naranjita.....	34
6.2.2. Estabilidad de bebidas de té matcha con diferentes sustituciones de jugo de naranjita sobre la carga nativa en condiciones de almacenamiento refrigerado.....	36
6.2.3. Efecto de los tratamientos UV-C sobre las propiedades químicas	37
6.2.3.1. Contenido de polifenoles totales (CPT)	39
6.2.3.2. Flavonoides totales (FT).....	41
6.2.3.3. Actividad antioxidante (AA)	43
6.2.4 Cambios en color	45
6.2.5. Estabilidad de compuestos bioactivos de bebidas de té matcha con diferentes sustituciones de jugo de naranjita durante el almacenamiento refrigerado a 4 °C.....	48
6.2.6 Color.....	51
6.2.7 Perfil de compuestos fenólicos	53



6.2.7.1 Cambios en el perfil de polifenoles individuales en condiciones de almacenamiento refrigerado a 4°C.....	63
6.2.3 Evaluación sensorial	70
6.3. Tercera fase: Evaluación del tratamiento combinado de UV-C+ tratamiento térmico moderado (55 °C x 30 s) vs. tratamiento térmico convencional (85 °C x 30 s)	71
6.3.1. Caracterización de la muestra.....	71
6.3.2 Evaluación de análisis físicos durante almacenamiento refrigerado a 4 °C	72
6.3.2.1 Sólidos solubles (°Brix)	73
6.3.3 Color.....	73
6.3.4 Contenido de polifenoles totales (CPT)	77
6.3.5 Actividad antioxidante (AA)	78
6.3.6 Flavonoides totales (FT).....	80
6.3.7 Evolución del perfil de polifenoles individuales durante el almacenamiento	81
6.3.8 Estabilidad microbiológica durante el almacenamiento refrigerado a 4 °C	86
VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	88
VIII. BIBLIOGRAFÍA	90
IX. APÉNDICES	107
Anexo 1. Análisis de varianza (Primera fase experimental).....	107
Anexo 2. Análisis de varianza (Tercera fase experimental).....	114
Anexo 3. Curvas de calibración.....	119

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla.		Pág.
1.	Propiedades fisicoquímicas de mezclas de té matcha (<i>Camellia sinensis</i>) con jugo de naranjita (<i>Citrus macrocarpa B</i>).....	33
2.	Dosis de irradiación obtenidas.....	33
3.	Efecto de la dosis de irradiación y el porcentaje de sustitución del té matcha por jugo de naranjita sobre la carga microbiana nativa presente en las diferentes mezclas.....	35
4.	Estabilidad de las mezclas de té matcha con jugo de naranjita, procesadas térmicamente e irradiadas con UV-C sobre la carga microbiana nativa después del almacenamiento al día 20.....	36
5.	Efecto de la luz UV-C y pasteurización térmica en la concentración de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en mezclas de té matcha con jugo de naranjita	38
6.	Efecto de la luz UV-C y pasteurización térmica en los parámetros L^* , a^* y b^* en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	47
7.	Cambios en compuestos bioactivos de mezclas de té matcha-naranjita, procesadas térmicamente e irradiadas con UV-C, evaluadas en condiciones de almacenamiento refrigerado a 4°C.....	49
8.	Efecto del almacenamiento en parámetros de color de mezclas de té matcha con diferentes sustituciones de jugo de naranjita irradiadas con luz UV-C y tratadas térmicamente.....	52
9.	Análisis de varianza del efecto del tratamiento y porcentaje de sustitución en polifenoles individuales de las diferentes muestras de té matcha con jugo de naranjita.....	56
10.	Efecto del almacenamiento refrigerado a 4 °C en las concentraciones de ácido gálico y ácido clorogénico de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.....	65
11.	Efecto del almacenamiento refrigerado a 4 °C en las concentraciones de ácido cafeico y epicatequina de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.....	67
12.	Efecto del almacenamiento refrigerado a 4 °C en las concentraciones de vainillina y rutina de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.....	68



13.	Efecto del almacenamiento refrigerado a 4 °C en las concentraciones de epigallocatequina galato de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.....	69
14.	Efecto individual y combinatorio de tecnologías y tiempo de almacenamiento sobre el pH en bebida de té matcha con jugo de naranjita.....	72
15.	Efecto individual y combinatorio de tecnologías y tiempo de almacenamiento sobre °Brix en bebida de te matcha con jugo de naranjita.....	73
16.	Efecto individual y combinatorio de tecnologías de UV-C y tratamientos térmicos moderados, durante el tiempo de almacenamiento sobre los parámetros de color en bebida de té matcha con jugo de naranjita.....	76
17.	Efecto individual y combinatorio del procesamiento con UV-C y tratamientos térmicos sobre la concentración de polifenoles totales en bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante el almacenamiento.....	78
18.	Efecto individual y combinatorio del procesamiento con UV-C y tratamientos térmicos sobre la actividad antioxidante en bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante el almacenamiento.....	79
19.	Efecto individual y combinatorio del procesamiento con UV-C y tratamientos térmicos sobre la concentración de flavonoides en bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante el almacenamiento.....	81
20.	Efecto del procesamiento individual y combinatorio de irradiación UV-C y tratamientos térmicos moderados en el tiempo de almacenamiento sobre los compuestos fenólicos individuales presentes en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	83
21.	Efecto del procesamiento individual y combinatorio de la radiación ultravioleta y tratamientos térmicos moderados sobre la carga nativa en bebidas almacenadas de té matcha con jugo de naranjita.....	87
22.	Análisis de varianza de las propiedades ópticas de las mezclas de té matcha-naranjita.....	106
23.	Análisis de varianza de la carga microbiana (mesófilos aerobios) en mezclas de té matcha-naranjita.....	107



24.	Análisis de varianza de la carga microbiana (psicrófilos aerobios) en mezclas de té matcha-naranja.	107
25.	Análisis de varianza de la carga microbiana (hongos y levaduras) en mezclas de té matcha-naranja.....	107
26.	Análisis de varianza de las propiedades fisicoquímicas de las mezclas de té matcha-naranja.....	108
27.	Análisis de varianza sobre la concentración de polifenoles totales en mezclas de té matcha-naranja.....	108
28.	Análisis de varianza sobre la concentración de flavonoides totales en mezclas de té matcha-naranja.....	108
29.	Análisis de varianza sobre la actividad antioxidante en mezclas de té matcha-naranja.....	109
30.	Análisis de varianza sobre el parámetro L^* en mezclas de té matcha-naranja.....	109
31.	Análisis de varianza sobre el parámetro a^* en mezclas de té matcha-naranja.....	109
32.	Análisis de varianza sobre el parámetro b^* en mezclas de té matcha-naranja.....	109
33.	Análisis de varianza sobre la diferencia de color en mezclas de té matcha-naranja.	110
34.	Análisis de varianza sobre la concentración de polifenoles totales durante 20 días de almacenamiento refrigerado a 4 °C de mezclas de té matcha-naranja.....	111
35.	Análisis de varianza sobre la concentración de flavonoides totales durante 20 días de almacenamiento refrigerado a 4 °C de mezclas de té matcha-naranja.....	111
36.	Análisis de varianza sobre la actividad antioxidante exhibida durante 20 días de almacenamiento refrigerado a 4 °C de mezclas de té matcha-naranja.....	111
37.	Análisis de varianza resumido sobre parámetros de color durante 20 días de almacenamiento de mezclas con 0% de sustitución de té matcha por jugo de naranja.....	112
38.	Análisis de varianza resumido sobre parámetros de color, durante 20 días de almacenamiento de mezclas con 4% de sustitución de té matcha por jugo de naranja.....	112



39.	Análisis de varianza resumido sobre parámetros de color, durante 20 días de almacenamiento de mezclas con 8% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita.....	112
40.	Efecto del almacenamiento sobre los polifenoles individuales de la mezcla de té matcha con 0% de sustitución de jugo de naranjita.....	112
41.	Efecto del almacenamiento sobre los polifenoles individuales de la mezcla de té matcha con 4% de sustitución de jugo de naranjita.....	113
42.	Efecto del almacenamiento sobre los polifenoles individuales de la mezcla de té matcha con 8% de sustitución de jugo de naranjita (día 0 y día 20)	113
43.	Análisis de varianza para el pH del té matcha con jugo de naranjita..	113
44.	Análisis de varianza para °Brix del té matcha con jugo de naranjita.	114
45.	Análisis de varianza para el parámetro L^* del té matcha con jugo de naranjita.....	114
46.	Análisis de varianza para el parámetro a^* del té matcha con jugo de naranjita.....	115
47.	Análisis de varianza para el parámetro b^* del té matcha con jugo de naranjita.....	115
48.	Análisis de varianza sobre la concentración de polifenoles totales durante 60 días de almacenamiento refrigerado de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita.....	116
49.	Análisis de varianza sobre la actividad antioxidante de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante 60 días de almacenamiento refrigerado.....	116
50.	Análisis de varianza sobre los flavonoides totales de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante 60 días de almacenamiento refrigerado de mezclas.....	116
51.	Análisis de varianza sobre los polifenoles individuales de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante 60 días de almacenamiento refrigerado.....	117
52.	Análisis de varianza sobre los mesófilos aerobios de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante almacenamiento a 4 °C.....	117
53.	Análisis de varianza sobre los psicrófilos aerobios de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante almacenamiento.....	117



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura.	Pág.
1. Estructura química de compuestos bioactivos presentes en el té verde	7
2. Estructura química de compuestos bioactivos presentes en la naranjita	8
3. Modificaciones en el ADN causado por el tratamiento de radiación UV-C.....	15
4. Diagrama de la distribución de las etapas del proyecto experimental.....	21
5. Esquema de unidad de procesamiento UV comercial CiderSure 3500 (FPE Inc., Macedon, N.Y.).....	23
6. Comparación del contenido de polifenoles totales de las diferentes mezclas procesadas.....	41
7. Comparación del contenido de flavonoides totales de las diferentes mezclas procesadas.....	43
8. Comparación del contenido de la actividad antioxidante de las diferentes mezclas procesadas.....	45
9. Cromatogramas del perfil polifenólico presente en bebidas de té matcha con jugo de naranjita y componentes individuales de la mezclas (naranjita y té matcha).....	53
10. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de rutina en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	56
11. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de ácido gálico en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	57
12. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de ácido clorogénico en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	58
13. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de ácido cafeico en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	59
14. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de epicatequina en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	60



15.	Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de epigallocatequina galato en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.....	61
16.	Cromatograma de te matcha con 8% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita.....	62
17.	Prueba triangular desarrollada para indentificar diferencias entre tratamientos térmicos frente a tratamiento de irradiación con UV-C, en bebidas de té matcha con jugo de naranjita.....	70
18.	Cromatogramas del perfil polifenólico presente en bebidas de té matcha con jugo de naranjita.....	85
19.	Curva de calibración para polifenoles totales (tercera fase experimental)	118
20.	Curva de calibración para flavonoides totales (tercera fase experimental)	118
21.	Curva de calibración para actividad antioxidante (tercera fase experimental)	118



LISTA DE ABREVIATURAS

cm ⁻¹	Centímetro a la menos uno
%	Por ciento
±	Mas menos
<	Menor que
>	Mayor que
≥	Mayor igual que
AA	Actividad antioxidante
ADN	Acido Desoxirribonucleico
ANOVA	Analysis of Variance (Análisis de varianza)
bs	Base seca
cm	Centímetro
cm ⁻²	Centímetro a la menos dos
CPT	Contenido de polifenoles totales
DPPH•	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
EAG	Equivalentes de ácido gálico
et al.	Y colaboradores
FDA	Food and Drugs administration (Administración de alimentos fármacos)
FT	Flavonoides totales
g	Gramos
GPH	Galones por hora
h	Hora
HPLC	High performance liquid chromatography (Cromatografía líquida de alta resolución)
J	Joule
kJ	kiloJoule
kPa	Kilo Pascales
min	Minuto
mJ	miliJoule
mL	Mililitro



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ms	Milisegundos
NaOH	Hidróxido de Sodio
Nm	Nanómetros
NOM	Norma Oficial Mexicana
°Brix	Grados Brix
°C	Grados Celsius
pH	Potencial de Hidrógeno
Ppm	Partes por millón
Trolox	Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico
UFC	Unidad Formadora de colonia
UNT	Unidad nefelométricas de turbidez
UV-A	Ultravioleta de onda larga
UV-B	Ultravioleta de onda media
UV-C	Ultravioleta de onda corta
UV-V	Ultravioleta de vacío
α	Coefficiente de absorción
λ	Profundidad de penetración
μL	Microlitro
μm	Micromol
EUA	Estados Unidos de America



RESUMEN

Se formularon tres mezclas de té matcha (*Camellia sinensis*) con sustituciones (0, 4 y 8%) con jugo de naranjita (*Citrus microcarpa B.*). Este estudio se dividió en 3 fases: en la primera fase, se formularon y caracterizaron las bebida funcionales, en la segunda fase, se estudió el impacto del tratamiento de irradiación UV-C individual a 4 dosis diferentes (5.79, 7.33, 9.69 y 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$), y tratamiento térmico convencional (TT) (85 °C x 30 s) en bebidas de té matcha con diferentes sustituciones de jugo de naranjita y se evaluó su estabilidad durante el almacenamiento a 4 °C, ambas fases se realizaron análisis fisicoquímicos y microbiológicos, en la tercera fase, se evaluó el efecto de los tratamientos individuales (UV-C a dosis fija: 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ y TTM: 55 °C x 30 s) y combinatorios de radiación UV-C y tratamientos térmicos moderados (UVTM), sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas de la bebida té matcha-naranjita al 8%, teniendo como control un TT y uno sin tratamiento (ST). En la primera fase, se observó un aumento en la turbidez y coeficiente de absorción a medida que se incrementaba el porcentaje de sustitución de té matcha por jugo de naranjita. Asimismo, la naranjita, además de aportar sabor, color y aroma a la bebida, tuvo un efecto importante en la reducción del pH, coadyuvando a estabilizar la bebida. Por otro lado, en la segunda fase, se encontró que los tratamientos de UV-C a dosis bajas (5.79 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) presentaron la misma eficacia que los TT. En mezclas con 4% (M4) y 8% (M8) de sustitución se observaron bajos recuentos microbianos en las mezclas sin tratar, en mezclas M8 no se observó crecimiento de microorganismos durante los 20 días de almacenamiento refrigerado. Sin embargo, las mezclas con 0% de sustitución (M0), si presentaron crecimiento. El efecto observado en mezclas M4 y M8, se relacionó con el incremento de la acidez asociado a los compuestos ácidos presentes en la naranjita. Los cambios de color observados fueron notorios en los TT aplicados a cada mezcla; en contraste, a dosis bajas de UV-C las mezclas no presentaron cambios notorios en los parámetros de color, efecto contrario observado a dosis más elevadas. El reemplazo del té matcha por jugo de naranjita condujo a una reducción significativa ($p < 0.05$) en el contenido de compuestos fenólicos (54%) comparado con muestras M0. Con base a los resultados en esta



fase, la mejor mezcla fue la de menor sustitución con jugo de naranjita (4%) e irradiadas a $5.79 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$, este se acercó más a lo obtenido en el tratamiento control, comparado con los TT. Adicionalmente, la bebida presentó una buena estabilidad microbiológica durante su almacenamiento refrigerado. En la tercera fase experimental la efectividad de los tratamientos combinatorios y cambios en atributos de calidad se evaluaron durante el almacenamiento refrigerado a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. El pH no presentó cambios entre tratamientos aplicados. Sin embargo, el tiempo de almacenamiento si repercutió ($p < 0.05$), observándose que los tratamientos control (ST) presentaron el valor más bajo ($p < 0.05$) comparado con el resto de los días de almacenamiento (15, 30 y 60 días). Los tratamientos combinatorios UV+ tratamiento térmico moderado (UVTTM) y TT no tuvieron diferencias entre los días de almacenamiento (0, 15, 30 y 60 días). En parámetros de color fue notorio que la luminosidad (L^*) se fue perdiendo ($p < 0.05$) durante los días de almacenamiento refrigerado, producto de la degradación de las clorofilas. Fue evidente que los UVTTM y tratamientos térmicos moderados (TTM) presentaron mayor luminosidad comparado con TT ($p < 0.05$). También fue visible una estabilidad del parámetro a^* durante los primeros 30 días de almacenamiento, notándose hasta el día 60 un decrecimiento notorio ($p < 0.05$) de este parámetro. En el parámetro b^* los tratamientos UVTTM presentaron valores cercanos al ST comparado con el TT. En general se encontró que el tiempo de almacenamiento afectó ($p < 0.05$) la actividad antioxidante (AA), contenido de polifenoles totales (CPT) y flavonoides totales (FT). El CPT se incrementó durante los 15 días de almacenamiento, donde solo los tratamientos de UV-C presentaron una reducción ($p < 0.05$). La AA y los FT permanecieron estable hasta los 15 días de almacenamiento, reduciéndose un 47% y un 30%, respectivamente, al día 30 de almacenamiento. Los UVTTM y UV-C presentaron mayor AA comparado con los TTM y ST ($p < 0.05$). Se detectaron 7 componentes fenólicos individuales: ácido gálico (AG), ácido clorogénico (ACI), ácido cafeico (AC), epicatequina (EC), epigallocatequina galato (EGCG), vainillina (VA), y rutina (RT). Se encontró que el contenido de AG en los tratamientos UVTTM no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$) comparadas con el ST al día 0, y al día 60 se observó una notoria disminución ($p < 0.05$). El ACI en bebidas procesadas con



UVTTM presentó los valores más altos comparados con los TT ($p < 0.05$). La RT, AC y la EC tratados con TTM, presentaron una reducción en la concentración a los 60 días de almacenamiento. Por otro lado, en la EGCG, los tratamientos UVTTM presentaron una concentración elevada comparada con los ST del día 0 ($p < 0.05$) y se obtuvo una reducción del 73% al día 60 de almacenamiento, resaltando que los TT mostraron una disminución total de EGCG. El análisis microbiológico de las bebidas procesadas, presentaron un crecimiento de mesófilos aerobios en todos los tratamientos aplicados a excepción de los TT, al día 0. Los días de almacenamiento posteriores solo los ST presentaron crecimiento de estos microorganismos. Al día 60 de almacenamiento, se observó un crecimiento de psicrófilos en todas las muestras procesadas. Los recuentos obtenidos estuvieron muy por debajo de lo permitido por la NOM-093-SSA1. Los tratamientos UVTTM ejercieron una buena eficiencia ($p < 0.05$) en la reducción de hongos y levaduras y coliformes totales de las mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita, al igual que los TT. Los resultados sugieren que la estabilización de bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita puede lograrse mediante el procesamiento combinatorio de luz UV-C a una dosis de $14.39 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ asistido con TTM ($55 \text{ }^\circ\text{C} \times 30 \text{ s}$) manteniendo su estabilidad durante 15 días de almacenamiento refrigerado, sin desarrollo microbiano o cambios significativos sobre las propiedades físicas y químicas de componentes bioactivos presentes en la bebida.



ABSTRACT

Three matcha tea blends (*Camellia sinensis*) with substitutions (0, 4 and 8%) were formulated with naranjita juice (*Citrus microcarpa* B.). This study was divided into 3 phases: in the first phase, functional drinks were formulated and characterized, in the second phase, the impact of individual UV-C irradiation treatment at 4 different doses was studied (5.79, 7.33, 9.69 and 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$), and conventional heat treatment (TT) (85 °C x 30 s) in matcha tea beverages with different substitutions of naranjita juice and their stability during storage at 4 °C was evaluated, both phases were analyzed physicochemical and microbiological, in the third phase, the effect of individual treatments (UV-C at dose: 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ and TTM: 55 °C x 30 s) and combinatorial UV-C radiation and moderated heat treatments was evaluated (UVTTM), on the physicochemical and microbiological characteristics of the 8% matcha-naranjita tea beverage, having as control one TT and one without treatment (ST). In the first phase, an increase in turbidity and absorption coefficient was observed as the percentage of substitution of matcha tea for naranjita juice increased. Likewise, the naranjita in addition to providing flavor, color and aroma to the drink, had an important effect in reducing the pH, helping to stabilize the drink. On the other hand, in the second phase, it was found that UV-C treatments at low doses (5.79 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) presented the same efficacy as TTs. In mixtures with 4% (M4) and 8% (M8) substitution, low microbial counts were observed in the untreated blends, in M8 no growth of microorganisms was observed during the 20 days of refrigerated storage. However, the blends with 0% substitution (M0) did show growth. The effect observed in mixtures M4 and M8 was related to the increase in acidity associated with the acidic compounds present in the naranjita. The observed color changes were noticeable in the TT applied to each blend; In contrast, at low doses of UV-C the blends did not show noticeable changes in the color parameters, the opposite effect observed at higher doses. The replacement of matcha tea by naranjita juice led to a significant reduction ($p<0.05$) in the content of phenolic compounds (54%) compared to M0 samples. Based on the results in this phase, the best blend was the one with the least substitution with naranjita juice (4%) and irradiated at 5.79 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$, this was closer to that obtained in the control treatment,



compared to the TT. Additionally, the beverage showed good microbiological stability during its refrigerated storage. In the third experimental phase, the effectiveness of the combinatorial treatments and changes in quality attributes were evaluated during refrigerated storage at 4 °C. The pH did not show changes between applied treatments. However, the storage time did affect ($p < 0.05$), observing that the control treatments (ST) presented the lowest value ($p < 0.05$) compared to the rest of the storage days (15, 30 and 60 days). The combinatorial treatments UV + moderate heat treatment (UVTTM) and TT did not have differences between the days of storage (0, 15, 30 and 60 days). In color parameters it was noticeable that the luminosity (L^*) was lost ($p < 0.05$) during the days of refrigerated storage, product of the degradation of chlorophylls. It was evident that UVTTM and moderate heat treatments (TTM) presented greater luminosity compared to TT ($p < 0.05$). A stability of the a^* parameter was also visible during the first 30 days of storage, with a noticeable decrease ($p < 0.05$) of this parameter until day 60. In the b^* parameter, UVTTM treatments presented values close to ST compared to TT. In general, it was found that the storage time affected ($p < 0.05$) the antioxidant activity (AA), content of total polyphenols (CPT) and total flavonoids (FT). The CPT increased during the 15 days of storage, where only the UV-C treatments showed a reduction ($p < 0.05$). AA and FT remained stable up to 15 days of storage, reducing by 47% and 30%, respectively, at day 30 of storage. UVTTM and UV-C presented higher AA compared to TTM and ST ($p < 0.05$). 7 individual phenolic components were detected: gallic acid (AG), chlorogenic acid (ACI), caffeic acid (AC), epicatechin (EC), epigallocatechin gallate (EGCG), vanillin (VA), and rutin (RT). It was found that the AG content in the UVTTM treatments did not present a significant difference ($p > 0.05$) compared to the ST at day 0, and at day 60 a noticeable decrease was observed ($p < 0.05$). The ACI in beverages processed with UVTTM presented the highest values compared to the TT ($p < 0.05$). RT, AC and EC treated with TTM showed a reduction in concentration at 60 days of storage. On the other hand, in the EGCG, the UVTTM treatments presented a high concentration compared to the STs of day 0 ($p < 0.05$) and a reduction of 73% was obtained at day 60 of storage, highlighting that the TT showed a total decrease of EGCG. The microbiological analysis of the processed beverages



showed an aerobic mesophilic growth in all the applied treatments except for the TT, on day 0. On the subsequent storage days, only the STs showed growth of these microorganisms. At day 60 of storage, psychrophilic growth was observed in all processed samples. The counts obtained were below what is allowed by NOM-093-SSA1. The UVTTM treatments exerted a good efficiency ($p < 0.05$) in the reduction of fungi and yeasts and total coliforms of the matcha tea blends with 8% substitution with naranjita juice, as did the TT. The results suggest that the stabilization of matcha tea drinks with 8% substitution with naranjita juice can be achieved by combinatorial processing of UV-C light at a dose of $14.39 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ assisted with TTM ($55 \text{ }^\circ\text{C} \times 30 \text{ s}$) maintaining its stability during 15 days of refrigerated storage, without microbial development or significant changes on the physical and chemical properties of bioactive components present in the beverage.



I. INTRODUCCIÓN

El valor nutricional y económico de los zumos de frutas, vegetales y plantas es bien conocido, ya que estos en conjunto, son los mejores transportadores de vitaminas, minerales, antioxidantes y otras sustancias bioactivas que promueven la salud y mejoran el bienestar humano. Es por ello que el desarrollo de nuevas bebidas a base de extractos o infusiones de plantas como el té mezcladas con otros ingredientes como jugos, extractos o zumos de frutas, verduras, entre otros, crean nuevas combinaciones sensorialmente más atractivas, más “verdes” y brindan sabores novedosos que cada vez más demandan los consumidores. Dentro de las variedades de té existentes procedentes de *Camellia sinensis*, el té matcha ha causado particular interés entre los consumidores por su sabor y los numerosos beneficios que trae consigo el consumirlo. Estos beneficios a la salud principalmente, los encasilla como un ingrediente funcional que promete su aplicación en la industria alimentaria (Zhang et al., 2020; Koláčková et al., 2020). El matcha (*Camellia sinensis*) es un té verde en polvo que se elabora con las hojas jóvenes de arbustos de té que han sido sombreados durante algunas semanas previo a su cosecha. Este proceso de obtención del té matcha le confiere características específicas en las hojas, como un alto contenido de fitoquímicos como: polifenoles, cafeína y clorofila (Koláčková et al., 2020). Asimismo, el uso de cítricos, como ingrediente de mezclas, podría mejorar el aroma y sabor del té matcha en el desarrollo de bebidas. Entre los cítricos con potencial uso en mezclas se encuentra la naranjita (*Citrus microcarpa B.*). Esta es conocida como calamondin o calamansi en los países asiáticos (Ruiz-Armenta et al., 2018). Es un híbrido cítrico que se caracteriza por un bajo contenido de azúcares y una alta acidez, atribuida al ácido ascórbico y cítrico presentes en el jugo de la fruta, además de poseer un particular aroma (Cheong et al., 2012; Nisperos-Carriedo et al., 1992). El uso de té matcha y jugo de naranjita es una alternativa que en mezclas adecuadas dan como resultado una bebida refrescante y equilibrada en el contenido de compuestos fitoquímicos. Sin embargo, la conservación de estas bebidas a través del procesamiento térmico causa al mismo tiempo una pérdida en la composición nutricional, además de repercutir en atributos de aceptabilidad como sabor, color,



textura y aroma. Dentro de los fitoquímicos que se encuentran en el té matcha están las catequinas, una clase de polifenol (flavonoides) que se degradan por la influencia del procesamiento térmico y pH elevados. En los sistemas acuosos calientes, las catequinas se someten a epimerización (conversión de la catequina del té en su isómero correspondiente), cambia la estructura de la catequina, causando una disminución considerable en la concentración de catequinas totales en las bebidas procesadas (Ananingsih et al., 2013; Zimmermann y Gleichenhagen, 2011). Estudios realizados por Komatsu et al. (1993) mostraron que las bebidas de té en autoclave a 120 °C durante 20 minutos, presentaron una disminución de las catequinas en un 24%. De manera análoga, Kim et al. (2007), evaluaron el efecto de la temperatura de pasteurización, encontrando que a 120 °C se redujo el contenido de epigallocatequina galato en un 40.22% y el de epicatequina en un 16.67% siendo los flavonoides principales en el té verde. Además, de estos cambios, el procesamiento térmico promueve reacciones de oxidación que afectan el color del licor de té, obteniéndose colores más oscuro y menos verdes (Ananingsih et al., 2013). El procesamiento térmico de jugos cítricos como la mandarina causa el desprendimiento de compuestos volátiles como, metanetiol, un volátil de azufre con olor pútrido (Cheng et al., 2020). Para evitar la degradación de los compuestos bioactivos y preservar un alto valor nutricional y un sabor "fresco" en las bebidas, se necesitan técnicas de procesamiento térmicas moderadas (Troy et al., 2016) o tecnologías no térmicas. Las tecnologías no térmicas, como la radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) se ha aplicado como una alternativa de bajo costo, para la conservación de bebidas, minimizando el daño a los compuestos bioactivos y preservando la calidad del producto final. A una longitud de onda de 254 nm la UV-C tiene un efecto germicida en líquidos. Esto se debe a la alta capacidad de las bases nitrogenadas del ADN bacteriano de absorber la radiación UV-C, que causa una alteración severa en el material genético de la bacteria, que evita la replicación correcta del ADN y conduce a la muerte celular (Mitchell et al., 1991). El departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) y la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) aprobaron la irradiación UV-C como un método seguro en la pasteurización de jugos, ya que



permite alcanzar 5 factores de reducción logarítmica de microorganismos patógenos (Koutchma, 2009; Tandon et al., 2003). Se ha reportado la efectividad de los tratamientos de irradiación UV-C en la inactivación de microorganismos en diferentes bebidas como: jugo de naranja (Fenoglio et al., 2019; Gayán, et al., 2012) jugo de manzana (Xiang et al., 2020; Islam et al., 2016), bebida de Aloe vera (Rodríguez-Rodríguez et al., 2020); de zanahoria-naranja con Yerba Mate (Ferrario et al., 2018); así como en té verde (Vergne et al., 2018). Numerosos estudios sustentan la efectividad de la luz ultravioleta para inactivar el crecimiento de microorganismos patógenos, pero presenta limitaciones para la inactivación de microorganismos alteradores como hongos y levaduras. Además, la eficacia del tratamiento con UV-C depende de factores como la composición química, las propiedades ópticas, los sólidos en suspensión, pH, las dosis aplicadas y el principio de funcionamiento de los sistemas de UV-C utilizados, que pueden ser discontinuos o continuos. Este último es el más recomendado por su facilidad de uso y minimización de los tiempos de exposición de los líquidos a la radiación UV-C. Estos factores deben ser evaluados para obtener condiciones apropiadas de procesamiento utilizando radiación UV-C. Estudios relacionados a la aplicación de UV-C para el desarrollo de bebidas a base de té matcha, son escasos (Vergne et al., 2018) por lo que la evaluación del impacto de la tecnología UV-C en el procesamiento de bebidas a base de té matcha mezclado con cítricos como la naranjita y combinado con tratamientos térmicos moderados representa una oportunidad para explorar la tecnología UV-C y determinar sus efectos sobre los cambios en el perfil de los compuestos bioactivos y otras propiedades fisicoquímicas, como alternativa al procesamiento térmico, para la estabilización de estas bebidas funcionales.

II. ANTECEDENTES

2.1 Tendencias en la producción de alimentos

En las últimas décadas ha sido notorio que los consumidores demandan alimentos que contribuyan directamente a su salud. La apuesta es por productos que propicien su bienestar personal, esto derivado del ritmo de vida acelerado que abocan al



consumidor hacia la búsqueda de una alimentación saludable, baja en grasa o azúcares y que además le ayude a combatir el estrés, reducir la fatiga y obtener energía (Centro Tecnológico Ainia, 2018). Para el sector de la alimentación, esta coyuntura es una oportunidad para ofrecer soluciones en formatos nuevos o variedades de producto que incluyen una gama de ingredientes naturales como frutas, vegetales, cereales o ingredientes funcionales cuyo consumo cubra las demandas del consumidor y genere efectos benéficos en su salud. En este sentido, la funcionalidad de los alimentos tiene en la actualidad un papel destacado en los mercados, ya que además de los aportes nutricionales requeridos por el consumidor, uno de los criterios determinantes es la búsqueda de los posibles beneficios en su salud que podría obtener en su consumo. El término “alimento funcional” se utilizó por primera vez en Japón, en 1980, para productos alimenticios enriquecidos con componentes especiales que poseen efectos fisiológicos ventajosos. Posteriormente, su comercialización se dispersó hacia los Estados Unidos y Europa, y actualmente están presente en la mayoría de los países del mundo (González-Rodríguez et al., 2015). La acción concertada de la Comisión Europea en materia de Ciencia de los Alimentos en Europa (FuFoSE), coordinada por International Life Science Institute (ILSI) Europa, definió la alimentación funcional de la siguiente manera: "Un producto alimenticio solo puede considerarse funcional si junto con el impacto nutricional básico tiene efectos beneficiosos en uno o más funciones del organismo humano, mejoran las condiciones generales y físicas o disminuyen el riesgo de evolución de enfermedades". Es importante destacar que un alimento funcional puede ser un alimento natural, al que se le ha añadido o en el que se ha eliminado un componente, aquel al que se le ha modificado la naturaleza de uno o varios de sus componentes, o en el que la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes ha sido modificada o cuando se ha producido cualquier combinación de las anteriores posibles. Asimismo, los ingredientes con propiedades funcionales pueden ser macronutrientes (almidón, péptidos, ácidos grasos omega 3, etc.), micronutrientes (vitaminas o minerales), o no nutrientes (antioxidantes), etc., pero es necesario que ejerza sus efectos beneficiosos consumido en el contexto de



un alimento, dentro de una dieta convencional y en la cantidad en que habitualmente es ingerido (Cencic et al., 2010).

En esta gama de alimentos funcionales se incluyen, cereales instantáneos, productos cárnicos procesados, alimentos con procesamiento mínimo, zumos de frutas y hortalizas y bebidas formuladas. Estas últimas con una expansión importante en el mercado, ya que los jugos son más que una opción frente a los tradicionales refrescos y a nivel industrial cada vez incluyen menos nutrientes indispensables para la salud, por lo cual tienen un potencial de crecimiento importante cuando se les relaciona con propiedades benéficas (Bebidas mexicanas, 2017). En este sentido, de todos los productos funcionales que actualmente se ofrecen en el mercado, las bebidas son las más emergentes de todas las categorías por su conveniencia y posibilidad de satisfacer las necesidades de los consumidores en términos de contenido, tamaño, forma y apariencia, por su facilidad de distribución y almacenamiento, por su larga vida útil y por la oportunidad de incorporar nutrientes y componentes bioactivos fácilmente (Jiménez-Cucaita, 2017). Existen diferentes tipos de productos comerciales como: bebidas lácteas incluyendo bebidas probióticas y bebidas enriquecidas con minerales y omegas, bebidas de frutas y vegetales, bebidas energizantes y deportivas (Corbo et al., 2014). Siendo las bebidas de té matcha con jugo de naranjita el foco de interés en esta investigación.

2.2. Componentes empleados para el desarrollo de bebidas funcionales

Dentro de los ingredientes empleados para el desarrollo de bebidas funcionales destacan la adición de compuestos bioactivos, metabolitos secundarios carentes de valor nutritivo de origen vegetal (Patil et al., 2009, Batchu et al., 2013). Estos compuestos bioactivos se encuentran de forma natural en los alimentos y han recibido particular interés en medicina y salud pública, que de acuerdo a diferentes publicaciones científicas desempeñan funciones importantes en la prevención y mejora de determinadas enfermedades (Torija-Isasa, 2016).



Las frutas y verduras contienen diversos componentes a los cuales le confieren olor y sabor agradables; así como compuestos bioactivos responsables de darle color y hacerlas más atractivas. Muchos de estos compuestos son vitales para el mantenimiento de la salud humana, lo cual hace que funjan un rol fundamental en la dieta. Por tal motivo, estos componentes o las frutas y vegetales que los contienen entran en la categoría de alimentos funcionales (Barragán-Valbuena, 2011). Aunado a ello, la composición que presentan las frutas y verduras permite utilizarlas en una diversidad de formas. La forma mas utilizada es la extracción de sus jugos, ya que se obtienen en gran medida tanto compuestos nutricionales, como compuestos bioactivos en un formato disponible, de sabor agradable al paladar y de fácil consumo para el cliente.

2.3. Compuestos bioactivos presentes en alimentos

Algunos alimentos se distinguen por su contenido, cualitativo y cuantitativo, de compuestos bioactivos. Los fitoquímicos más comunes presentes en el té verde son catequinas (principal flavonoide), cafeína y teofilina (Figura 1). Mientras que en los cítricos (Figura 2), los terpenoides responsable de su distintivo aroma y en las frutas tropicales son las vitaminas (C y E), carotenoides, compuestos fenólicos y fibra dietética, estos componentes han sido relacionados como compuestos benéficos para la salud, ya que se les han atribuido la reducción del riesgo de desarrollar cáncer, Alzheimer, cataratas, Parkinson, entre otros. Estos efectos beneficiosos se han vinculado principalmente a su poder antioxidante (actividades de captación de radicales libres que pueden retrasar o inhibir la oxidación del ADN, proteínas y lípidos) (Dubey et al., 2020; Navarro-González et al., 2017, Berk, 2016). Dentro de estos se encuentran los compuestos fenólicos, que constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Asimismo, contribuyen en gran medida al sabor, color y textura de los alimentos (Cheynier, 2005). La función biológica de los compuestos fenólicos va a depender del compuesto al que esté conjugado, que pueden ser azúcares como la galactosa, glucosa o arabinosa, y también ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas y lípidos (Cheynier, 2005). Siendo los

polifenoles los principales antioxidantes de la dieta, su ingesta es 10 veces superior a la de la vitamina C y 100 veces superior a la de la vitamina E o los carotenoides (Cárdenas-Baquero, 2015). La principal fuente de compuestos fenólicos en la dieta son los alimentos de origen vegetal (frutas, verduras, semillas, flores, etc.). Algunos ejemplos de alimentos consumidos con frecuencia son cerveza, vino, té verde y negro, remolachas rojas, cacao, arándanos, zarzamoras, uvas y cítricos, que son citados como fuentes ricas de antioxidantes (Muñoz-Jáuregui y Ramos-Escudero, 2007). Su gran variedad estructural, así como la influencia de factores genéticos, agronómicos, del procesado y almacenamiento de los alimentos, hace difícil estimar con exactitud la ingesta de compuestos fenólicos en la dieta. Todos estos factores, aunados a las propias características intrínsecas inherentes a los humanos hace complicado estimar la dosis óptima diaria que debería ser ingerida, no existiendo una IDR (ingesta diaria recomendada) para estos compuestos bioactivos (Navarro-González et al., 2017).

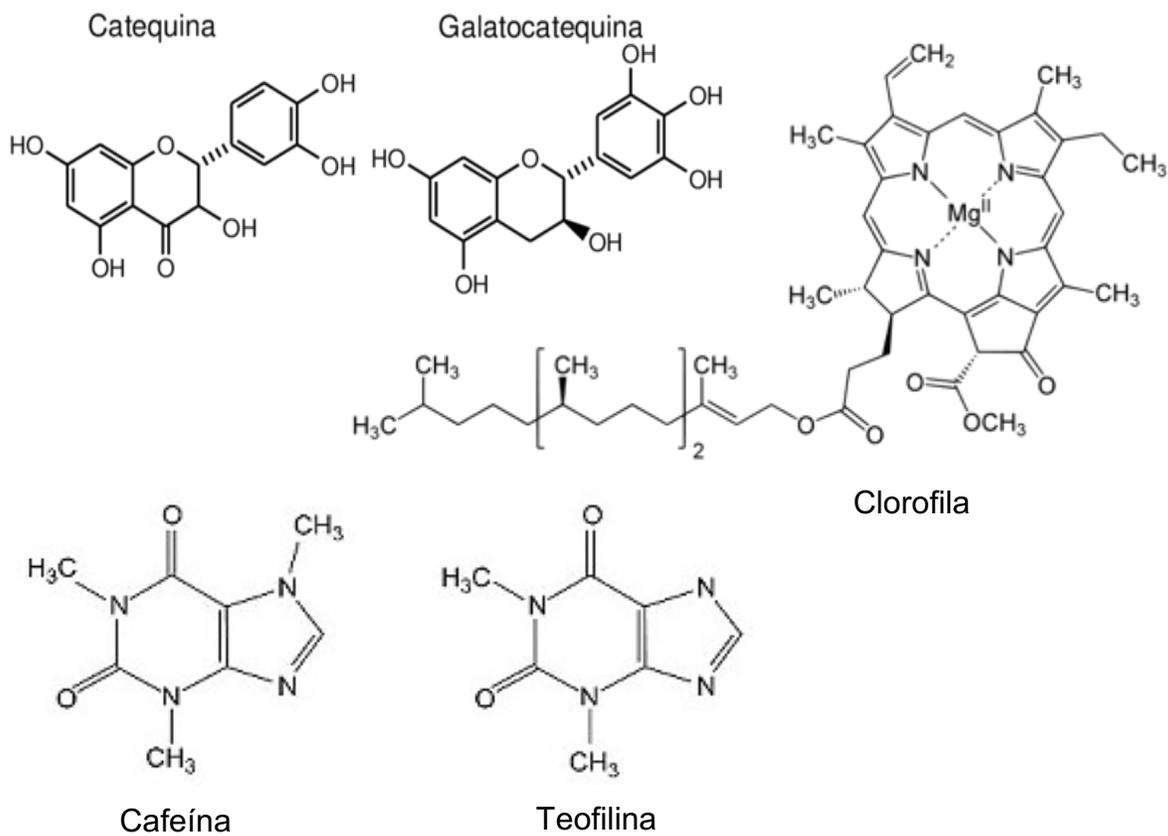


Figura 1. Estructura química de compuestos bioactivos presentes en el té verde

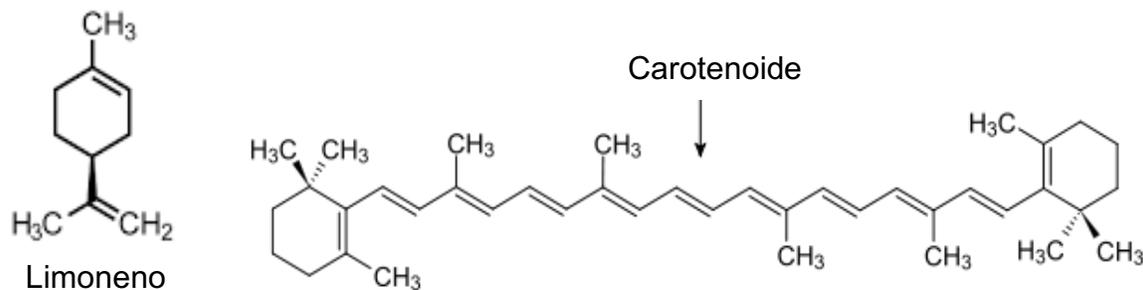


Figura 2. Estructura química de compuestos bioactivos presentes en la naranjita

Así como en los polifenoles, también existe una gran cantidad de pigmentos de origen botánico; entre los que destacan: los carotenoides (colores que van del amarillo al naranja), Khoo et al. (2011), las antocianinas (coloraciones rojas) Awika et al. (2004), taninos y betalainas (coloraciones que oscilan entre el rojo y amarillo), Woo et al. (2011) y las clorofilas (responsables del color verde en vegetales de hojas) Li et al. (2018), siendo este último uno de los más ampliamente utilizados y conocidos en la industria de los alimentos.

Partiendo del hecho de formular bebidas que aporten un beneficio a la salud, es importante cumplir con criterios de calidad, lo cual es decisivo para que el consumidor elija adquirir el producto. Dentro de estos parámetros están los atributos de color, olor, sabor y textura. Además la tendencia marcada que existe en la búsqueda de novedosos sabores y presentaciones en las bebidas, hace que los expertos en alimentos reinventen las tradiciones en algo atractivo para el mercado. Tal es el caso de las bebidas a base de plantas como el té, las cuales se han convertido cada vez más populares en todo el mundo, de igual manera, la combinación del té con otros ingredientes como jugos de frutas, extractos vegetales, entre otros, brinda nuevas combinaciones más naturales y más “verdes” que hacen que incremente su aceptabilidad por parte de los consumidores Zimmermann y Gleichenhagen, (2011). El té matcha es considerado un alimento funcional derivado de su alta capacidad antioxidante. Es un polvo fino hecho con las hojas jóvenes del té verde que han sido sombreadas poco tiempo antes de ser cosechadas, mostrando bajo este tipo de cultivación características específicas en las plantas,



como alto contenido de polifenoles, cafeína y clorofilas (Zhang et al., 2020; Koláčková et al., 2020). El uso de cítricos como ingrediente de mezcla podría coadyubar al mejoramiento de la bebida en cuanto a sabor, olor y estabilizador del color provocado por la reducción del pH e inducido por los ácidos orgánicos presentes en los cítricos. Entre los cítricos, la naranjita, también conocida como calamansi o calamondin en países asiáticos (Ruiz-Armenta et al., 2018), contiene altos niveles de ácido ascórbico y ácido cítrico, que en mezcla, dan una bebida refrescante y balanceada. Sin embargo, la estabilización de estas bebidas “ready to drink” envasadas en vidrio y plástico son más susceptibles al deterioro por levaduras y mohos que las bebidas enlatadas. Se ha informado el crecimiento de bacterias patógenas con organismos de descomposición en las bebidas cuando el pH nativo de las bebidas oscila entre 2.5 – 6.5 en ausencia de conservadores (Dubey et al., 2020). Por tal motivo, es necesario la aplicación de métodos de conservación seguros que prolonguen la vida de anaquel de estos productos.

2.4 Métodos de conservación de bebidas

El propósito general de la conservación de alimentos es mantener la calidad sensorial y el valor nutricional al tiempo que se evita el deterioro (microbiano, enzimático y químico) del alimento. Dentro de los métodos de conservación existentes, el más utilizado en la preservación de jugos es la pasteurización, esta se relaciona con los productos que son comercialmente estériles, lo que permite a largo plazo el almacenamiento y distribución dentro de la cadena de suministro del alimento. Los productos pueden mantenerse refrigerados en el punto de venta porque los consumidores prefieren comprar una bebida fría, pero generalmente no se percibe como que necesita ser refrigerada (Rajauría y Tiwari, 2018). El criterio de procesamiento definido por la FDA para el tratamiento de jugos de frutas es una reducción de cinco ciclos logarítmicos en el número de microorganismos en cuestión. Además, la definición de “pasteurización” para los alimentos ha sido revisada recientemente y ahora incluye a cualquier proceso, tratamiento o combinación de los mismos, que se aplica a los alimentos para reducir los microorganismos indeseables en un producto (Koutchma, 2009).



2.4.1 Tratamientos térmicos

Convencionalmente la pasteurización forma parte de los tratamientos térmicos más utilizados para estabilizar productos, porque tiene la capacidad de destruir microorganismos e inactivar enzimas, que como consecuencia contribuye con el aumento de la vida útil de las bebidas a las cuales se aplica (Villareal et al., 2013). Las condiciones de pasteurización son escogidas para cada bebida con base a sus propiedades específicas. En el caso de los jugos, la pasteurización se realiza a 95°C por 30 segundos (López-Díaz et al., 2012).

2.4.1.1. Limitaciones del uso de tratamientos térmicos

La pasteurización es una tecnología efectiva para alcanzar los requisitos de seguridad, sin embargo, para bebidas, zumos de frutas y verduras y muchos otros productos tratados térmicamente presentan limitaciones, ya que el costo del equipo es prohibitivo, especialmente para pequeñas empresas. Muchas veces modifica las características tanto sensoriales (textura, sabor y color), como nutricionales (pérdidas de vitaminas del alimento), repercutiendo en la aceptabilidad del producto. También se ve limitado el aporte nutricional que dichas bebidas ofrecen al consumidor principalmente por la sensibilidad al calor que presentan ciertos componentes bioactivos a los cuales se le atribuye beneficios a la salud (Krishna-Teja et al., 2017).

Dentro de los componentes bioactivos que tienen particular interés entre los consumidores se encuentran los antioxidantes. Esto como resultado de los grandes beneficios que brindan. Es por ello que los jugos de fruta procesados que retienen en gran cantidad sus antioxidantes procedentes de las frutas frescas tienden a presentar una gran demanda. Sin embargo, algunos de los antioxidantes se degradan con el tratamiento térmico (Lee y Coates, 2003). Las pérdidas de antioxidantes pueden llevar a productos incoloros, como los reportados por Chen et al. (1996) en jugo de zanahoria, y por lo tanto causa productos de menor calidad.

En cítricos, el tratamiento térmico además de inactivar enzimas y reducir microorganismos, también tiene efectos sensoriales adversos. La calidad sensorial de las bebidas es afectada con la inducción del “sabor cocido”, la destrucción de



vitaminas y cambios de color que hacen el producto menos atractivo para el consumidor (Berk, 2016). Dentro de estos atributos, los compuestos volátiles responsables del olor representan gran importancia en el desarrollo de bebidas, sin embargo, después del tratamiento térmico, la pérdida promedio en la concentración de compuestos volátiles de bajo peso molecular (β -mirceno, limoneno y α -pineno) en jugos de naranja presentó una disminución del 35% según lo reportado por Sampedro et al. (2009). Por otro lado, estudios realizados por Lee y Coates, (2003) en jugos de naranja Valencia reportaron una pérdida significativa de los carotenoides totales al someterlos a 90 °C por 30 s, obteniendo pérdidas entre 24.8 – 46.4% en antheraxantina y violaxantina respectivamente; también presentaron cambios perceptibles de color, tornándose más claros y saturados. Resultados similares fueron reportados por Lu et al. (2018) en jugo de naranja Cara Cara, donde el contenido de β -caroteno disminuyó después del tratamiento térmico, quedando solo un 76.08% en el jugo.

Asimismo, Cortés et al. (2008) encontraron que en jugos de naranja pasteurizados presentaron mayor tendencia al parámetro b^* (tendencia al color amarillo) y menos tendencia al color rojo (parámetro a^*), comparado con jugos no tratados. Sánchez-Moreno et al. (2005) obtuvieron resultados similares en cambios de color en jugos de naranja, además mencionan que el proceso de pasteurización condujo a un contenido de naringenina disminuido (16.04%) en los jugos, la cual es una flavonona perteneciente al grupo de los flavonoides con actividad biológica. Por último, compuestos como el licopeno, los α y β carotenos pueden sufrir reacciones de oxidación, isomerización y otros cambios químicos durante el procesamiento térmico y el almacenamiento, esto debido a que su estructura se encuentra altamente insaturada (Rodríguez-Amaya y Kimura, 2004; Shi et al., 2003). Por otro lado, en bebidas “ready to drink” a base de té verde por efecto de las altas temperaturas utilizadas en la pasteurización, pueden destruir el equilibrio del aroma del té y causar sabores desagradables en las bebidas, estos efectos son inducidos por dos factores. Deterioro de compuestos aromáticos inestables en las hojas como es el caso del Hexanal y sus alcoholes (1-Penten-3-ol, (E)-2-Hexanal, (Z)-2-penten-



1-ol) y la liberación de compuestos volátiles de precursores no volátiles como el linalol y el geraniol que se encuentran en infusiones de té verde (Kinugasa y Takeo, 1990) Asimismo, a temperaturas entre los 80 °C a 120 °C, el licor de té verde se torna a más oscuro, con menor brillo, se perciben colores menos verde y más amarillos intensos (Kim et al., 2007). Estudios realizados por Chen et al. (2001), observaron que las catequinas del té en bebidas comerciales a base de té, la epigallocatequina galato y las epigallocatequinas son más inestables que las epicatequinas; aproximadamente el 50% de las catequinas son epimerizadas por efecto de los tratamientos térmicos (Chen et al., 2001). Por último, Kim et al. (2007) identificaron 20 compuestos volátiles, dentro los cuales se encontraron el fenilacetaldehído, linalol, óxido de linalol III, α -terpineol (olor tenue amoniac) e indol (olor fecal), a los cuales se les atribuyó el cambio en el sabor del licor de té verde. Si bien el tratamiento térmico es el método más comúnmente utilizado en la industria alimentaria para garantizar la seguridad de los productos, son muchos los efectos adversos que estos procedimientos a altas temperaturas generan en el producto, en atributos sensoriales, aspecto crucial en la aceptabilidad de los productos por parte del consumidor. Debido a esto, se encuentran en desarrollo procesos no térmicos de conservación, también denominados tecnologías emergentes o alternativas (López-Díaz et al., 2012).

2.4.2. Tecnologías alternativas

Como consecuencia de las exigencias que tienen los consumidores, el procesamiento de alimentos y las técnicas de conservación están continuamente evolucionando para ajustarse a las demandas del consumidor moderno. Es por ello que en las últimas dos décadas ha aumentado el estudio de las tecnologías alternativas, dentro de las cuales se encuentran las tecnologías no térmicas, mismas que han resultado ser poco agresivas y tienen la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos, manteniendo la calidad nutrimental y sensorial de los alimentos. Además son producidos con métodos más sustentable que tienen pequeñas huellas de carbono comparado con los métodos tradicionales utilizados (López-Díaz et al, 2012; Agarwal y Das, 2001).



Dentro de las tecnologías no térmicas utilizadas para el procesamiento de jugos y bebidas la tecnología de radiación ultravioleta de onda corta (UV-C), como método físico de conservación, ha tenido particular interés en la industria alimentaria. Esta tecnología figura como una tecnología de bajo costo, donde diversos estudios soportan la viabilidad de este método como alternativa a los procesamientos térmicos convencionales. Promete en gran medida la preservación de compuestos bioactivos y nutricionales de los frutos y genera cambios mínimos en atributos sensoriales, además puede ser utilizado en un amplio rango de alimentos líquidos (Koutchma, 2009).

2.4.2.1 Tecnología de radiación ultravioleta

2.4.2.1.1. Aspectos generales

La región ocupada por la luz ultravioleta en el espectro electromagnético se encuentra entre la luz visible y los rayos X, con una longitud de onda comprendida entre los 10 y 400 nm. Esta se subdivide en cuatro categorías: UV-vacío (10-200 nm), onda larga UV-A (315-400 nm), onda media UV-B (280-315 nm) y onda corta UV-C (200-280 nm). Siendo esta última conocida como la radiación germicida, ya que específicamente a los 254 nm presenta la máxima eficiencia para la inactivación de microorganismos patógenos. Los mecanismos básicos de la radiación UV-C involucran reacciones fotoquímicas que pueden ser iniciadas en dos formas: 1) **Reacciones directas de absorción:** donde una molécula recibe un fotón de luz y lo absorbe, lo que ocasiona una reacción química y cambio de estado. El grado de la reacción química depende del rendimiento cuántico y la fluencia de los fotones incidentes. La luz UV-C a 257.3 nm tiene una energía radiante de 112.8 kcal/Einstein, si esta energía es absorbida, teóricamente, es posible afectar las uniones O-H, C-C, C-H, C-N, H-N, y S-S (Koutchma et al., 2009). 2) **Fotosensibilización:** el tipo más recurrente encontrado es la foto-oxidación. Los fotosensibilizadores son normalmente excitados desde un estado base a un estado excitado singlete de corta duración que sufre una conversión a un estado triplete de larga duración que media el proceso. El sensibilizador triplete puede reaccionar posteriormente por dos vías



principales: por proceso de transferencia de hidrógeno o electrón, o por reacciones de transferencia de energía (Gomez-Lopez et al., 2012).

2.4.2.1.2. Mecanismo de acción de la radiación UVC

A excepción de las bacterias fotosintéticas, la mayoría de los microorganismos son susceptibles al daño por la radiación UV (Mendonca, 2002). El efecto destructivo de la radiación UV sobre los microorganismos está en función de la longitud de onda. Como se mencionó anteriormente, la radiación UV de longitud de onda a 254 nm se absorbe en un nivel que es suficiente para la desinfección; esto se debe a que ocasiona cambios físicos en los electrones y el rompimiento de enlaces en el ácido desoxirribonucleico (ADN), inactivando así los procesos de crecimiento y reproducción microbiana (Bolton y Cotton, 2011). La alta capacidad del ADN, presente en el núcleo de la célula, de absorber la radiación UV-C se debe a sus bases nitrogenadas púricas y pirimidinas (Shama, 1999). Dentro de las lesiones que pueden ser inducidas por la UV-C se encuentran los dímeros de pirimidina y los productos fotoquímicos de pirimidina, 6-4 pirimidona (Friedberg et al., 2006). Estos dímeros se forman entre las bases de timina-timina, citosinas-citosina o citosina-timina, lo cual está delimitado por la composición de los nucleótidos. Sin embargo, los dímeros de timina (enlace covalente entre bases timina y timina adyacentes) son más probable que aparezcan (Rastogi et al., 2010). La timina es la única base que tras la exposición a la radiación UV-C sufre una reacción fotoquímica, formando fuertes enlaces covalentes entre ellas, que alteran gravemente el material genético. Por lo tanto, cuando estos microorganismos se exponen a la radiación UV de 254 nm, ésta atraviesa la pared celular, llega hasta el núcleo y si encuentra una región del ADN con dos timinas adyacentes una de las bases absorbe un fotón y se forma un dímero de alta energía (Adams y Moss, 1995). Estos dímeros impiden la replicación correcta del ADN, de forma que este método de desinfección se basa en la formación de suficientes parejas de dímeros para impedir la reproducción celular (Shama, 1999; Sastry et al., 2000; Bolton y Cotton, 2001). En la Figura 3, se puede observar un fragmento de una molécula de ADN normal y otra modificada por la radiación UV-C.

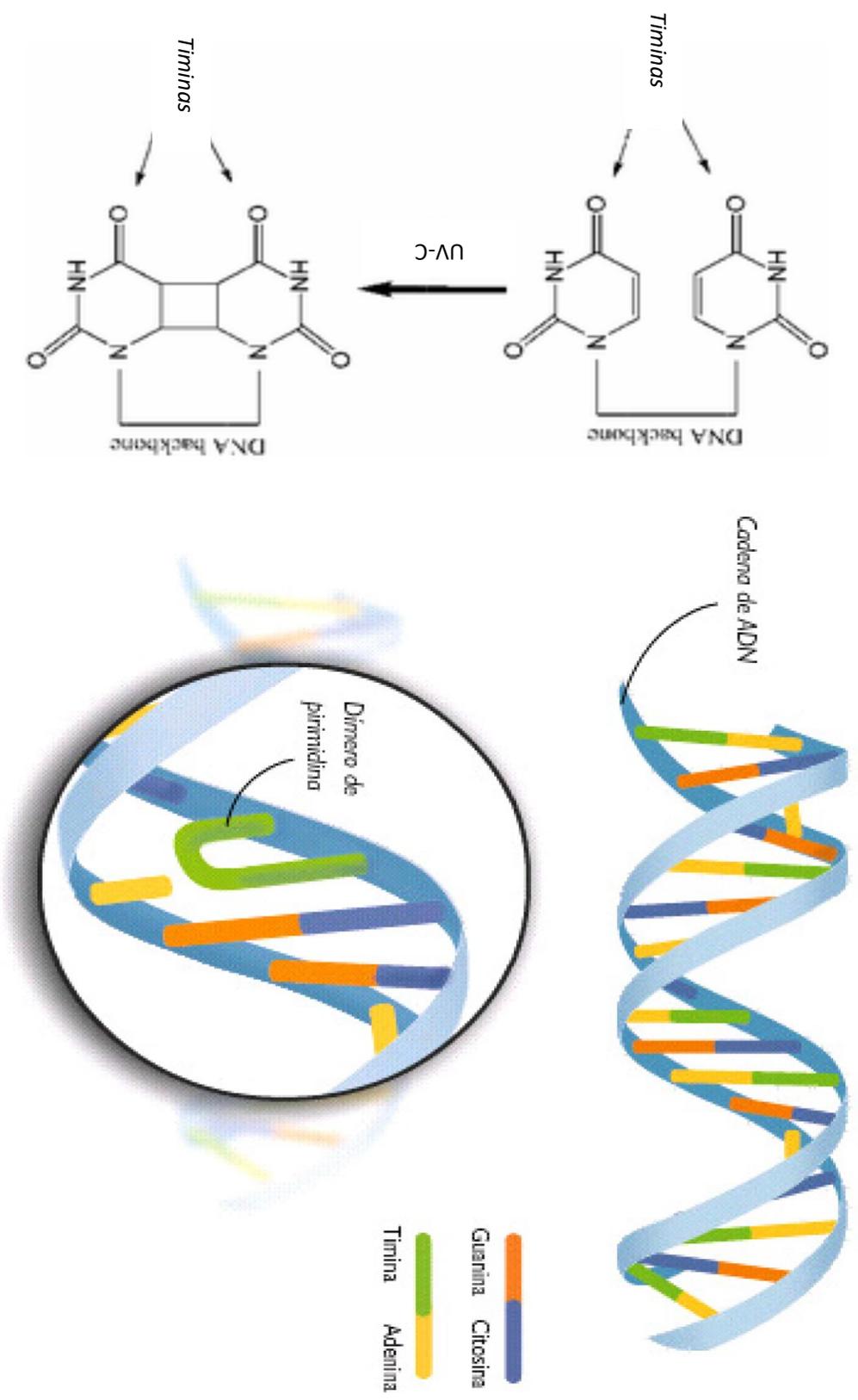


Figura 3. Modificaciones en el ADN causado por el tratamiento de radiación UV-C



2.4.2.1.3. Ventajas y limitaciones de la luz ultravioleta

El uso de tecnologías emergentes como la luz ultravioleta para la conservación de bebidas, resulta atractiva para su aplicación por el hecho de que preserva el valor nutricional de los productos y genera cambios mínimos en sus componentes, mismos que son responsables de dar color, sabor y aroma a las bebidas, esto como resultado de este proceso físico, el cual utiliza la energía radiante como medio germicida, con lo cual no se obtienen residuos químicos o subproductos, en comparación con los tratamientos térmicos convencionales, en donde numerosos estudios soportan la baja retención de estos componentes en los productos finales. Mientras que la aplicación de la tecnología UV-C, hace posible obtener productos de alta calidad y seguros para el consumidor, ya que es capaz de inactivar microorganismos patógenos y algunas enzimas, también es un proceso en “frío”, que no incrementa la temperatura del líquido a procesar, requiere poco mantenimiento y no es tan caro. Su eficacia se ve delimitada por las características propias del producto, como son: composición química del alimento, las propiedades ópticas, los sólidos en suspensión, pH, las dosis aplicadas y el principio de funcionamiento de los sistemas de UV-C utilizados. Una de las principales características en los frutos para ser procesados mediante la tecnología UV es considerar los sólidos suspendidos en el jugo, ya que estos funcionan como barrera protectora, lo cual obstaculiza la correcta penetración de la radiación UV-C en el microorganismo objetivo, limita el obtener una mayor reducción logarítmica de estos microorganismos. Además, ciertos microorganismos alteradores como mohos y levaduras, presentan cierta resistencia a esta luz UV-C, por la composición de su ADN y la estructura celular que estos microorganismos presentan. En el caso de la composición celular de las levaduras, existe menor contenido de bases pirimidinas (Fredericks et al., 2011) e incluyen mayor contenido celular comparado con las bacterias, también, al ser células de mayor tamaño existe una mayor probabilidad de que los fotones sean absorbidos por otros compuestos antes de afectar el ADN de las mismas (Oteiza et al., 2010; Gabriel, 2012). Por otro lado, en bacterias; estudios realizados por Raybaundi-Massilia et al. (2013) demuestran que las poblaciones de *Salmonella Poona* son más sensibles a la luz UV-C que las poblaciones de *L. monocytogenes* y dejó en evidencia que las bacterias Gram-positivas son más



resistentes a la luz UV que las Gram-negativas, debido a las numerosas capas de peptidoglicano que las Gram-positivas poseen. Otro aspecto importante en la inactivación de microorganismos y características sensoriales y nutricionales conferidos a bebidas es la operación del equipo de UV-C, ya que para alcanzar una correcta desinfección de las bebidas mediante este sistema no térmico, es importante determinar la dosis de UV-C necesaria para reducir la carga microbiana presente en la bebida. Esta dosis se determina mediante el producto entre la intensidad de la radiación y tiempo de residencia. Sin embargo, esta dosis se ve influenciada por ciertas características de las bebidas como son: la cantidad de sólidos suspendidos, la turbidez, el coeficiente de absorción, la transmitancia de la bebida etc. Los sólidos suspendidos presentes en los jugos de fruta sirven como barrera de protección de los microorganismos a la exposición de la luz UV-C, que impiden que se logre alcanzar dosis más altas, que son necesarias para que se lleve a cabo correctamente la desinfección (Antonio-Gutiérrez et al., 2019). También se ha reportado que el diseño del reactor de UV-C influye fuertemente en la dosis total de UV aplicada, debido a que la posición y el tiempo de residencia de los microorganismos en ciertas regiones del campo de irradiación puede variar de manera significativa, entre ellos se encuentran reactores de flujo laminar, este enfoque de diseño utiliza un reactor UV de película extremadamente delgada para disminuir la longitud del camino y de esta forma previene inconvenientes asociados con la falta de penetración. Entre este tipo de diseños se encuentran: CiderSure de película delgada y el reactor UV de Taylor-Couette (Forney y Ye, 2004). Por otro lado, se encuentran los reactores de flujo turbulento, en este enfoque la turbulencia aumenta dentro del reactor UV para acercar todo el líquido a la luz UV-C a lo largo de el procedimiento. Entre más elevados índices de flujos se logren en condiciones turbulentas, mayor homogeneidad habrá del flujo, haciendo que la partícula de flujo viaje más rápido entre 1.1 a 1.2 veces más rápido que la partícula promedio en volumen, con lo que se asume que cada volumen del producto va a estar expuesto a la luz UV-C gracias a que existe una mejor mezcla. Sin embargo, a medida que aumenta la turbulencia, la presión cae a través del reactor y el alto caudal que asegura el flujo turbulento se combina con un tiempo de residencia disminuido, lo que puede conducir a complicaciones en diseños a gran escala. Un



ejemplo de este diseño de reactor son los reactores UV Aquionics (Hanovia Ltd, Slough, Inglaterra, Reino Unido) (Koutchma et al., 2004).

2.4.3. Sinergia de tecnologías de procesamiento

Debido a ciertas limitaciones que posee la tecnología UV-C en la inactivación de microorganismos de deterioro, se han realizado investigaciones en donde evalúan el efecto de dos o más tecnologías que en conjunto proporcionen bebidas seguras al consumidor, con mayor vida útil y que conserven su calidad nutricional y sensorial. Las combinaciones que se han investigado hasta el momento, incluyen la tecnología de UV-C con tratamientos térmicos y la UV-C con otros métodos ya sean tecnologías no térmicas, como: sonicación (Cebulak et al., 2017, Santhirasegaram et al., 2015), dicarbonato de dimetilo (Shamsudin et al. 2014), fotocátalisis con TiO_2 (Ramesh et al., 2016), ultrasonido (Antonio-Gutierrez et al., 2017) y campo eléctrico pulsado (Walkling-Ribeiro et al., 2008), o bien, la aplicación de químicos o conservadores. Las matrices alimentarias utilizadas para efectuar este tipo de sinergias comprenden jugos de naranja, utilizando (UV-C (23.72 J/mL) + tratamiento térmico moderado (55 °C-3.6 min), y UV-C (0-18.7 kJ/m²) + ultrasonido (20 kHz, 95.2 μm) (Gayán et al., 2012; Char et al., 2010), mezcla de jugos con distinta turbidez como jugos de naranja y zanahoria UV-C (10.6 J/cm²) o pulsos de luz de alta intensidad (3.3 J/cm²) combinado con tecnología de manotermosonicación (400 kPa, 35 °C, 1000 W, 20 kHz) (Carminiti et al., 2012), jugo de manzana (UV-C (1.8 s) + pulsos eléctricos (60 kV/cm) y UV-C + precalentamiento y campo de pulsos eléctricos, (Gachovska et al., 2008, Walking-Ribeiro et al., 2008), néctar de durazno (UV-C + sorbato de potasio (250-2000 ppm), y UV-C + benzoato de sodio (250 a 2000 ppm) (Flores-Cervantes et al., 2013), jugo de piña (UV-C a 10.76 mJ/cm²) y dicarbonato de dimetilo (250 ppm) (Shamsudin et al., 2014), entre otros. Las tecnologías de obstáculos deben tener un enfoque inteligente para no afectar la calidad del producto, por ende, es necesario conocer el comportamiento de ambas tecnologías UV-C combinada con tratamientos térmicos moderados, para evaluar si es una alternativa viable para la estabilización de este tipo de bebidas.



III. HIPÓTESIS

El procesamiento de la mezcla de té matcha con jugo de naranjita, mediante tratamientos de UV-C individuales y combinatorios con tratamientos térmicos moderados, resulta en una bebida segura y de calidad fisicoquímica y sensorial aceptable, comparada con los tratamientos térmicos convencionales.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el impacto del tratamiento de irradiación UV-C individual, a diferentes dosis, y combinado con tratamientos térmicos moderados, en mezclas de té matcha con jugo de naranjita, sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas, antes y después de cada tratamiento y su comportamiento durante el almacenamiento.

4.2 Objetivos específicos

1. Formular una bebida a base de té matcha a diferentes porcentajes de sustitución con jugo de naranjita.
2. Caracterizar fisicoquímicamente (propiedades ópticas, color, sólidos solubles, turbidez, pH, polifenoles totales e individuales, flavonoides y actividad antioxidante, en mezclas de té matcha a diferentes porcentajes de sustitución con jugo de naranjita.
3. Determinar el efecto de las dosis de irradiación UV-C, sobre las propiedades físicas (parámetros de color L^* , a^* y b^* , y cambios de color), químicas (polifenoles, totales e individuales por HPLC, flavonoides totales y actividad antioxidante) y microbiológicas (cuenta total, coliformes totales, hongos y levaduras) en mezclas de té matcha a diferentes porcentajes de sustitución con jugo de naranjita.
4. Evaluar el efecto individual y combinatorio del tratamiento de irradiación UV-C con tecnologías térmicas moderadas, en la estabilidad de compuestos funcionales y propiedades fisicoquímicas en mezcla de té matcha con jugo de naranjita.



5. Evaluar el efecto del almacenamiento, sobre las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de bebidas procesadas con tratamientos de UV-C y térmicos individuales y combinatorios.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Materiales

El té matcha (*Camellia sinensis*) y la naranjita (*Citrus microcarpa B.*) se usaron como materia prima para llevar a cabo los experimentos. El té matcha se obtuvo de Allegro ingredients, compañía de Atizapán de Zaragoza, Estado de México. El jugo de naranjita se obtuvo de El Fuerte, Sinaloa, México. El reactivo de fenol Folin-Ciocalteu's, ácido gálico, catequina, ácido 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•) y ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Trolox) se compraron en Sigma-Aldrich (St. Louis MO, EUA.). Para los análisis microbiológicos, se utilizaron agar cuenta estándar (PCA, Difco, Detroit, MI, EUA.), agar bilis rojo violeta (VRBA, Difco, Detroit, MI, EUA.), y agar papa dextrosa (PDA, Bioxon, México). El resto de los reactivos (grado analítico) y solventes grado de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (agua desionizada, metanol y acetonitrilo) son de grado analítico y fueron adquiridos de J.T Baker (Ciudad de México, México).

5.2 Métodos

5.2.1 Procedimiento experimental

Con el objetivo de llevar una secuencia en este proyecto experimental el estudio se dividió en tres fases como se observa en la Figura 4, las cuales se encuentran diferenciadas por colores. La fase 1 corresponde a los bloques con color amarillo, los bloques de color verde corresponden a la fase 2 y por último la fase 3 son los bloques con el color azul.

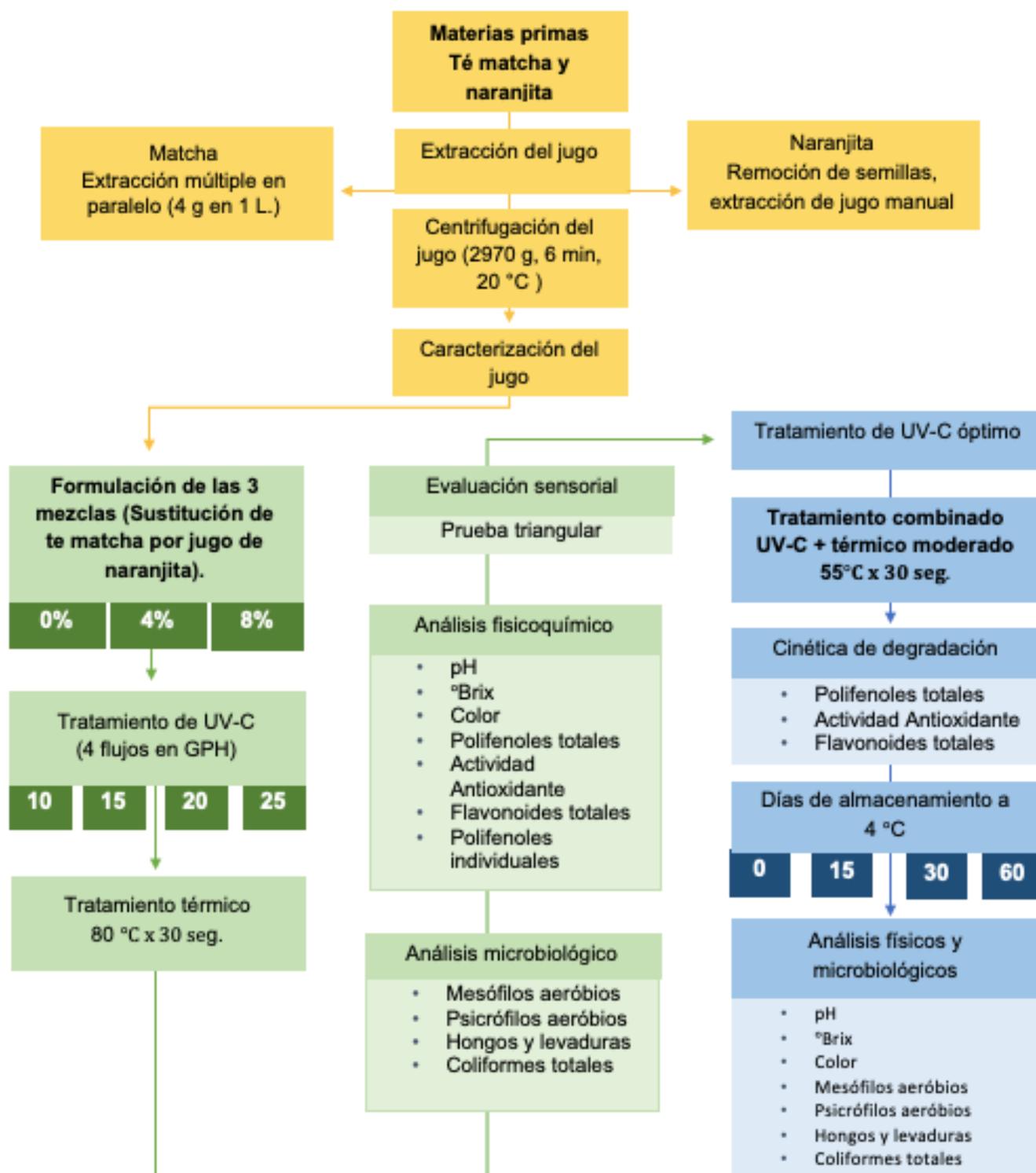


Figura 4. Diagrama de la distribución de las etapas del proyecto experimental.



5.2.1.1. Primera fase: formulación y caracterización de la bebida funcional

Preparación de la mezcla

Las naranjitas se lavaron con agua corriente, se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio (200 ppm) durante 5 min y se enjuagaron. Luego se cortaron en mitades y se eliminaron las semillas para evitar amargar el jugo obtenido. El jugo de naranjita se obtuvo exprimiendo de forma manual el fruto y posteriormente se centrifugó a 2970 g durante seis minutos a 20 °C (Centrifuga Thermo IEC modelo CL3-R, EUA). Se almacenó en congelación para su posterior uso. Por otra parte, para el polvo de té matcha se realizó una extracción múltiple en paralelo. Se procedió de la siguiente manera: se disolvieron cuatro gramos de matcha en polvo en 1 litro de agua a temperatura ambiente (se repitió dos veces este procedimiento), luego la extracción obtenida se centrifugó a 2970x g durante 6 minutos a 20 °C, esto con el objetivo de obtener un extracto transparente, el cual se mezcló con 3 porcentajes diferentes de jugo de naranjita: 0% (M0), 4% (M4) y 8% (M8) de sustitución del té de matcha por jugo de naranjita y se endulzó con stevia (200g en 25 L).

5.2.1.2. Segunda fase: Impacto del tratamiento de irradiación UV-C individual y tratamiento térmico (85°Cx30 s) en bebidas de té matcha con diferente adición de jugo de naranjita.

Tratamiento de irradiación UV (UV-C)

Las tres mezclas de té matcha con diferente sustitución con jugo de naranjita (0, 4 y 8%) se procesaron usando una unidad de procesamiento UV comercial CiderSure 3500 (FPE Inc., Macedonia, NY, EUA.). Como se muestra en la Figura 5, la unidad tiene ocho lámparas de mercurio de baja presión germicidas, colocadas en serie concéntricamente en un tubo de cuarzo, las lámparas de mercurio son la fuente de luz UV que irradia la mezcla bombeada que pasa entre el tubo de cuarzo interno y la carcasa externa de acero inoxidable con desplazamiento positivo. El equipo cuenta con dos sensores UVX-25 (UVP, Inc., Upland, CA, EUA, uno colocado en la

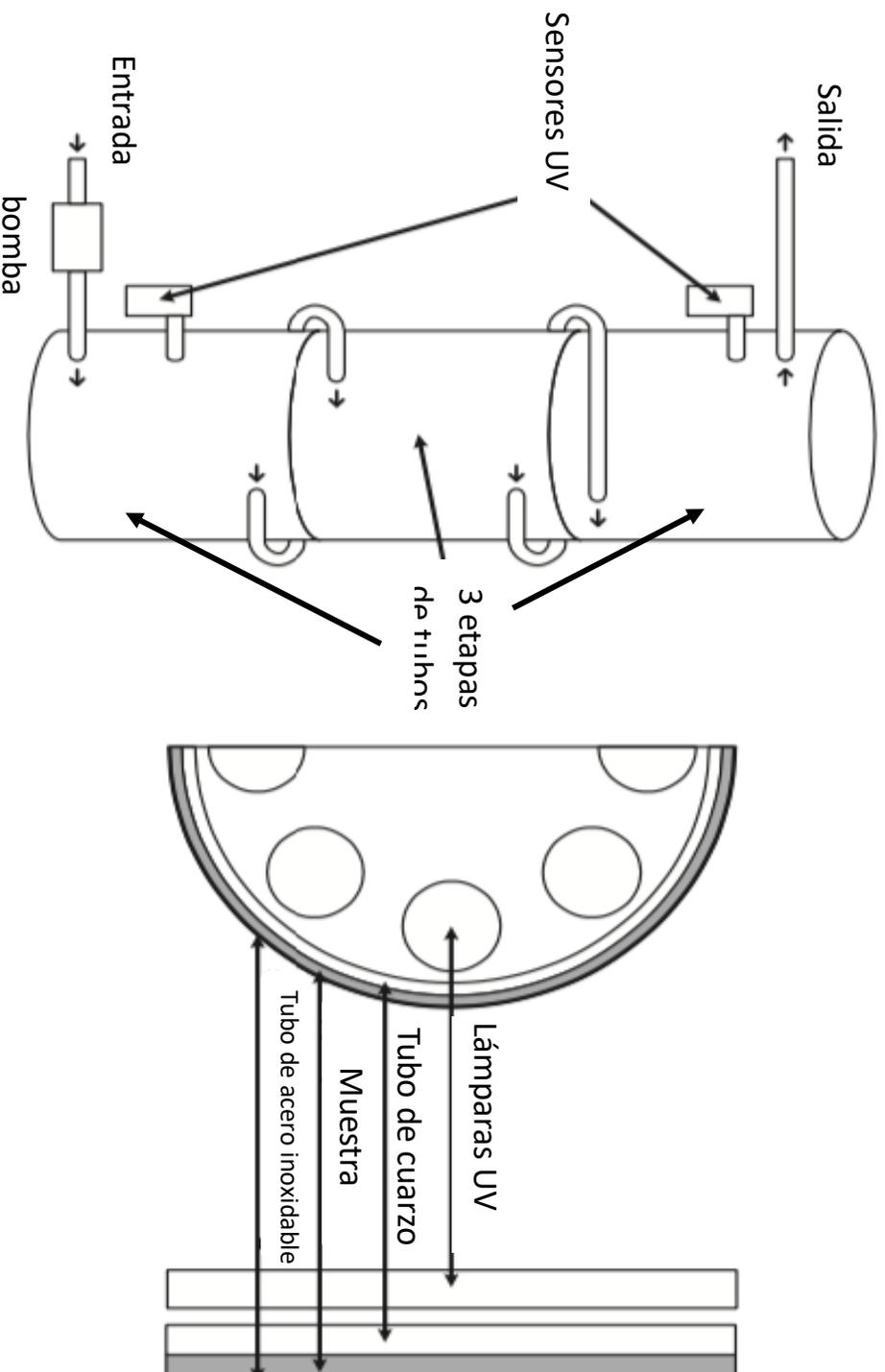


Figura 5. Esquema de unidad de procesamiento UV comercial CiderSure 3500 (FPE Inc., Macedon, N.Y.). Imagen tomada de Usaga et al., 2015.



parte superior y el otro en la parte inferior del cilindro los cuales, detectan el paso de la luz. La energía UV emitida se midió cada 50 ms. La unidad funciona a un pico de irradiación de 254 nm.

5.2.1.2.1 Cálculo de dosis

Para evaluar la dosis de UV-C alcanzada en el sistema de flujo continuo UV CiderSure 3500 (FPE Inc., Macedon, N.Y) fue necesario considerar datos de energía definidos por el fabricante de acuerdo a las características propias del equipo. Los caudales variables utilizados fueron (10, 15, 20 y 25 GPH) permitiendo con estos flujos, calcular las dosis recibidas por las diferentes bebidas tratadas, ya que el equipo muestra la intensidad de la radiación y esta multiplicada por el tiempo de residencia teórico, da como resultado la dosis de irradiación. Todos los tratamientos se realizaron por duplicado utilizando 7 litros de volumen por tratamiento, llevándose a cabo a temperatura ambiente (20 °C). Antes y después de cada procesamiento se tomaron muestras de cada mezcla procesada en tubos estériles y se analizaron inmediatamente para medir su carga microbiana, así como sus características fisicoquímicas. La unidad de UV se desinfectó con una solución de hipoclorito a 200 ppm y se enjuagó con agua destilada, antes y después de cada procesamiento.

5.2.1.3. Tercera fase: Evaluación del tratamiento combinado de UV-C+tratamiento térmico moderado (55 °C x 30 s) vs. tratamiento térmico convencional (85 °C x 30 s)

Para la tercera fase experimental se eligió la mezcla que contenía mayor contenido de naranjita, (la bebida de matcha reemplazada con un 8% de sustitución), esta mezcla fue procesada mediante la irradiación con UV-C a una dosis fija (14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) y posteriormente se procesó mediante tratamientos térmicos moderados (55 °C x 30 s). En esta etapa, se procesó la mezcla tanto individual por UV-C, tratamiento combinatorio (UV-C + tratamiento térmico moderado), tratamiento térmico moderado individual y tratamiento térmico convencional (85 °C x 30 s). Una vez procesadas las muestras para cada tratamiento, se recolectaron en tubos estériles de polipropileno de 15 mL y contenedores de vidrio color ámbar con



capacidad de 20 mL. La evolución de los cambios fisicoquímicos y comportamiento microbiológico para cada tratamiento se evaluaron a diferentes tiempos de almacenamiento (0, 15, 30 y 60 días) en condiciones de refrigeración a 4 °C. El periodo de tiempo fue definido por las características propias de la bebida y se analizó microbiológicamente (psicrófilos, mesófilos, coliformes totales, hongos y levaduras) para conocer la efectividad del tratamiento, a la par, se evaluaron atributos de calidad (pH, sólidos solubles (°Brix), color (parámetros L^* , a^* y b^*) y el comportamiento de los compuestos bioactivos en el tiempo (polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante). Así como el perfil cromatográfico de polifenoles individuales mediante (HPLC) evaluados a los días 0 y 60 de almacenamiento refrigerado a 4 °C.

5.2.1.4. Tratamiento térmico

El tratamiento térmico, se llevó a cabo usando un pasteurizador tubular continuo (unidad UHT / HTST, Micro Thermics, Raleigh, NC, EUA.). Se realizó un llenado en caliente, dado que las mezclas de las bebidas presentaron un pH por debajo de 4.5. Este tratamiento se utilizó como tratamiento comparativo para observar diferencias entre tratamientos de irradiación frente a los tratamientos control (sin procesamiento). En la segunda fase las mezclas se trataron a 85 °C durante 30 s y se realizaron por duplicado. En la tercera fase se utilizó tanto el tratamiento térmico a 85 °C durante 30 s y un tratamiento térmico moderado individual de 55 °C durante 30 s y en combinación con un tratamiento de irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm⁻². Las propiedades fisicoquímicas y la carga microbiana de las muestras se analizaron de inmediato.

5.2.3 Métodos físicos

5.2.3.1. Caracterización de las mezclas

Propiedades ópticas

Para diferenciar las tres bebidas funcionales se realizó una caracterización fisicoquímica. Se evaluaron sus propiedades ópticas, siguiendo los métodos descritos por Unluturk et al. (2004). Para determinar el coeficiente de absorción de



las muestras (α), se tomó un 1 mL de muestra y se aforó en un matraz de 10 mL, se tomó una alícuota de esta dilución y se depositó en cubetas de cuarzo fundido desmontables emparejadas (FireflySci, Inc., NY, EUA.) con longitudes de recorrido de 0.1, 0.2, 0.5 y 1.0 cm. La absorbancia se midió a 254 nm usando un espectrofotómetro (Modelo PerkinElmer Lambda 25 UV / VIS, Waltham, MA, EUA) utilizando agua destilada como blanco para cada cubeta utilizada. Los valores de absorbancia obtenidos vs. longitud del camino óptico (cm^{-1}) se determinó la ecuación de la recta y se tomó el valor de la pendiente multiplicada por 10, los valores reportados en este estudio fueron obtenidos del promedio de la medición realizada por triplicado, reportándose con su desviación estándar.

5.2.3.2 Métodos microbiológicos

Los métodos utilizados para el conteo de microorganismos fueron realizados conforme a las Normas Oficiales Mexicanas correspondientes. De manera general, se preparó una solución reguladora de fosfatos concentrada en donde se utilizó 34 g de fosfato de potasio monobásico y se aforó en 1 L de agua desionizada. Se esterilizó a 121 °C durante 15 min y se conservó en refrigeración. Después, se preparó una solución de trabajo, donde se tomó 1.25 mL de la solución concentrada y se llevó a 1 litro de agua para su obtención. De la solución de trabajo estéril obtenida se tomaba la cantidad de 9 mL para realizar las tres diluciones en serie (10^1 a 10^3). Se realizaron tres diluciones para asegurar el correcto conteo de cada colonia de microorganismos presente en la bebida. Se tomó un mililitro de cada dilución preparada de cada tratamiento (sin tratamiento, tratamiento térmico, y tratamientos de UV-C), y se pipeteó en cajas de petri estériles. Todos los tratamientos se hicieron por duplicado. Para el conteo de cada microorganismo, las colonias fueron enumeradas, y las cuentas fueron promediadas y expresada como (UFC/mL = $1.0 \log$ UFC/mL), el límite de detección fue de 10 unidades formadoras de colonias por mililitro.

5.2.3.2.1 Determinación de aerobios totales: mesófilos y psicrófilos

El método utilizado para realizar el conteo de bacterias aerobias se llevó a cabo utilizando las especificaciones descritas en la Norma oficial mexicana, NOM-092-



SSA1-1994. Como medio de cultivo se utilizó Agar Triptona-Extracto de levadura (Agar cuenta estándar, PCA; Difco, Detroit, MI, EUA.). Se vertió 15 mL de agar en las cajas de petri, previamente clarificado y esterilizado y se mezcló hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio y se dejó solidificar, seguido de su incubación a 35 °C durante 48 horas para el caso de los mesófilos aerobios, y se almacenó en refrigeración a 4 °C de 7 a 10 días para el crecimiento de psicrófilos. Se dejó una caja de petri sin inóculo, el cual se utilizó como testigo.

5.2.3.2.2 Determinación de hongos y levaduras

El método utilizado para realizar el conteo de hongos y levaduras se llevó a cabo utilizando las especificaciones descritas en la Norma oficial mexicana (NOM-111-SSA1-1994). Después de inocular las diluciones de los diferentes tratamientos en las cajas de petri, se agregó 15 mL de medio preparado de agar papa dextrosa (Bioxon, México) acidificado con una solución de ácido tartárico al 10%, previamente clarificado y esterilizado y se mezcló hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio y se dejó solidificar. Se dejó una caja de petri sin inóculo, la cual se utilizó como testigo. Las cajas de incubaron en posición invertida a 25 °C ± 1°C. Durante un tiempo 3 a 5 días.

5.2.3.2.3 Determinación de Coliformes totales

El método utilizado para realizar el conteo de coliformes totales, se llevó a cabo utilizando las especificaciones descritas en la Norma oficial mexicana (NOM-113-SSA1-1994). En las cajas de petri se colocó 1 mL de la muestra diluída utilizando una pipeta estéril. Se vertió 15 mL de medio agar bilis rojo violeta (VRBA Difco, Detroit, MI, EUA.) después de ser clarificado y sostenido a 45 °C ± 1°C en baño maría. Se cuidó el tiempo transcurrido entre la preparación de la dilución primaria y el momento en que se vertió el medio del cultivo no excediera de los 20 minutos. Se mezcló cuidadosamente el inóculo con el medio hasta lograr una completa incorporación del inóculo en el medio y se dejó solidificar. Se invirtieron las placas y se colocaron en la incubadora a 35 °C, durante 24 ± 2 horas. Se dejó una caja de petri sin inóculo, el cual se utilizó como testigo.



5.2.4 Métodos químicos

5.2.4.1. Determinación del contenido de polifenoles totales (CPT)

Fue estimado usando la técnica de Folin-Ciocalteu, siguiendo el método descrito por Singleton et al. (1999), con algunas modificaciones. En cada tubo de ensaye, se agregaron 3 mL de agua destilada, 30 μ L de muestra directa de la mezcla, estándares y blanco. 200 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu y 600 μ L de NaCO₂ al 20% (p/v). Se agitó cada tubo y se incubó a 40 °C en baño maría por un lapso de 20 minutos, transcurrido el tiempo se frenó la reacción con agua fría con hielos. Se midió a una longitud de onda de 760 nm en un espectrofotómetro UV-VIS PerkinElmer (modelo Lambda 25 UV / VIS, Waltham, MA, EUA.). Se utilizó una curva estándar de ácido gálico, preparado con agua destilada como solvente y los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g bs). Todos los tratamientos se midieron por triplicado y los valores medios con su desviación estándar fueron reportados.

5.2.4.2. Determinación del contenido de flavonoides totales (FT)

Se utilizó el método descrito por Rizwan et al. (2012) con algunas modificaciones. Se tomaron 500 μ L de muestra directa y se mezclaron con 2 mL de agua desionizada, 120 μ L de NaNO₂ al 5% (p/v) y se agitó con la ayuda de un vortex por 5 min. Después se adicionaron 230 μ L de AlCl₃ al 10 % (p/v) se agitó el tubo y se dejó reposar por un minuto. Por último, se agregaron 780 μ L de NaOH 1 M. Se midió a una longitud de onda de 510 nm. Se utilizó una curva estándar de catequina (100, 200, 800 y 1000 ppm) partiendo de una solución madre de 2,000 ppm. El contenido de flavonoides fue expresado como mg equivalentes de catequina por g (mg ECAT/g bs). Todos los tratamientos se midieron por triplicado y los valores medios con su desviación estándar fueron reportados.

5.2.4.3. Determinación de Actividad antioxidante (AA)

La capacidad antioxidante presente en las muestras fue estimada usando el método de radical libre de Brand-Williams et al. (1995). El radical libre utilizado en este estudio fue el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•). Se colocaron 3.9 mL de DPPH•



en cada tubo y 100 μL de muestra. Se dejaron reposar por 4 horas en la oscuridad. Se utilizó una curva estándar de Trolox (0.1, 0.2, 0.4, 1.0 y 1.2 ppm). Transcurrido el tiempo, se leyó a 517 nm y los resultados fueron expresados como μmol equivalentes de trolox por g ($\mu\text{mol ET/g bs}$). Todos los tratamientos se midieron por triplicado y los valores medios con su desviación estándar fueron reportados.

5.2.4.4. Evaluación de las mezclas en almacenamiento.

Se evaluaron microbiológicamente (cuenta total de mesófilos y psicrófilos aerobios, hongos y levaduras, y coliformes totales) y fisicoquímicamente (pH, contenido de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Brix}$), contenido de polifenoles totales (CPT), flavonoides totales (FT), actividad antioxidante (AA) y color), de las muestras tratadas para conocer la estabilidad de las bebidas durante el almacenamiento refrigerado a 4 $^{\circ}\text{C}$.

5.2.4.5. Determinación de polifenoles individuales por HPLC

El contenido de polifenoles individuales presentes en las mezclas sometidas a los diferentes procesamientos se analizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se llevó a cabo usando un cromatógrafo Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 UHPLC (Sunnyvale, CA, EUA). Equipado con un detector de UV-visible y de arreglo de diodos (DAD Varian ProStar modelo 410, Palo Alto, CA) y muestreador automático. La separación se realizó en una columna Dionex Acclaim TM120-C18 (5 μm , 4.6 x 150 mm). En la fase 2 se evaluaron los polifenoles individuales en el día 0 y 20, este último bajo condiciones de refrigeración (4 $^{\circ}\text{C}$).

En la fase 3 se evaluó la estabilidad de los polifenoles en el tiempo (0 y 60 días de almacenamiento refrigerado a 4 $^{\circ}\text{C}$). Se siguió el método descrito por Leyva-Corral et al. (2016), con ciertas modificaciones. Cada bebida procesada se filtró a través de un filtro de membrana de 0.45 μm (Milipore, MA, EUA) antes de la inyección y se depositó en viales color ámbar. Se utilizó un gradiente de elución lineal constituido por 0.01 mL/L de agua acidificada con ácido fosfórico (disolvente A) y acetonitrilo grado HPLC (disolvente C), mismos que se filtraron con membrana de 0.45 μm . Las muestras se eluyeron de acuerdo con el gradiente lineal durante 40 min, comenzando con una mezcla 95:5 (v/v) de solvente A:C y terminando con una



mezcla 70:30 (v/v) de solventes A:C. El caudal fue de 1.0 mL/min y el volumen de inyección fue de 20 μ L de muestra con una temperatura de columna de 25 °C. El detector se ajustó a una longitud de onda de 280 nm para detectar e identificar los diferentes compuestos fenólicos. Los polifenoles en las muestras se identificaron por los tiempos de retención de los siguientes estándares: ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido gálico, epicatequina, rutina, vainillina y epilogatequina galato. La concentración de cada polifenol en los extractos se calculó a partir del área integrada bajo la curva de cada pico en el cromatograma. Para su cuantificación, se prepararon curvas de calibración externa para cada estándar. Se utilizaron ecuaciones generadas por regresión lineal para establecer las concentraciones de polifenoles. Se midieron por duplicado y se informaron valores medios con desviación estándar.

5.2.5. Evaluación sensorial

5.2.5.1. Prueba triangular

Se realizó una prueba de diferencia triangular siguiendo lo descrito por Anzaldúa-Morales (1994), para conocer la percepción del panelista ante la nueva tecnología no térmica (UV-C), comparada con las tecnologías de pasteurización convencionalmente utilizada. 15 mL de las muestras de té matcha con jugo de naranjita fueron vertidas en vasos de plástico color azul para evitar sesgo por apariencia de la bebida, se asignó un código aleatorio de 3 cifras a cada muestra y se almacenaron a 4 °C hasta que concluyó la prueba sensorial. Se realizó una plática previa a los panelistas para el correcto llenado de las pruebas entregadas, y se explicó en que consistía la misma. Se constituyó un panel sensorial con un total de 55 personas (20 hombres y 35 mujeres), seleccionadas al azar de un grupo de voluntarios de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua, compuesto principalmente por estudiantes universitarios. La prueba triangular de análisis sensorial se llevó a cabo con la siguiente comparación: bebida de té matcha con jugo de naranjita tratado térmicamente a (85 °C x 30 s) vs. tratado con UV-C (14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$). A cada uno de los panelistas se le presentaron tres muestras colocadas aleatoriamente de las cuales dos eran iguales (mezcla con 8%



de sustitución, tratada térmicamente a 85 °C x 30 s), y una diferente, donde se les pidió a los panelistas que identificaran la muestra que era diferente (muestra irradiada con UV-C). Hubo espacio adicional para comentarios sobre la preferencia en general de la bebida.

5.3. Diseño experimental y análisis estadístico.

En la fase 2, se empleó un diseño estadístico que consistió en un experimento factorial 4×3 completamente aleatorizado para determinar las influencias de la dosis de UV-C (14.39 ± 1.09 ; 9.69 ± 0.57 ; 7.33 ± 0.43 ; 5.79 ± 0.55 mJ·cm⁻²) y los porcentajes de sustitución (0%, 4% y 8%) en mezclas de té matcha con jugo de naranjita. Se utilizaron como controles un tratamiento sin procesar (ST) y un tratamiento térmico (TT) a 85 °C durante 30 s. Para la evaluación sensorial las respuestas se interpretaron mediante tablas de Roessler (Roessler et al., 1948) donde indican la cantidad de respuestas correctas necesarias para obtener diferencias con diferentes grados de significancia, en este estudio se utilizó el 0.1%. En la fase 3, se evaluó el efecto de los tratamientos individual y combinatorios de la UV-C (14.39 mJ·cm⁻²) y tratamientos térmicos moderados (TTM) a 55°C x 30 s realizando un análisis de variación (ANOVA) y diferencias de medias mediante la prueba de Tukey, se realizó a un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$) utilizando Minitab versión 16 (Minitab, 2010, State College, PA, EUA) y el software estadístico Microsoft Excel versión 16.36, (Microsoft Excel, 2016).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Primera fase: Formulación y caracterización de la bebida funcional

La caracterización de las mezclas en las propiedades ópticas; coeficiente de absorción, la profundidad de penetración y la turbidez expresada en UNT, así como: pH, sólidos solubles (expresados en °Brix), se muestran en la Tabla 1. Los resultados muestran que el incremento en el porcentaje de sustitución de té matcha por jugo de naranjita causó una disminución significativa en el pH ($p < 0.05$) en las mezclas (Anexo 1; Tabla 22). Esto se puede atribuir a la adición del jugo de naranjita



incorporado, que contiene ácido cítrico, que favorece a la formación de iones citrato que actúa como controlador de pH cuando entra en contacto con la base del té matcha (López-García, 2000). Asimismo, los sólidos solubles (SS) aumentaron a medida que se incrementaba el porcentaje de sustitución de matcha por jugo de naranjita, atribuido al contenido de azúcares, carbohidratos, ácidos orgánicos y minerales contenidos en el jugo de naranjita. Por otro lado, las propiedades ópticas mostraron un valor de coeficiente de absorción que oscilan entre $14.65 \pm 0.53 \text{ cm}^{-1}$ a $17.67 \pm 0.64 \text{ cm}^{-1}$, una profundidad de penetración (λ) de $0.068 \pm 0.01 \text{ cm}^{-1}$ a $0.056 \pm 0.00 \text{ cm}^{-1}$ y un valor de turbidez de $29.61 \pm 0.73 \text{ UNT}$ a 171.83 ± 0.23 unidades nefelométricas de turbidez (UNT), indicando una suspensión relativamente baja. El coeficiente de absorción (α) aumentó a medida que se reemplazó el matcha por jugo de naranjita, obteniéndose el valor más alto de 17.57 cm^{-1} para la mezcla M8. De acuerdo con estudios de Koutchma et al. (2007), los jugos semitransparentes tienen valores de coeficientes de absorción alrededor de 11.70 cm^{-1} (jugo de maracuyá) y 25.90 cm^{-1} (jugo de manzana), y este tipo de jugos son caracterizados por obtener la menor absorptividad.

La importancia del coeficiente de absorción se relaciona con la letalidad potencial del tratamiento UV-C. Koutchma et al. (2004) utilizaron una solución tampón modelo con absorptividad controlada (2.5 a 26 cm^{-1}) en un reactor de flujo continuo, obtuvieron una relación entre el coeficiente de absorción y la tasa de inactivación de *E. coli*. Dedujeron que la tasa de inactivación de *E. coli* disminuyó diez veces al aumentar el coeficiente de absorción a 15.9 cm^{-1} . En este sentido, obtener bajos valores de propiedades ópticas en las mezclas de té matcha con naranjita, hacen que la bebida sea adecuada para su aplicación a través de la tecnología de flujo continuo UV-C (Gayan et al., 2014).

Respecto a las propiedades de color de las mezclas, los parámetros de color en términos de los valores L^* , a^* y b^* de las mezclas sin procesar son los siguientes: M0 ($L^* 71.09 \pm 1.39$, $a^* 0.24 \pm 0.86$, $b^* 9.66 \pm 2.21$), M4 ($L^* 69.06 \pm 0.87$, $a^* -0.60 \pm 0.04$, $b^* 14.54 \pm 1.40$), M8 ($L^* 66.95 \pm 2.21$, $a^* -0.53 \pm 0.29$, $b^* 17.24 \pm 3.26$). En el caso de la mezcla que solo contenía matcha (0% de sustitución) los valores

obtenidos fueron levemente bajos en comparación con el color obtenido por Kim et al. (2007) para licor de té en los parámetros L^* y a^* , estos resultados podrían atribuirse a la forma y relación sólido-líquido utilizada en la extracción.

Tabla 1. Propiedades ópticas de mezclas de té matcha (*Camellia sinensis*) con jugo de naranjita (*Citrus macrocarpa* B.).

SUST	Composición (%)		pH	SS (°Brix)	α (cm ⁻¹)	T (UNT)	λ (cm)
	M	N					
	0%	100					
4%	96	4	3.23±0.0 ^b	1.03±0.04 ^b	15.8±0.5 ^b	110.33±0.4 ^b	0.65±0.0 ^a
8%	92	8	3.01±0.0 ^c	1.94±0.05 ^a	17.6±0.6 ^a	171.83±0.2 ^a	0.56±0.0 ^c

Todos los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). Medias con letras distintas en la misma columna son significativamente diferentes mediante la prueba de Tukey (p<0.05). SUST: Sustitución, M, matcha; N naranjita; α , coeficiente de absorción y λ profundidad de penetración, SS, sólidos solubles, T, turbidez; UNT unidades nefelométricas de turbidez.

6.2. Segunda fase: Impacto del tratamiento de irradiación UV-C individual y tratamiento térmico (85°C x 30 s) en las tres bebidas de té matcha con jugo de naranjita.

En la Tabla 2, se muestran las dosis UV-C obtenidas de cada flujo, en galones por hora (GPH), utilizado para cada mezcla en estudio.

Tabla 2. Dosis de irradiación obtenidas en mezclas de té matcha-naranjita.

Flujo (GPH)	Dosis de irradiación alcanzada mJ·cm ⁻²			Promedio
	0% naranjita	4% naranjita	8% naranjita	
10	15.60 ± 0.31 ^a	14.09 ± 0.15 ^a	13.46 ± 0.26 ^a	14.39 ± 1.09 ^a
15	10.29 ± 0.07 ^b	9.62 ± 0.00 ^b	9.16 ± 0.13 ^b	9.69 ± 0.57 ^b
20	7.78 ± 0.05 ^c	7.29 ± 0.03 ^c	6.92 ± 0.18 ^c	7.33 ± 0.43 ^c
25	6.42 ± 0.03 ^d	5.47 ± 0.08 ^d	5.47 ± 0.08 ^d	5.79 ± 0.55 ^d

Los valores reportados en tablas son el promedio de dos réplicas ± desviación estándar con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes mediante la prueba de Tukey (p<0.05). GPH, galones por hora.



Como se puede observar, el comportamiento de la velocidad de flujo es inversamente proporcional a la dosis UV-C alcanzada, ya que a medida que la velocidad de flujo aumentaba la dosis de irradiación recibida por las mezclas de té se veía disminuida y cada dosis fue significativamente diferente ($p < 0.05$)

6.2.1. Inactivación de la carga microbiana nativa en mezclas de té matcha con naranjita

Las mezclas tratadas con UV-C en dosis entre los 5.79 a 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ eliminaron por completo la carga microbiana nativa (Tabla 3), para cualquiera de las formulaciones de las mezclas de té evaluadas, a dosis de 5.79 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ con la misma eficacia de la pasteurización térmica. Esto es debido a que la carga microbiana inicial presente en las mezclas fue baja para todas las muestras en estudio. Aunado a ello, no se observó crecimiento de coliformes totales en las diferentes mezclas. También es notorio que la sustitución de matcha por jugo de naranjita en las mezclas con 8% de sustitución, ejerce un poder antimicrobiano superior para eliminar psicrófilos y hongos y levaduras en comparación con el resto de las mezclas. Esto puede ser atribuido a la acidez y bajo pH causado por el jugo de naranjita. Es bien sabido que los cítricos son una fuente valiosa de d-limoneno, carotenoides, fibras dietéticas, polifenoles y aceites esenciales. Estos últimos se utilizan como conservadores naturales debido a su amplio espectro de actividades biológicas, incluidos los efectos antimicrobianos y antioxidantes. Estos efectos se han atribuido principalmente a la presencia de terpenos, flavonoides, carotenos y cumarinas. (Viuda-Martos et al., 2008, Ali et al., 2017, Yu et al., 2017, Dosoky et al., 2018) que pueden actuar en forma individual, sinérgico o antagonista. Varios autores atribuyeron su función antimicrobiana a los compuestos fenólicos: la anfipaticidad de estos compuestos altera la membrana bacteriana, afecta la fuerza motriz del protón y altera tanto el gradiente de pH como el flujo de electrones através de la membrana. (Veldhuizen et al., 2006). Además, la acidez de los compuestos fenólicos, la capacidad que tiene de donar un protón y la existencia de electrones deslocalizados explica la actividad antimicrobiana, ya que el compuesto ácido puede difundirse a través de la membrana, mientras interactúa el protón ácido por

otro catión en el lado citosólico de la membrana y permite el intercambio catiónico opuesto en el lado exterior (Ultee et al., 2002). Aunado a la rotura de la membrana que conduce a la pérdida de la alta impermeabilidad de la membrana (Sikkema, et al., 1995). Adicionalmente, las propiedades ópticas que presentan las diferentes mezclas (valores bajos de coeficientes de absorción y turbidez) favorecieron la efectividad de los tratamientos UV-C para la eliminación de la carga microbiana nativa. Análisis de varianza mostrado en (Anexo 1; Tablas 23, 24 y 25).

Tabla 3. Efecto de la dosis de irradiación y el porcentaje de sustitución del té matcha por jugo de naranjita sobre la carga microbiana nativa presente en las diferentes mezclas

Día 0					
SUST	TRAT (mJ·cm ⁻²)	Mesófilos	Psicrófilos	Hongos y Levaduras	Coliformes Totales
		Log UFC mL ⁻¹			
0%	ST	1.00 ± 0.0 ^a	2.29 ± 0.06 ^a	1.90 ± 0.34 ^a	ND ^a
	TT	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	5.79	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	7.33	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	9.69	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	14.39	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
4%	ST	1.11 ± 0.57 ^a	1.27 ± 0.19 ^a	1.38 ± 0.10 ^a	ND ^a
	TT	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	5.79	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	7.33	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	9.69	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	14.39	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
8%	ST	1.60 ± 0.09 ^a	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	TT	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	5.79	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	7.33	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	9.69	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	14.39	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a

Se reportan valores medios de conteo Log (UFC/mL) ± desviación estándar. ST, sin tratamiento, TT, Tratamiento térmico (TT). SUST, Sustitución, TRAT, tratamiento, Dosis UV-C (5.79, 7.33, 9.69, 14.39 mJ·cm⁻²). Las medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes (p<0.05). ND, No detectado.

6.2.2. Estabilidad de bebidas de té matcha con diferentes sustituciones de jugo de naranjita sobre la carga nativa en condiciones de almacenamiento refrigerado.

La Tabla 4, muestra la carga microbiana nativa de las muestras de las mezclas que se sometieron a tratamientos de irradiación, pasteurización térmica y el control, y se conservaron en refrigeración a 4 °C durante 20 días para conocer la estabilidad de la bebida.

Tabla 4. Estabilidad de las mezclas de té matcha con jugo de naranjita, procesadas térmicamente e irradiadas con UV-C sobre la carga microbiana nativa después del almacenamiento al día 20.

Día 20					
SUST	TRAT (mJ·cm ⁻²)	Mesófilos	Psicrófilos	Hongos y Levaduras	Coliformes Totales
		Log (UFC/mL)			
0%	ST	3.36 ± 0.07 ^a	4.08 ± 0.73 ^a	2.30 ± 0.43 ^{ab}	ND ^a
	TT	ND ^b	ND ^b	ND ^b	ND ^a
	5.79	3.50 ± 0.27 ^a	4.21 ± 0.32 ^a	4.26 ± 0.79 ^a	ND ^a
	7.33	3.96 ± 0.049 ^a	4.26 ± 0.66 ^a	3.48 ± 2.39 ^{ab}	ND ^a
	9.69	3.64 ± 0.27 ^a	4.09 ± 0.21 ^a	3.89 ± 1.17 ^a	ND ^a
	14.39	3.73 ± 0.23 ^a	4.56 ± 0.29 ^a	2.69 ± 0.0 ^{ab}	ND ^a
4%	ST	1.07 ± 0.24 ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	TT	ND ^b	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	5.79	ND ^b	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	7.33	ND ^b	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	9.69	ND ^b	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	14.39	ND ^b	ND ^a	ND ^a	ND ^a
8%	ST	ND ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	TT	ND ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	5.79	ND ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	7.33	ND ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	9.69	ND ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a
	14.39	ND ^a	ND ^a	ND ^a	ND ^a

Se reportan valores medios de conteo Log (UFC/mL) ± desviación estándar. Las medias en columnas con letras diferentes son significativamente diferentes mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). TT, tratamiento térmico (TT). SUST, sustitución, TRAT, tratamiento, Dosis UV-C (5.79, 7.33, 9.69, 14.39 mJ·cm⁻²). ND, no detectado.



En esta se observa que las mezclas donde se sustituyó el té matcha por jugo de naranjita, tanto en las muestras irradiadas con UV-C y procesadas térmicamente, no presentaron crecimiento de mesófilos, psicrófilos, hongos y levaduras y coliformes totales en comparación con la bebida de té matcha. Asimismo, se observa que la bebida de té matcha sí presentó crecimiento de psicrófilos, hongos y levaduras, a pesar de haber sido estabilizada a un pH de 3 y presentar el mismo pH que alcanzaba la mezcla al incorporarse el jugo de naranjita. Este efecto puede ser relacionado al incremento de la acidez, debido al contenido de compuestos bioactivos ácidos presentes en el jugo de naranjita, coadyuvando a la preservación de las bebidas por más tiempo.

6.2.3. Efecto de los tratamientos UV-C sobre las propiedades químicas

Los resultados de la evaluación y caracterización química de las mezclas se muestran en la Tabla 5. El análisis de varianza (Anexo 1; Tabla 26) arrojó que tanto el tratamiento aplicado y la sustitución tuvieron un efecto significativo en la concentración final de compuestos bioactivos, donde se observaron mayores concentraciones en la mezcla con 0% de sustitución de matcha, polifenoles totales de 135.87 ± 2.54 mg EAG/g bs, flavonoides totales 22.03 ± 0.48 mg ECAT/g bs y actividad antioxidante 1253.41 ± 14.07 $\mu\text{mol/g}$ bs, en comparación con la mezclas a las cuales se les incorporó naranjita, obteniéndose para la mezcla con 4% de sustitución, valores de polifenoles totales de 62.71 ± 0.17 mg EAG/g bs, flavonoides totales 9.79 ± 0.20 mg ECAT/g bs y actividad antioxidante 733.18 ± 14.39 $\mu\text{mol/g}$ bs. Por otro lado, los flavonoides totales (FT) no mostraron diferencia significativa con ningún tratamiento (térmico o UV-C). Las catequinas son los principales componentes del té verde a los cuales se les atribuye la actividad biológica, sin embargo, estudios de estabilidad de catequinas en infusiones de té verde han demostrado que se puede observar epimerización a 40 °C durante almacenamiento. Además, Komatsu et al. (1993) informaron que la degradación y epimerización de las catequinas del té verde podrían ocurrir simultáneamente en procesos térmicos. Por lo tanto, la temperatura y el tiempo de calentamiento influyen en la cantidad de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

Tabla 5. Efecto de la luz UV-C y pasteurización térmica en la concentración de polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.

SUST (%)	TRAT (mJ·cm ⁻²)	CPT (mg EAG/g bs)	FT (mg ECAT/g bs)	AA (μmol/g bs)
0%	ST	135.8 ± 2.54 ^a	22.03 ± 0.4 ^a	1253.4 ± 14.07 ^{ab}
	TT	73.20 ± 4.90 ^c	19.73 ± 0.2 ^a	763.50 ± 11.08 ^d
	5.79	122.4 ± 1.80 ^b	20.22 ± 0.4 ^a	1131.0 ± 47.05 ^{bc}
	7.33	117.6 ± 0.33 ^b	20.58 ± 0.3 ^a	1111.0 ± 38.34 ^c
	9.69	120.5 ± 0.10 ^b	21.08 ± 0.7 ^a	1161.9 ± 8.174 ^c
	14.39	123.4 ± 0.22 ^b	20.51 ± 1.8 ^a	1165.3 ± 39.62 ^{abc}
4%	ST	62.71 ± 0.17 ^a	9.79 ± 0.20 ^a	733.18 ± 14.39 ^a
	TT	46.85 ± 2.75 ^c	3.50 ± 0.29 ^d	388.10 ± 23.54 ^c
	5.79	62.41 ± 2.16 ^a	8.96 ± 0.45 ^a	538.51 ± 38.93 ^b
	7.33	57.32 ± 0.79 ^{ab}	8.94 ± 0.46 ^a	541.81 ± 12.73 ^b
	9.69	53.91 ± 2.25 ^{bc}	6.94 ± 0.02 ^b	440.44 ± 5.600 ^c
	14.39	47.96 ± 1.94 ^c	5.09 ± 0.23 ^c	368.56 ± 0.782 ^c
8%	ST	56.24 ± 0.23 ^a	7.95 ± 0.01 ^a	395.15 ± 12.66 ^a
	TT	34.19 ± 0.15 ^e	2.87 ± 0.02 ^c	243.29 ± 2.167 ^c
	5.79	51.09 ± 0.05 ^b	6.38 ± 0.16 ^b	382.84 ± 7.482 ^a
	7.33	50.39 ± 0.01 ^b	6.97 ± 0.28 ^{ab}	329.68 ± 13.22 ^b
	9.69	43.90 ± 0.47 ^c	6.19 ± 0.51 ^b	342.75 ± 3.517 ^b
	14.39	42.80 ± 0.33 ^d	3.05 ± 0.08 ^c	336.07 ± 4.858 ^b

Los valores reportados en tabla son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Medias con letras diferentes en la misma columna son significativamente diferentes entre tratamientos de cada % de sustitución, mediante la prueba de Tukey (P<0.05). CPT, contenido de polifenoles totales; FT, flavonoides totales; AA, actividad antioxidante.

Para un 4% de sustitución el TT y UV-C a dosis mayores de 9.69 mJ·cm⁻²) obtuvieron los valores mas bajos (p<0.05) de CPT y AA con respecto al ST, mientras que los FT son menores (p<0.05) con respecto a ST y UV-C. Para las bebidas con un 8% de sustitución el CPT y la AA es menor (p<0.05) en el TT que los tratamientos de UV-C y ST, mientras que los FT son menores (p<0.05) en el TT y en tratamiento con UV-C a dosis de 14.39 mJ·cm⁻² con respecto a ST y las otras dosis de

radiaciones UV-C. Estudios realizados por Koláčková et al. (2020), en diferentes tipos de té matcha, obtuvieron valores más bajos comparados con los obtenidos en este estudio, sin embargo, los valores altos obtenidos se pueden atribuir al método de extracción utilizado (extracción múltiple en paralelo asistido con agitación magnética). Komes et al. (2010) mencionan que las condiciones de preparación de las infusiones de té (relación agua/hojas, tiempo de extracción, temperatura del agua) así como el método de análisis, resulta difícil hacer comparaciones entre resultados de la composición química de bebidas a base de té, por la falta de uniformidad en estas condiciones.

6.2.3.1. Contenido de Polifenoles totales (CPT)

En la Figura 6, se presentan los resultados obtenidos para el contenido de polifenoles totales de las tres mezclas de té matcha a los diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita, procesadas a cuatro dosis de irradiación. El análisis de varianza (Anexo 1; Tabla 27) muestra, que tanto el tratamiento de irradiación como el % de sustitución mostraron un efecto significativo ($p < 0.05$) sobre el CPT. En el té matcha con 0% de sustitución (M0), sin procesamiento, exhibe un mayor contenido de compuestos fenólicos (135.87 ± 2.54 mg EAG/g bs), comparado con lo reportado por Koláčková et al. (2020) quienes reportaron concentraciones de polifenoles alrededor de 64.4 a 93.9 mg EAG/g en diferentes té matcha, estos resultados pueden estar asociados con el grado de pureza obtenido en la fabricación del té matcha y al método de extracción. Por otro lado, el reemplazo del té matcha por jugo de naranjita (4% y 8%) condujo a una reducción significativa en el contenido de compuestos fenólicos. Se observa una disminución del 53.84 y 58.60%, comparado con (M0) (Figura 6). Esto podría estar relacionado con el efecto de dilución que causa al reemplazar el té matcha por jugo de naranjita. Las muestras M0 no mostraron cambios significativos en el CPT entre las dosis aplicadas ($p > 0.05$), resultados similares fueron obtenidos por Vergne et al. (2018) en muestras de bebidas de té verde procesadas a diferentes dosis de irradiación (0 a $240 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$). Por otro lado, la pasteurización térmica disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el CPT, comparado con los tratamientos sin procesar. También es notorio en la



muestras con 4% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita (M4) que a las dosis más bajas ($5.79 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) no presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) comparada con las muestras sin tratar. Sin embargo, el incremento en la dosis de irradiación (9.69 y $14.39 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) causó una disminución notable en el contenido de polifenoles totales (53.91 ± 2.25 y $47.96 \pm 1.94 \text{ mg EAG/g bs}$), respectivamente, comparado con las muestras sin procesar. En las mezclas con 8% de sustitución (M8) todos los tratamientos fueron diferentes con respecto a la muestra sin procesar, pero a menores dosis (5.79 y $7.33 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) el CPT presentó mayor concentración en comparación con la muestra tratada térmicamente ($p < 0.05$). Estudios realizados por Ortiz et al. (2008), reportaron que la adición de ácido cítrico al polvo de té verde resultó en una degradación significativa de las catequinas totales, en comparación con el polvo de té verde sin él. Esto ha sido relacionado a el pH óptimo, para el alcance de la estabilidad de estos compuestos. pH's por debajo de 5 son deseables para la estabilidad de las catequinas (Zimmermann y Gleichenhagen, 2011, Zeng, et al., 2017, Ananingsih et al., 2013, Kosińska et al., 2014).

Sin embargo, Tu et al. (2005) observaron una mayor degradación de catequinas en infusiones acidificadas con ácido cítrico (pH 2.6 y 3.6). Donde la estabilidad de estos compuestos se veía comprometida después de 18 h de almacenamiento a estos pH's, obteniendo reducciones del 44 y 19%, respectivamente. La tendencia que mostraban estos compuestos fenólicos a degradarse se presentaban a un pH cercano a 2 y eran más estables a un pH cercano a 5. Este fenómeno puede deberse al aumento brusco de ácidos orgánicos en el medio, que podrían combinarse reversiblemente con las catequinas o provocar que se unan otras catequinas entre sí, bajo estas soluciones fuertemente ácidas (Tu et al., 2005). Con lo cual se puede soportar que al adicionar o sustituir el té matcha por jugo de naranjita rico en ácido cítrico y ascórbico produzca esta serie de competencias por parte de las catequinas presentes en el té matcha.

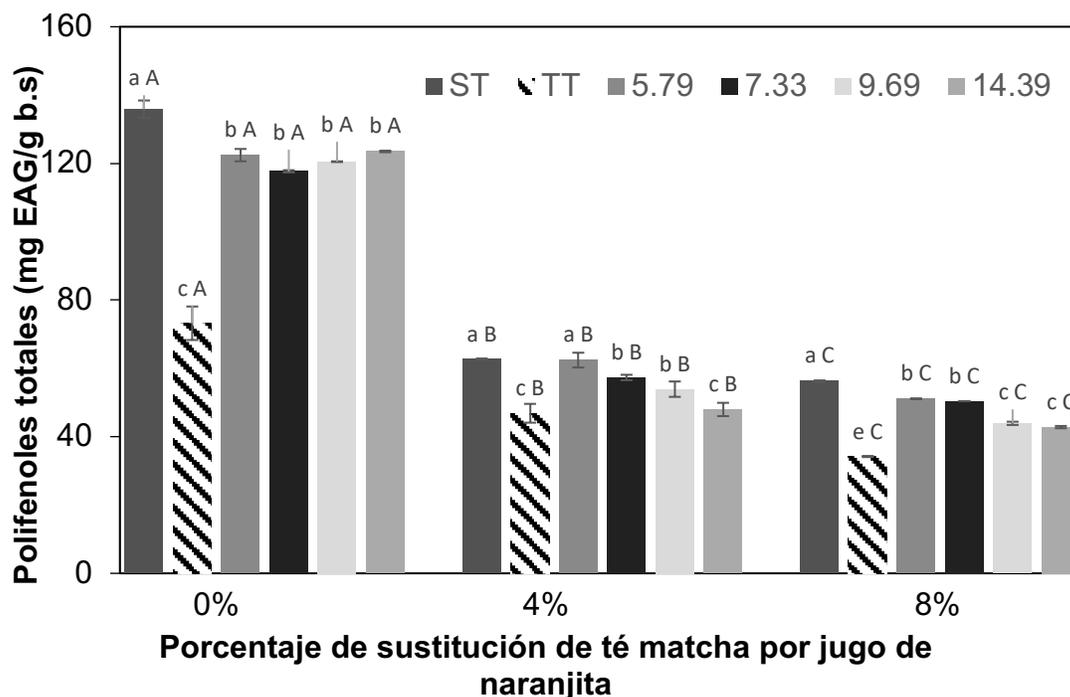


Figura 6. Comparación del contenido de polifenoles totales de las diferentes mezclas procesadas. ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico, Dosis: 5.79, 7.33, 9.69, 14.39 mJ·cm⁻². Letras mayúsculas denotan diferencia entre mezclas y letras minúsculas entre tratamientos, mediante prueba de Tukey ($p < 0.05$).

6.2.3.2. Flavonoides Totales (FT)

Las catequinas forman parte de la clase más general de flavonoides presentes en el té, conocidos como los flavan-3-oles o también referidos como flavanoles. Los cuales pertenecen a la familia de los polifenoles del té y suelen representar del 30 al 42% del peso seco de los sólidos en el té verde elaborado (Sang et al., 2011). Estos compuestos presentan actividad biológica que tienen numerosos beneficios a la salud del consumidor. Por tal motivo, es esencial conservar en gran medida estos compuestos. Sin embargo, en este estudio, el análisis de varianza (Anexo 1, Tabla 28) reveló que tanto el tratamiento aplicado como el porcentaje de sustitución de té matcha por jugo de naranjita, muestran un efecto altamente significativo, así como la interacción entre ambos parámetros ($p < 0.05$). Como lo muestra la Figura



7, el reemplazo del té matcha por jugo de naranjita redujo significativamente ($p < 0.05$) la concentración de flavonoides en las bebidas, alrededor del 59%, en comparación con la bebida de té matcha con 0% de sustitución. El contenido de FT de las diferentes mezclas disminuyó después de los procesamientos (UV-C y TT). Siendo notable la reducción en la concentración de flavonoides en muestras procesadas con el tratamiento térmico (63%) comparado con las muestras sin tratar. En mezclas con 4% de sustitución (M4), las dosis $\leq 7.33 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ no mostraron diferencias significativas en comparación con las muestras sin tratamiento, sin embargo, en dosis $\geq 9.74 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$, provocaron una disminución en la concentración final de los flavonoides.

A pesar de que la radiación genera cambios químicos mínimos entre dosis aplicadas, también es importante conocer como influyen los ingredientes de mezclas en la estabilidad de las bebidas, entre ellos el ácido cítrico, ácido ascórbico, azúcares, entre otros. El ácido ascórbico y las catequinas actúan como antioxidantes, pero, bajo ciertas condiciones, pueden promover la oxidación (Ortiz et al., 2008). La actividad pro-oxidante informada del ácido ascórbico se debe a su capacidad para reducir los iones de metales de transición, lo que da como resultado la formación de peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo altamente reactivos (Buettner y Jurkiewickz, 1996, Shin et al., 2007). De manera similar, las catequinas pueden actuar como prooxidantes y generar peróxido de hidrógeno y/o radicales hidroxilo y superóxido en solución (Azam et al., 2004). Se ha descubierto que el furfural, un producto de degradación del ácido ascórbico, reacciona con (+) -catequina para producir aductos diméricos que tiene unidades de flavonol unidas por puentes de furfurilo, que pueden oxidarse aún más a pigmentos de xantilio (Es-Safi et al., 1999).

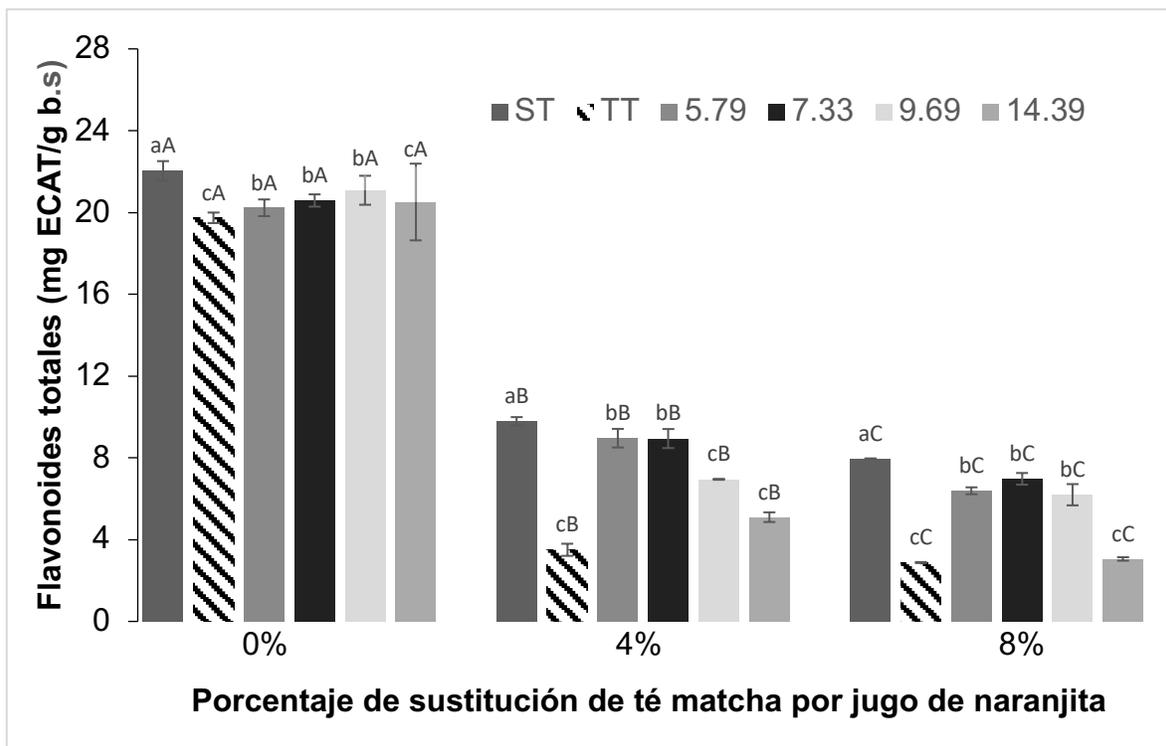


Figura 7. Comparación del contenido de flavonoides totales de las diferentes mezclas procesadas. ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico, Dosis: 5.79, 7.33, 9.69, 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$. Letras mayúsculas denotan diferencia entre mezclas y letras minúsculas entre tratamientos, mediante prueba de Tukey ($p < 0.05$)

6.2.3.3. Actividad antioxidante (AA)

La actividad antioxidante (AA) se atribuye principalmente a su alto contenido fenólico. En las mezclas en estudio, se encontró que dicha actividad en las mezclas sin tratar oscila entre los 1253.41 ± 14.07 ; 733.18 ± 14.39 ; 395 ± 12.66 $\mu\text{mol ET/g bs}$, para muestras M0, M4 y M8, respectivamente. El análisis de varianza (Anexo 1, Tabla 29) muestra que tanto el tratamiento aplicado como el porcentaje de sustitución de té matcha por jugo de naranjita y la interacción entre ambos parámetros tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en la AA de los compuestos presentes en las bebidas. En la Figura 8 es visible que la AA más alta está representada por la mezcla BM, donde el té matcha es el único constituyente. El



reemplazo por jugo de naranjita, en mezclas M4 y M8, provocó una marcada disminución en la actividad antioxidante, obteniéndose reducciones del 41 y el 68%, respectivamente. Se observa también, que las diferentes dosis de irradiación aplicadas no presentaron cambios significativos ($p < 0.05$) en las bebidas con 0% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita (M0). Sin embargo, en mezclas M4 a medida que incrementaba la dosis de irradiación la AA se disminuía, obteniendo valores cercanos a los tratamientos térmicos. Por otro lado, en mezclas M8, la actividad antioxidante permaneció estable entre dosis $\geq 7.28 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$, obteniendo valores cercanos al tratamiento control. No existe ningún estudio en la literatura que informe los efectos del tratamiento con UV-C sobre el contenido total de polifenoles y la capacidad antioxidante de mezclas de té verde con cítricos. Sin embargo, existen varios estudios sobre los efectos de la luz UV-C sobre el contenido total de polifenoles y actividad antioxidante. Por ejemplo, Caminiti et al. (2012) informaron que no hubo cambios significativos en el contenido total de polifenoles en jugo de manzana expuesto a la luz UV-C; mientras que los valores equivalentes de trolox de la actividad antioxidante disminuyeron a medida que aumentaba la dosis de UV-C. Mientras que Pala y Toklucu. (2011) informaron que no hubo cambios significativos en el contenido total de polifenoles y actividad antioxidante del jugo de granada sometido a la luz UV-C. Por otro lado, en la Figura 8, se muestra como el procesamiento térmico afectó significativamente los valores de AA de todas las mezclas ($p < 0.05$) en comparación con los tratamientos de irradiación UV-C y sin procesar. Esta disminución de AA mostrada se puede atribuir a la temperatura y el tiempo aplicados a cada una de las mezclas en estudio. Estudios realizados por Wang et al. (2008) mostraron que el impacto de la temperatura en los tés infundidos reveló un aumento en la velocidad de reacción y degradación de la epicatequina. Estos efectos se podrían atribuir al descenso observado en la AA de este estudio.

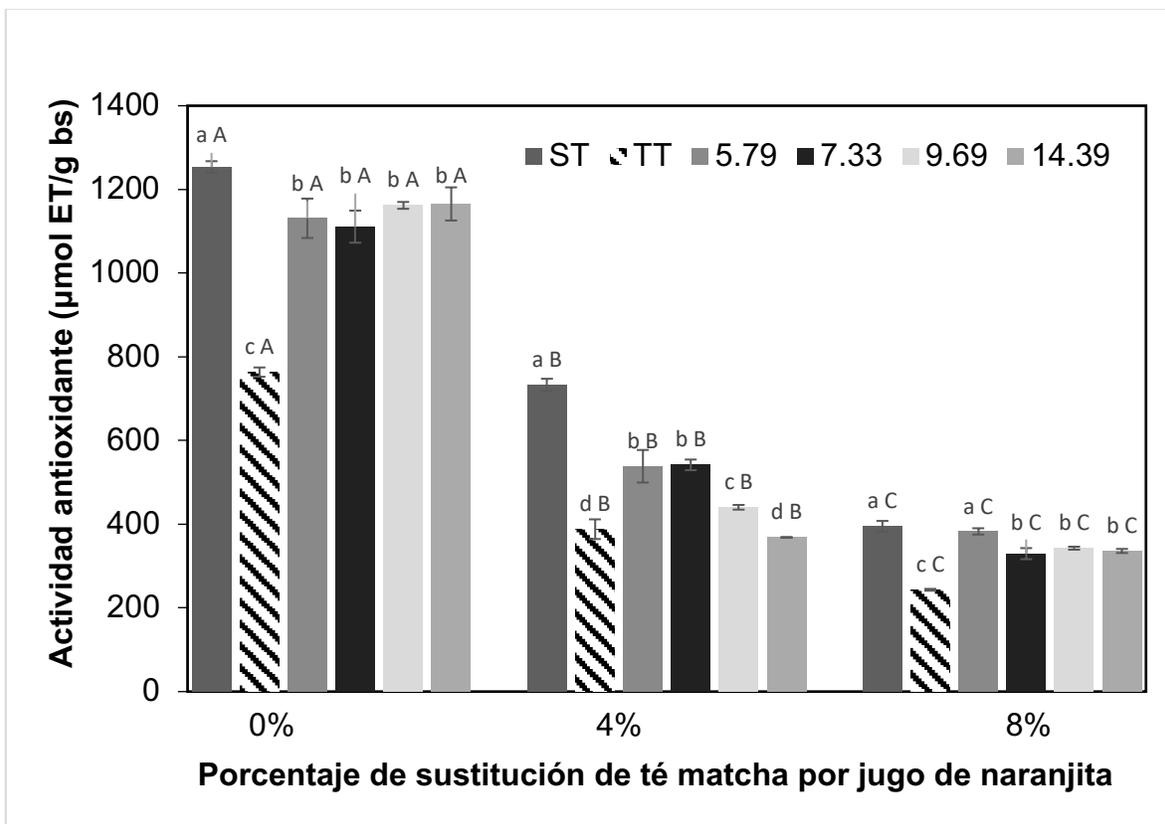


Figura 8. Comparación de la actividad antioxidante de las diferentes mezclas procesadas. ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico, Dosis: 5.79, 7.33, 9.69, 14.39 mJ·cm⁻². Letras mayúsculas denotan diferencia entre mezclas y letras minúsculas entre tratamientos, mediante prueba de Tukey (p<0.05).

6.2.4 Cambios en color

El color es un parámetro importante a la hora de elegir un producto, asimismo en muchas ocasiones, cambios en el color son un indicativo relacionado con reacciones químicas, bioquímicas y microbiológicas que ocurren durante el almacenamiento en las bebidas. En este sentido, el desarrollo de los parámetros L^* a^* y b^* fueron evaluados para cada procesamiento. Se encontró que mezclas con 0% y 8% de sustitución, los valores de luminosidad parámetro (L^*) y b^* (tendencia al color amarillo) se registraron diferencias significativas entre los tratamientos aplicados (p>0.05). (Anexo 1; Tablas 30 y 31). El porcentaje de sustitución, presentó diferencia significativa (p<0.05) en el parámetro L^* arrojando que las mezclas con 8% de sustitución (M8) presentaron los valores más bajos (Tabla 6). El análisis de



varianza del parámetro a^* (Anexo 1; Tabla 32) mostró un efecto en mezclas M4, mostró que el tratamiento tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) entre tratamientos, sin embargo, como es de observarse este efecto se presentó por el tratamiento térmico (TT) aplicado en las diferentes mezclas y a la dosis $14.39 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$, por otro lado, las dosis $\leq 7.33 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ aplicadas no tuvieron un efecto marcado con respecto al control (ST). Kim et al. (2007), observaron que los parámetros a^* y b^* aumentaron con la temperatura, lo que sugiere que el licor de té se volvió menos verde y se tornó a un color amarillo más intenso después del procesamiento con calor. Estos hallazgos se relacionaron con la oxidación de las catequinas del té y la degradación de las clorofilas en condiciones de calentamiento (Chen et al., 2001, Ananingsih et al., 2013). Por otro lado, en el parámetro b^* el porcentaje de sustitución presentó un efecto significativo ($p < 0.05$) entre las diferentes mezclas, resaltando que las mezclas con 8% de sustitución presentó los valores más altos, con lo cual se deduce que estas mezclas tienden fuertemente a las coloraciones amarillas. Las diferencia total de color (ΔE) según Bhat et al. (2011) y Cserhalmi et al. (2006) se estiman como “no perceptibles” cuando este valor de encuentra (0-0.5), como “levemente perceptibles” (0.5-1.5), “perceptibles” (1.5- 3.0), “muy visible” (3.0-6.0) y “excelente” (6.0-12.0) Al realizar el análisis de varianza (Anexo 1; Tabla 33) para conocer la significancia de los valores obtenidos de la diferencia total de color (ΔE), se obtuvo que las diferentes dosis aplicadas no presentaron un efecto significativo ($p > 0.05$). De esta manera, siguiendo la escala propuesta por Cserhalmi et al. (2006), no se obtuvieron cambios notorios entre la mezcla M0 irradiadas con las dosis más bajas ($\Delta E = 2.06 \pm 0.84$ a $1.74 \pm 2.03 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$). En cambio, ($\Delta E = 1.30 \pm 0.36$) para las mezclas M8 procesadas térmicamente (TT) la diferencia de color fue perceptible. Finalmente, las mezclas M4 y M8 presentaron cambios ligeramente notables en todos los tratamientos de dosis, a excepción de las dosis más altas ($14.39 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$) aplicada a la mezcla M4 donde se observa cambios visibles en el color.

Tabla 6. Efecto de la luz UV-C y pasteurización térmica en los parámetros L^* a^* b^* en mezclas de té matcha con jugo de naranjita.

SUST (%)	TRAT (mJ·cm ⁻²)	L^*	a^*	b^*	ΔE
0%	ST	71.09±1.39 _{aA}	0.24±0.86 _{aA}	9.66±2.21 _{aB}	/
	TT	70.08±1.96 _{aA}	0.77±1.07 _{aA}	9.31±2.56 _{aB}	1.71 ± 0.17 _{aA}
	5.79	71.02±0.71 _{aA}	0.40±0.10 _{aA}	8.83±0.52 _{aB}	2.06 ± 0.84 _{aA}
	7.33	70.33±1.38 _{aA}	0.19±0.38 _{aA}	10.86±2.78 _{aB}	1.74 ± 2.03 _{aA}
	9.69	70.09±1.28 _{aA}	0.18±0.34 _{aA}	10.98±0.42 _{aB}	1.37 ± 0.11 _{aA}
	14.39	70.24±0.94 _{aA}	0.21±0.05 _{aA}	10.83±0.07 _{aB}	2.46 ± 0.72 _{aA}
4%	ST	69.06±0.87 _{aA}	-0.60±0.04 _{cB}	14.54±1.40 _{abB}	/
	TT	69.42±1.07 _{aA}	-0.05±0.21 _{abB}	12.78±1.86 _{abB}	1.53 ± 1.18 _{bA}
	5.79	68.22±0.10 _{aA}	-0.52±0.07 _{cB}	15.99±0.78 _{aB}	0.29 ± 0.31 _{bA}
	7.33	69.29±0.39 _{aA}	-0.37±0.14 _{bcB}	13.47±1.73 _{abB}	0.72 ± 0.26 _{bA}
	9.69	69.59±0.33 _{aA}	-0.20±0.04 _{abB}	12.26±0.15 _{abB}	0.95 ± 0.15 _{bA}
	14.39	70.28±0.04 _{aA}	0.01±0.06 _{aB}	10.18±0.72 _{bB}	4.46 ± 0.00 _{aA}
8%	ST	66.95±2.21 _{aB}	-0.53±0.29 _{aB}	17.24±3.26 _{aA}	/
	TT	66.53±2.55 _{aB}	-0.17±0.10 _{aB}	17.31±5.36 _{aA}	1.30 ± 0.36 _{abA}
	5.79	68.86±0.52 _{aB}	-0.19±0.09 _{aB}	12.58±0.93 _{aA}	3.11 ± 2.37 _{abA}
	7.33	69.34±2.78 _{aB}	-0.18±0.17 _{aB}	14.75±4.39 _{aA}	4.43 ± 0.72 _{aA}
	9.69	67.18±0.42 _{aB}	-0.32±0.26 _{aB}	17.74±1.55 _{aA}	1.71 ± 0.46 _{abA}
	14.39	67.28±0.07 _{aB}	-0.37±0.11 _{aB}	16.23±0.18 _{aA}	1.63 ± 0.33 _{abA}

Todos los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). Letras minúsculas diferentes en columnas denotan diferencias significativas entre tratamientos (p<0.05). Letras mayúsculas diferentes en columnas denotan diferencias significativas entre % de sustitución. TT, tratamiento térmico y ST, sin tratamiento. Sust: Sustitución TRAT, tratamiento. Dosis de UV-C (5.79, 7.33, 9.69, 14.39 mJ·cm⁻²).



6.2.5. Estabilidad de compuestos bioactivos de bebidas de té matcha con diferentes sustituciones de jugo de naranjita durante el almacenamiento refrigerado a 4 °C.

Al realizar el análisis de varianza del contenido de polifenoles totales al día 20 de almacenamiento (Anexo 1; Tabla 34) de las muestras procesadas térmicamente e irradiadas a las diferentes dosis, se encontró que el porcentaje de sustitución, y el tratamientos, presentaron un efecto significativo ($p < 0.05$). En la Tabla 7 se puede observar que la mezcla con 0% de sustitución (M0) sigue conservando las mayores concentraciones de polifenoles comparado con las muestras M4 y M8. Sin embargo, es notorio que la mezcla con M0, sin tratamiento, tuvo una drástica disminución en la concentración de polifenoles, efecto contrario al resto de las muestras tratadas, donde los tratamientos térmicos (TT) como las dosis de UV-C aplicadas (excepto la dosis más baja), presentaron incremento en el CPT después de 20 días de almacenamiento (Tabla 7). El efecto significativo entre los tratamientos, puede ser principalmente debido al tratamiento térmico, ya que este presentó los valores más bajos de CPT al día 0 con respecto a las muestras control ($p < 0.05$). A los 20 días de almacenamiento las comparaciones en la concentración de polifenoles son mayores en los TT y dosis (D1, D2, D3 y D4) con respecto al control (ST). Reportes, sobre el efecto del tratamiento con UV-C sobre el contenido total de estos compuestos bioactivos presentes en té verde durante el almacenamiento refrigerado, son escasos. Sin embargo, existen estudios que muestran los efectos de la irradiación UV-C sobre el contenido total de estos componentes en otras matrices alimentarias; tal es el caso de Shen et al. (2013) quienes encontraron aumentos significativos en polifenoles totales (5.73% y 8.12%) en mandarinas Satsuma tratadas con UV-C a 1.5 y 3 $\text{kJ}\cdot\text{m}^2$ a los 3 días de almacenamiento. Por otro lado, los flavonoides (FT) presentes en las muestras durante el almacenamiento (20 días) mostraron que el tratamiento presentó un efecto significativo ($p < 0.05$) en la concentración de (FT) (Anexo 1; Tabla 35). Donde se puede observar que los tratamiento térmicos aplicados en mezclas con 0% de sustitución a los 20 días de almacenamiento, hubo una reducción de estos compuestos, al igual que los resultados obtenidos en la determinación de polifenoles. El tratamiento térmico y la

Tabla 7. Cambios en compuestos bioactivos de mezclas de té matcha a diferentes porcentajes de sustitución con jugo de naranjita, procesadas térmicamente e irradiadas con UV-C, evaluadas en condiciones de almacenamiento refrigerado a 4 °C.

SUST (%)	Almacen (días)	ST	TT	Polifenoles totales (mg EAG/g bs)			
				D1 (5.79 mJ·cm ⁻²)	D2 (7.33 mJ·cm ⁻²)	D3 (9.69 mJ·cm ⁻²)	D4 (14.39 mJ·cm ⁻²)
0%	0	135.87 ± 2.50 ^{aA}	73.20 ± 4.90 ^{bC}	122.42 ± 1.8 ^{bB}	120.50 ± 0.1 ^{aB}	117.68 ± 0.3 ^{aB}	123.40 ± 0.2 ^{aD}
	20	45.74 ± 1.33 ^{bD}	118.91 ± 0.99 ^{aC}	137.13 ± 0.67 ^{aA}	129.81 ± 3.22 ^{aAB}	122.20 ± 2.5 ^{aBC}	126.20 ± 2.1 ^{aBC}
	0	62.71 ± 0.17 ^{aAB}	46.85 ± 2.75 ^{bC}	63.41 ± 2.10 ^{aA}	57.32 ± 0.79 ^{aAB}	53.91 ± 2.2 ^{bBC}	47.96 ± 1.94 ^{aC}
4%	20	59.36 ± 1.19 ^{aA}	61.16 ± 0.16 ^{aA}	59.76 ± 1.40 ^{aA}	60.19 ± 2.99 ^{aA}	61.03 ± 1.16 ^{aA}	60.21 ± 0.74 ^{bA}
	0	56.24 ± 0.23 ^{aA}	34.19 ± 0.15 ^{bE}	51.09 ± 0.05 ^{aB}	50.39 ± 0.01 ^{aB}	43.90 ± 0.47 ^{aC}	42.80 ± 0.33 ^{aD}
	20	44.56 ± 0.33 ^{bA}	43.54 ± 2.19 ^{aA}	46.81 ± 0.16 ^{bA}	48.15 ± 0.03 ^{bA}	45.26 ± 1.26 ^{aA}	47.46 ± 1.77 ^{aA}
Flavonoides totales (mg ECAT/g bs)							
0%	0	22.03 ± 0.48 ^{aA}	19.74 ± 0.26 ^{aA}	20.23 ± 0.41 ^{aA}	20.59 ± 0.30 ^{aA}	21.09 ± 0.71 ^{aA}	20.51 ± 1.8 ^{aA}
	20	17.59 ± 1.11 ^{bBC}	15.22 ± 0.39 ^{bC}	20.95 ± 0.25 ^{aAB}	21.98 ± 2.09 ^{aA}	20.28 ± 1.0 ^{aAB}	21.73 ± 2.9 ^{aA}
	0	9.79 ± 0.20 ^{aA}	3.50 ± 0.30 ^{bD}	8.96 ± 0.46 ^{aA}	8.94 ± 0.47 ^{aA}	6.95 ± 0.02 ^{aB}	5.10 ± 0.24 ^{aC}
4%	20	6.76 ± 0.08 ^{bA}	6.90 ± 0.31 ^{aA}	6.64 ± 0.05 ^{bA}	6.69 ± 0.05 ^{bA}	6.81 ± 0.08 ^{aA}	6.21 ± 0.76 ^{aA}
	0	7.96 ± 0.02 ^{aA}	2.88 ± 0.02 ^{bC}	6.39 ± 0.17 ^{aB}	6.97 ± 0.29 ^{aAB}	6.20 ± 0.52 ^{aB}	3.05 ± 0.08 ^{bC}
	20	7.76 ± 0.25 ^{bA}	5.40 ± 0.42 ^{aB}	5.47 ± 0.43 ^{bB}	5.38 ± 0.30 ^{bB}	5.62 ± 0.36 ^{aB}	5.43 ± 0.52 ^{aB}
Actividad antioxidante (µmol ET/g bs)							
0%	0	1253.4 ± 14 ^{aA}	763.5 ± 11.0 ^{bC}	1131.0 ± 47.0 ^{bB}	1111.0 ± 38.3 ^{bB}	1161.3 ± 8.1 ^{aAB}	1165.3 ± 39.1 ^{aAB}
	20	1426.7 ± 277 ^{aA}	1125.6 ± 113 ^{aA}	1450.7 ± 0.20 ^{aA}	1519.5 ± 112.1 ^{aA}	1377.1 ± 233 ^{aA}	1442.4 ± 78.0 ^{aA}
	0	733.1 ± 14.3 ^{aA}	388.1 ± 23.5 ^{aC}	538.5 ± 38.9 ^{aB}	541.8 ± 12.7 ^{3aB}	440.45 ± 5.6 ^{aC}	368.5 ± 0.70 ^{bC}
4%	20	566.5 ± 103 ^{aA}	558.9 ± 130.8 ^{aA}	535.0 ± 54.58 ^{aA}	515.8 ± 20.73 ^{aA}	499.10 ± 91.7 ^{aA}	567.8 ± 44.1 ^{aA}
	0	395.1 ± 12.6 ^{bA}	243.30 ± 2.16 ^{bC}	382.8 ± 7.48 ^{aA}	329.6 ± 13.2 ^{aB}	342.75 ± 3.5 ^{aB}	336.07 ± 4.8 ^{aB}
	20	460.1 ± 14.3 ^{aA}	483.69 ± 56.9 ^{aA}	444.4 ± 130.9 ^{aA}	408.9 ± 45.2 ^{aA}	410.50 ± 120 ^{aA}	352.47 ± 51.0 ^{aA}

Todos los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). Letras minúsculas diferentes en la misma columna denotan diferencia significativa entre tiempo de almacenamiento de cada porcentaje de sustitución. Letras mayúsculas diferentes en la misma fila denotan diferencia entre tratamientos mediante la prueba de Tukey (P<0.05). SUST, sustitución; Almacen, almacenamiento; ST, sin tratamiento; TT, tratamiento térmico.



dosis más alta ($14.39 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) presentaron en general los valores más bajos de FT, en comparación con los ST. Se puede notar que en mezclas M4 y M8, se observó un incremento de estos compuestos en los TT a los 20 días de almacenamiento. A diferencia de las dosis (D1, D2, D3 Y D4) utilizadas, las cuales al día 20 de almacenamiento el contenido de FT se vió disminuido. Por otro lado, Sew, et al. (2014) y Goh, et al. (2012), observaron que en jugo de piña una vez irradiado, había una disminución del contenido de polifenoles totales cuando las dosis de UV-C incrementaba, este hecho lo atribuyeron principalmente a la oxidación promovida por radicales libres producidos durante la exposición de los jugos a la luz UV. Estos radicales libres también pueden provocar respuestas al estrés, como la acumulación de fitoalexinas o bien, aumentar la extractibilidad de antioxidantes (Alothman et al., 2009; Bhat et al., 2011), lo que permite detectar una mayor capacidad antioxidante en jugos de frutas irradiados. Es por ello que la actividad antioxidante (AA) presentó un efecto significativo entre tratamiento y entre % de sustitución, así como también la interacción ($p < 0.05$) entre ellos (Anexo 1; Tabla 36). En la Tabla 7 se muestra el efecto del porcentaje de sustitución durante el almacenamiento, ya que aparte de que la actividad antioxidante se incrementó al día 20, a mayor sustitución se obtuvo menor AA; resultando la siguiente secuencia en las mezclas $M0 > M4 > M8$. La AA de los TT aplicados, tanto en el día 0 como en el día 20 fue menor comparada con los demás tratamientos, encontrándose un aumento de la AA a los 20 días de almacenamiento. Los tratamientos irradiados tanto en el día 0 como en el 20, presentaron una estabilidad entre las dosis aplicadas, obteniendo valores más cercanos a las muestras sin tratar comparada con los TT, a excepción de las dosis más altas ($\geq 9.69 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$), las cuales presentaron valores más pequeños comparados con las dosis más bajas. Estos resultados concuerdan con los realizados por Fund et al. (2019), donde la AA en jugos de melón sin tratar disminuyó un 58% después de 13 días de almacenamiento, mientras que para las muestras irradiadas con UV-C se mantuvo la AA. En respuesta a ello, algunos trabajos refieren una disminución de la actividad antioxidante de los jugos durante el almacenamiento debido a la descomposición de vitaminas y pigmentos (Cava y Sgroppo, 2015; Ochoa-Velasco y Beltrán, 2013).

6.2.6 Color

El ANOVA realizado (Anexo 1; Tabla 38) y (Anexo 1; Tabla 39) mostró que el almacenamiento tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en la luminosidad (L^*) de las mezclas con M4 y M8. La Tabla 8, muestra que en mezclas M4, presentó una disminución notable a los 20 días de almacenamiento. En mezclas M0 El parámetro L^* fue mayor, indicando ser muestras más luminosas o más claras como era de esperarse, por ser muestras que no contenían jugo de naranjita. Los tratamientos aplicados y el almacenamiento no tuvieron diferencias significativas en los valores obtenidos de luminosidad ($p > 0.05$) (Anexo 1; Tabla 37). Para los parámetros de color a^* y b^* en las mezclas M0, se encontró que solo el almacenamiento tuvo un efecto significativo entre los valores obtenidos ($p < 0.05$). El parámetro a^* , que marca la tendencia al color verde (siempre y cuando el valor sea más negativo) no presentó un efecto significativo ($p > 0.05$). En las mezclas M4, tanto el almacenamiento como los tratamientos aplicados tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en el parámetro a^* , disminuyendo el parámetro a^* , es decir, haciéndose menos negativo durante el almacenamiento, excepto para la dosis más alta ($14.39 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$), esto indica que a los 20 días la bebida con 4% de sustitución disminuye ligeramente su tonalidad verde. Para las muestras M8, el parámetro a^* no presentó diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los tratamientos aplicados y los días de almacenamiento. Por lo tanto, las mezclas con 8% de sustitución irradiadas después de 20 días de almacenamiento no presentaron cambios, con ello se puede asumir que los tratamientos de irradiación conservan en gran medida los pigmentos presentes tanto del té verde como del jugo de naranjita durante el almacenamiento. Por último, el parámetro b^* mostró que el almacenamiento y el % de sustitución tuvieron un efecto significativo en las mezclas con 4% de sustitución (M4) ($P < 0.05$), mostrando que al día 20 de almacenamiento este parámetro aumentó, indicando que las tonalidades de la bebida se tornaron a colores amarillos, sucediendo lo mismo con las mezclas con mayor contenido de jugo de naranjita (8% de sustitución). Estudios realizados por Kim et al. (2007), encontraron que con el incremento de la temperatura de $85 \text{ }^\circ\text{C}$ a $120 \text{ }^\circ\text{C}$, el licor del té verde se volvió más oscuro y menos verde, tornándose también a coloraciones más amarillas, después de ser

Tabla 8. Efecto del almacenamiento en parámetros de color de mezclas de té matcha con diferentes sustituciones de jugo de naranjita irradiadas con luz UV-C y tratadas térmicamente

TRAT	SUST (%)	Almacen (Días)	L^*	a^*	b^*
5.79	0%	0	71.02±0.71 _a	0.20±0.10 _a	8.83±0.52 _a
		20	71.13±0.00 _a	-0.13±0.01 _a	13.54±0.00 _a
	4%	0	68.22±0.10 _a	-0.52±0.07 _b	15.99±0.78 _a
		20	66.67±0.66 _a	-0.19±0.06 _a	23.01±2.28 _a
	8%	0	68.86±0.52 _a	-0.19±0.09 _a	12.58±0.93 _b
		20	66.34±0.74 _b	-0.40±0.0 _a	22.22±1.93 _a
7.33	0%	0	70.33±1.38 _a	0.19±0.38 _a	10.86±2.78 _a
		20	69.58±0.94 _a	-0.24±0.00 _a	16.29±1.14 _a
	4%	0	69.29±0.39 _a	-0.37±0.14 _a	13.47±1.73 _b
		20	66.19±0.23 _b	-0.03±0.19 _a	24.04±0.50 _a
	8%	0	69.34±2.78 _a	-0.18±0.17 _a	14.75±4.39 _a
		20	66.66±0.11 _a	-0.30±0.01 _a	20.74±0.05 _a
9.69	0%	0	70.09±1.28 _a	0.18±0.34 _a	10.98±0.42 _a
		20	70.50±0.80 _a	0.02±0.02 _b	13.37±0.32 _a
	4%	0	69.59±0.33 _a	-0.20±0.04 _a	12.26±0.15 _b
		20	67.99±0.05 _b	-0.17±0.00 _a	19.41±0.30 _a
	8%	0	67.18±0.42 _a	-0.32±0.26 _a	17.74±1.55 _a
		20	64.00±1.79 _a	-0.03±0.37 _a	26.34±3.24 _a
14.39	0%	0	70.24±0.94 _a	0.21±0.05 _a	10.83±0.07 _a
		20	70.51±1.60 _a	0.01±0.08 _a	12.02±2.66 _a
	4%	0	70.28±0.04 _a	-0.04±0.06 _a	10.18±0.72 _a
		20	69.18±1.26 _a	-0.25±0.15 _a	16.10±4.34 _a
	8%	0	67.28±0.07 _a	-0.37±0.11 _a	16.23±0.18 _a
		20	67.46±1.65 _a	-0.16±0.05 _a	18.97±5.77 _a
ST	0%	0	71.09±1.39 _a	0.24±0.86 _a	9.66±2.21 _b
		20	70.28±0.47 _a	0.11±0.17 _a	15.37±2.08 _a
	4%	0	69.06±0.87 _a	-0.60±0.04 _a	14.54±1.40 _b
		20	67.16±0.48 _a	-0.20±0.09 _a	22.71±2.15 _a
	8%	0	66.95±2.21 _a	-0.53±0.29 _a	17.24±3.26 _a
		20	64.32±1.52 _a	-0.77±0.02 _a	24.20±2.87 _a
TT	0%	0	70.08±1.96 _a	0.77±1.07 _a	9.31±2.56 _a
		20	70.59±0.06 _a	-0.13±0.03 _a	16.50±0.05 _a
	4%	0	69.42±1.07 _a	-0.15±0.21 _a	12.78±1.86 _a
		20	66.36±1.24 _a	-0.03±0.21 _a	24.14±5.13 _a
	8%	0	66.53±2.55 _a	-0.17±0.10 _a	17.31±5.36 _a
		20	64.13±2.67 _a	-0.24±0.77 _a	25.05±5.67 _a

Todos los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). TT, tratamiento térmico y ST, sin tratamiento. Letras minúsculas diferentes en columnas denotan diferencias significativas entre el tiempo de almacenamiento de cada % de sustitución.

procesadas; esto lo relacionaron con la oxidación de los compuestos fenólicos presentes en el té y la degradación de clorofilas bajo condiciones de calentamiento.

6.2.7 Perfil de compuestos fenólicos

Los cromatogramas de HPLC (Figura 9) muestran el perfil de compuestos fenólicos presentes en bebidas de té matcha con jugo de naranjita, obtenidos con la finalidad de conocer el impacto de los ingredientes de la mezcla en la concentración final de los polifenoles individuales. Con los resultados de la cromatografía líquida, se obtuvo que el té matcha así como sus mezclas con jugo de naranjita mostraron una buena resolución de los principales compuestos fenólicos presentes en el té. El método utilizado separó los compuestos con el siguiente orden de elución: ácido gálico, ácido clorogénico, ácido cafeico, epicatequina, epigallocatequina-galato, vainillina y rutina con tiempo de retención de 4.8, 10.2, 11.91, 12.4, 12.8, 14.29 y 15.26 min, respectivamente. Las materias primas utilizadas para la elaboración de las bebidas fueron caracterizadas en su perfil de polifenoles individuales, identificado en el té verde los siguientes polifenoles: ácido gálico, ácido clorogénico, epicatequina, epigallocatequina-galato y vainillina correspondiendo a los picos 1, 2, 4, 5 y 6, respectivamente. Mientras que el jugo de naranjita es fuente de polifenoles tales como: el ácido cafeico (pico 3) y la rutina (pico 7). Destacando que la epigallocatequina galato fue uno de los principales componentes representativos del té matcha de este estudio, seguido del ácido clorogénico, ácido gálico y epicatequina. En la literatura, menciona que las catequinas más importantes que se encuentran en el té verde incluyen (+)-catequina, (-)-epicatequina galato, (-)-epigallocatequina, (-)-epigallocatequina galato, galocatequina y galocatequina galato. Siendo la epigallocatequina galato, la catequina más abundante en infusiones de té y extractos de té verde (Vergne et al., 2018, Ortiz et al., 2008, Kim et al., 2007). La disminución de la concentración de cada polifenol identificado debido al reemplazo de té matcha por jugo de naranjita fue notoria, aún antes de ser procesados, observándose disminuciones aproximadamente del 57% para mezclas con M4 y M8, al igual que como se obtuvo en las concentraciones de los polifenoles totales.

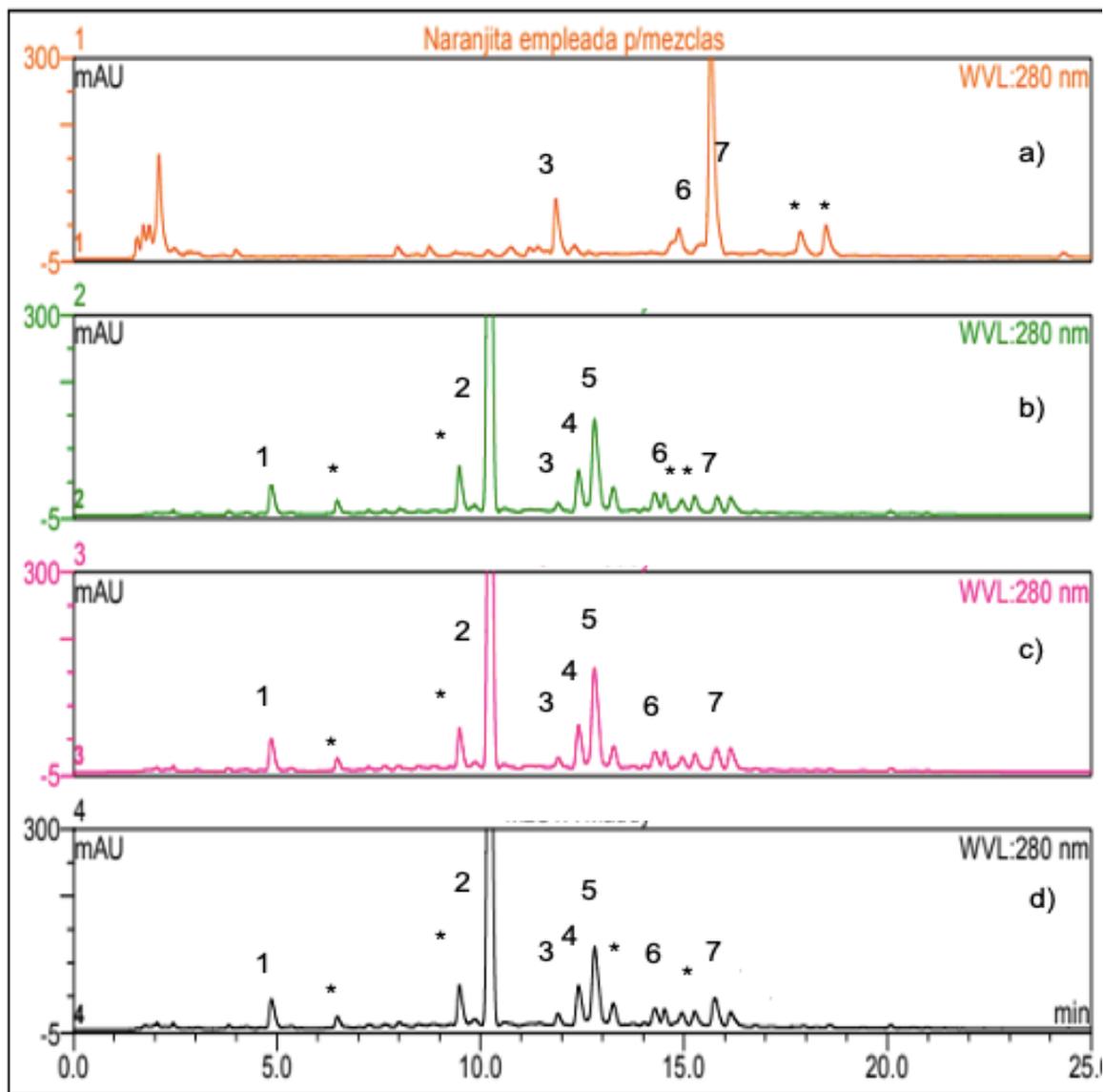


Figura 9. Cromatogramas del perfil polifenólico presente en bebidas de té matcha con jugo de naranjita y componentes individuales de lamezclas, a) naranjita sin tratamiento de irradiación, b) té matcha con 0% de sustitución, c) té matcha con 4% de sustitución y d) té matcha con 8 % de sustitución. Pico 1: ácido gálico, pico 2: ácido clorogénico, pico 3: ácido cafeico, pico 4: epicatequina, pico 5: epigalocatequina galato, pico 6: vainillina, pico 7: rutina, picos con (*) no fueron identificados.



El análisis de varianza (Tabla 9) arrojó que el ácido gálico (AG), ácido clorogénico (ACI), la rutina (RT), epicatequina (EC), vainillina (VA) y epigallocatequina galato (EGCG) fueron afectadas significativamente ($p < 0.05$) tanto por el tratamiento aplicado como por el porcentaje de sustitución de té matcha por jugo de naranjita. Para la RT se puede observar en la Figura 10 el claro efecto ($P < 0.05$) del porcentaje de sustitución, ya que la concentración de RT en las mezclas con 4% y 8% de sustitución (M4 y M8) es menor a todas las mezclas con 0% de sustitución. Además se puede observar en las mezclas M0 que las diferentes dosis de irradiación no causaron efecto en la concentración de RT, pues al compararlas con el control (ST) no mostraron diferencia significativa con éste. Aunque también se observa que con el tratamiento térmico se obtuvo una menor concentración de RT, éste no presentó diferencia significativa comparado con el control y con los tratamientos irradiados (Figura 10).

Para el AG, uno de los efectos notorios fue que en la mezcla M4 irradiada con la dosis más alta ($14.39 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$) presentó un descenso en su concentración, efecto contrario al observado en la mezcla M8, donde a la dosis más alta la concentración de AG se incrementó (Figura 11). Cabrera et al. (2003) registraron concentraciones de ácido gálico en diferentes tipos de té donde las concentraciones oscilaban entre 40 y 6700 $\mu\text{g/g}$, las concentraciones obtenidas en este estudio, se encuentran dentro de estos valores ($\text{AG} = 390 \mu\text{g/g}$ bs). Los comportamientos mostrados por las mezclas se pueden deber al hecho de que los ácidos fenólicos individuales se encuentran influenciados por la acidez que otorga el jugo de naranjita al medio. Ya que en estudios realizados por Jeszka-Skowron et al. (2015), encontraron que en infusiones de té con limón poseían la mayor concentración de rutina y ácidos fenólicos especialmente ácido gálico y clorogénico comparadas con tés que no incluían el limón.

Tabla 9. Análisis de varianza resumidos del efecto del tratamiento y porcentaje de sustitución en polifenoles individuales de las diferentes muestras de té matcha con jugo de naranjita.

FUENTE	GL	AG	ACI	RT	AC	EC	VA	EGCG
Trat	5	1482.5*	25869*	9.461*	0.7487	71.63*	120.10*	919899*
Sust	2	11548.9*	400193*	262.836*	85.0777*	1563.87*	4741.18*	1826970*
Trat*sust	10	1509.2*	32443*	18.346*	1.1682	92.99	324.40*	913632*
Error	18	440.1	8528	7.627	1.8793	91.68	71.98	93719

Trat: tratamiento, sust: sustitución, cuadrados medios con *denotan diferencia significativa ($p < 0.05$).
 AG: ácido gálico, ACI; ácido clorogénico, RT: rutina, AC: ácido cafeico, EC: epicatequina, VA: vainillina, EGCG: epigallocatequina galato.

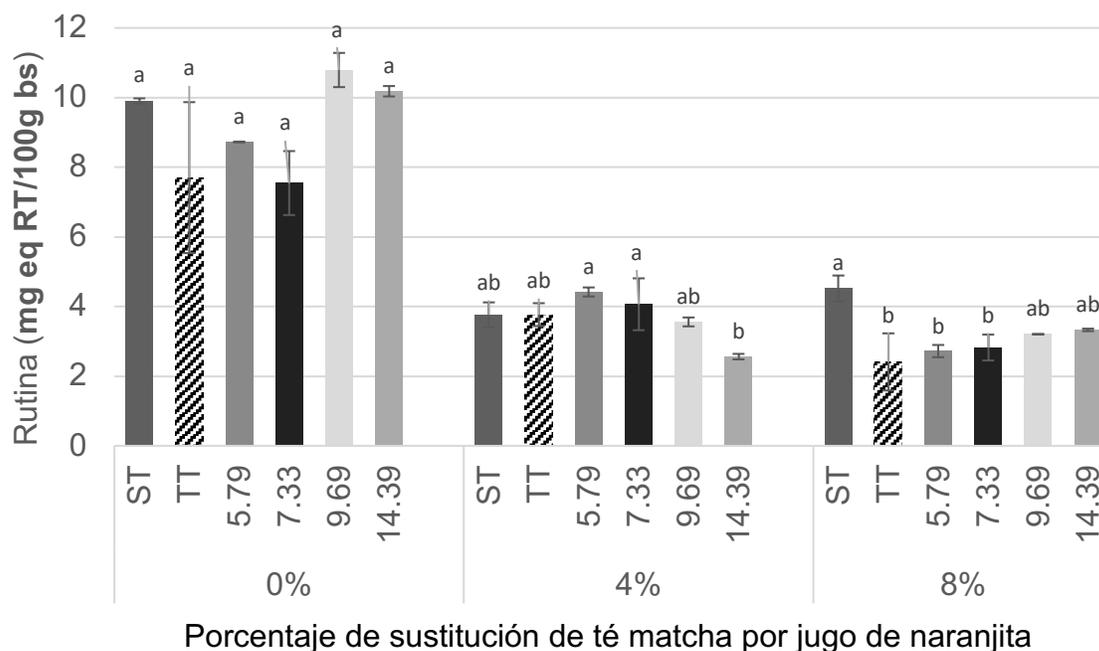


Figura 10. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de rutina en mezclas de té matcha con jugo de naranjita. ST: Sin tratamiento, TT: Tratamiento térmico, Dosis UV-C: 5.79, 7.33, 9.69 y 14.39 mJ·cm⁻².

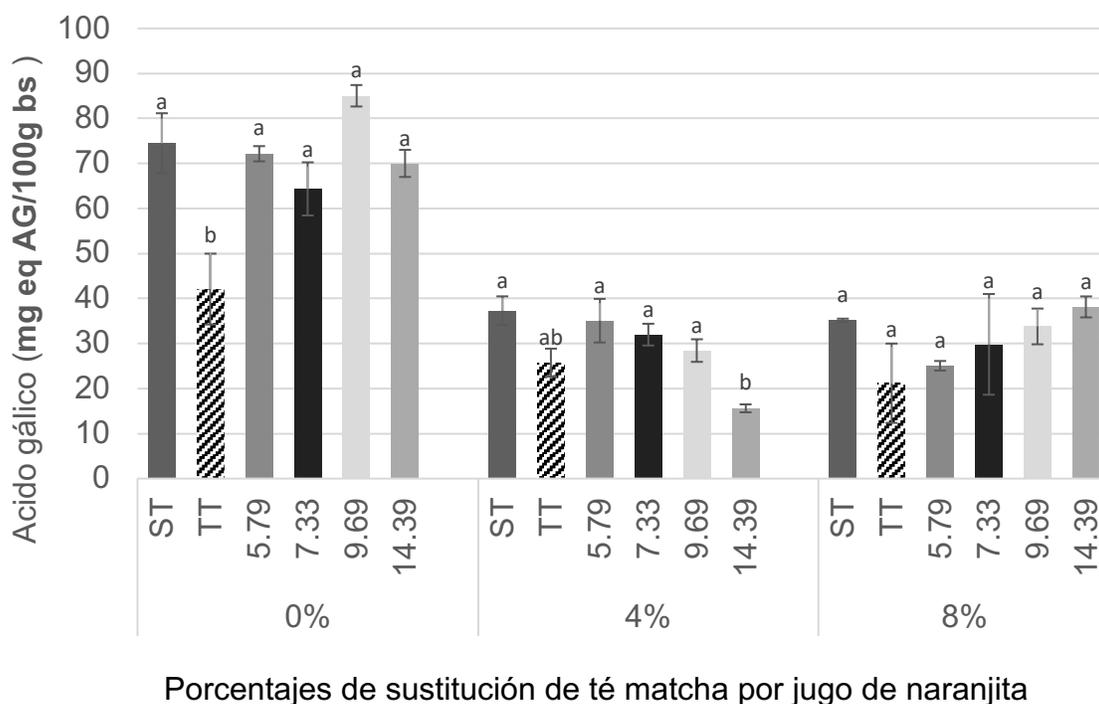


Figura 11. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de ácido gálico en mezclas de té matcha con jugo de naranjita. ST: Sin tratamiento, TT: Tratamiento térmico, Dosis: 5.79, 7.33, 9.69 y 14.39 mJ·cm⁻².

El ácido clorogénico (ACI), fue uno de los compuestos fenólicos más representativos encontrados en la bebida de té matcha con naranjita, ya que se detectaron mayores concentraciones en las diferentes mezclas comparados con otros polifenoles individuales identificados (Figura 12), las cuales fueron similares a las obtenidas por Koláčková et al. (2020) en muestras de té infundidas en agua. Como es notorio en la Figura 12, los tratamientos irradiados presentaron valores similares al tratamiento control (ST) para las 3 mezclas (M0, M4 y M8), solo la mezcla con 4% de sustitución a la dosis de UV más alta, presentó una disminución y fue diferente al control (ST) y al resto de los tratamientos. Asimismo, se observa que el tratamiento térmico disminuyó significativamente ($p < 0.05$), la concentración de ACI, comparado con el control (ST) en cada una de las mezclas probadas. La figura 12 también muestra que al aumentar el porcentaje de sustitución de té matcha por naranjita (M8), se

observa un incremento en la concentración de ACI directamente proporcional a

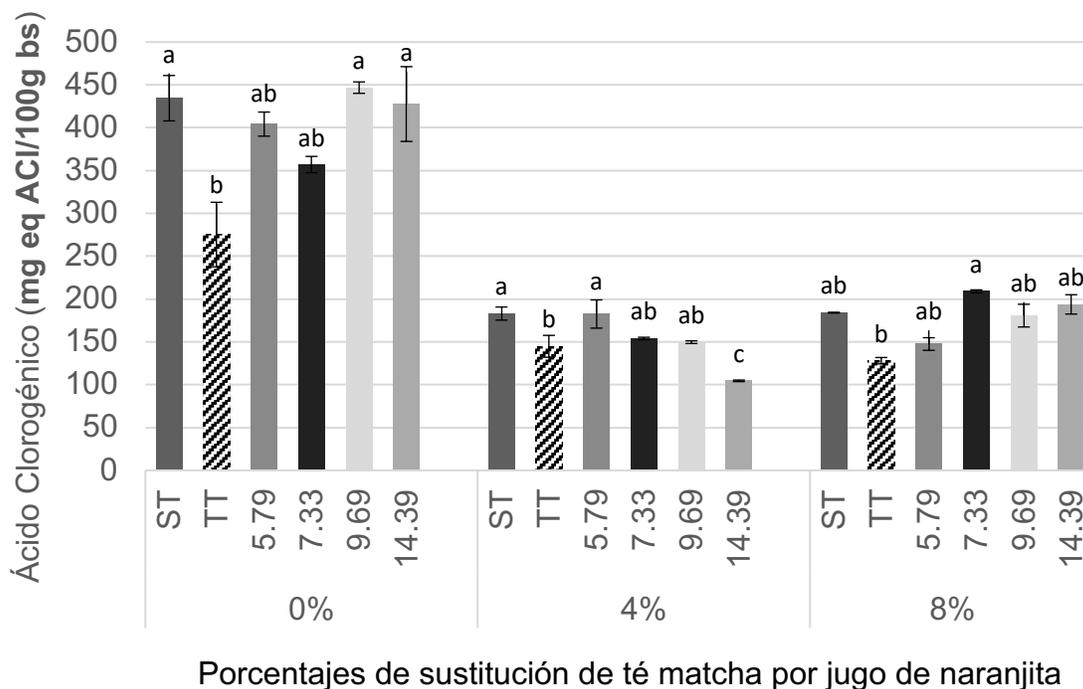


Figura 12. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de ácido clorogénico en mezclas de té matcha con jugo de naranjita. ST: Sin tratamiento, TT: Tratamiento térmico, Dosis UV-C: 5.79, 7.33, 9.69 y 14.39 mJ·cm⁻².

a la dosis aplicada, sucediendo lo contrario en la mezcla M4. A diferencia de todos los compuestos fenólicos, el ácido cafeico (AC) resultó ser el más estable en las 3 mezclas en estudio independientemente del tratamiento aplicado, donde se obtuvo que no existe una diferencia significativa entre los diferentes tratamientos aplicados ($p > 0.05$), siendo como lo arrojó el ANOVA solo significativo el porcentaje de sustitución, observándose también este efecto en la Figura 13.

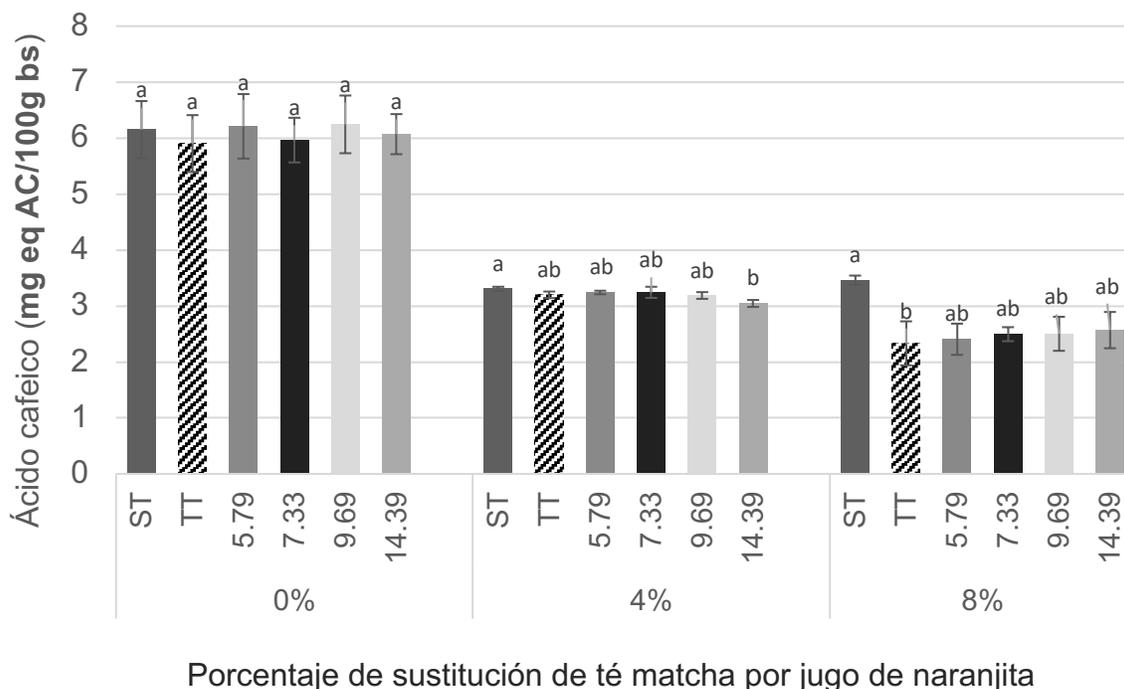


Figura 13. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de ácido cafeico en mezclas de té matcha con jugo de naranjita. ST: Sin tratamiento, TT: Tratamiento térmico, Dosis UV-C: 5.79, 7.33, 9.69 y 14.39 mJ·cm⁻².

Para la epicatequina (EC), aunque el ANOVA marcó diferencias estadísticas entre los tratamientos, las dosis de irradiación no presentaron diferencia comparadas con el control (ST), teniendo concentraciones de 24.7, 12.6, y 11.6 mg/100 g bs para el 0%, 4% y 8% de sustitución, respectivamente en muestras sin procesar, a partir de estos valores también se puede ver el efecto del % de sustitución para la concentración de EC. En la Figura 14, se puede observar el efecto del tratamiento térmico, el cual fue el que marcó la diferencia estadística entre tratamientos pues además de que disminuyó en las 3 mezclas comparado con el control, en la mezcla M8 fue significativamente diferente ($P < 0.05$) a la muestra ST.

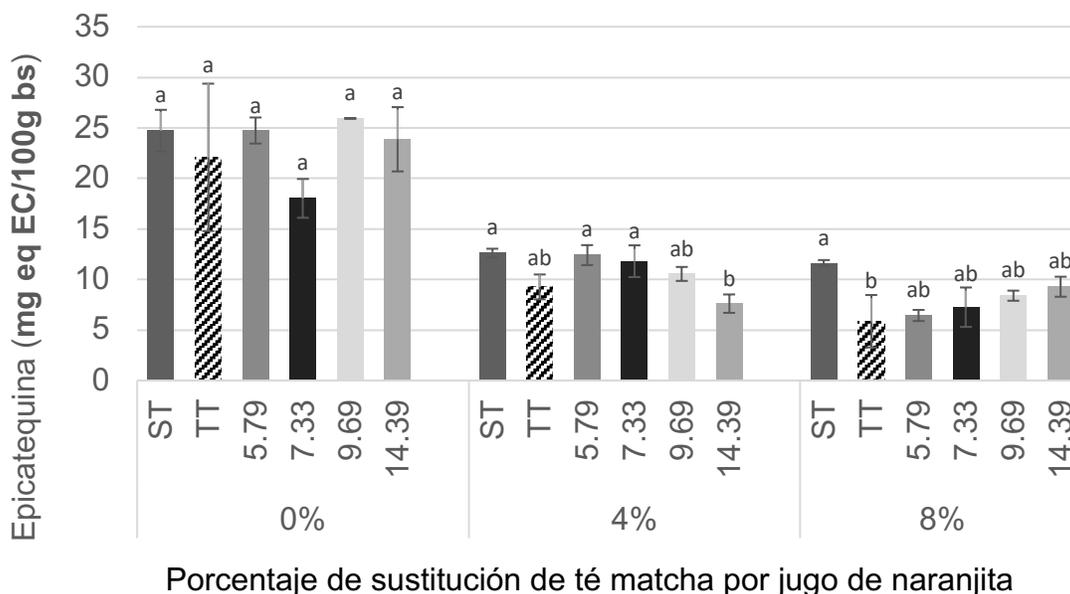


Figura 14. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de epicatequina en mezclas de té matcha con jugo de naranjita. ST: Sin tratamiento, TT: Tratamiento térmico, Dosis UV-C: 5.79, 7.33, 9.69 y 14.39 mJ·cm⁻².

Por último, para la epigallocatequina galato (EGCG), fue afectada significativamente tanto por los tratamientos como el porcentaje de sustitución ($p < 0.05$). De acuerdo con la Figura 15, en las mezclas M0 solo la dosis de irradiación más alta (14.39 mJ·cm⁻²) disminuyó su concentración, sucediendo lo mismo para la mezcla M4 y aumentado a dicha dosis en la mezcla M8, sin embargo, comparado con el tratamiento control (ST) ninguno de estos presentó diferencia estadística. Solo los tratamientos térmicos presentaron un efecto marcado para la EGCG, disminuyendo su concentración en las 3 mezclas la cual fue significativamente diferente ($p < 0.05$) con su respectivo control (ST) (Figura 15). Vergne et al. (2018) encontraron que como máximo, observó reducciones de epigallocatequina galato de un 10% en su concentración en muestras tratadas con UV-C inclusive a la dosis más alta utilizada de 240 mJ·cm⁻² comparadas con el control. En general, en las mezclas M8, se pudo observar estabilidad o un aumento de la concentración de los polifenoles individuales en función de la dosis UV-C aplicada. En la literatura teorizan que la irradiación UV-C induce la epimerización de las catequinas como la (-)-epicatequina

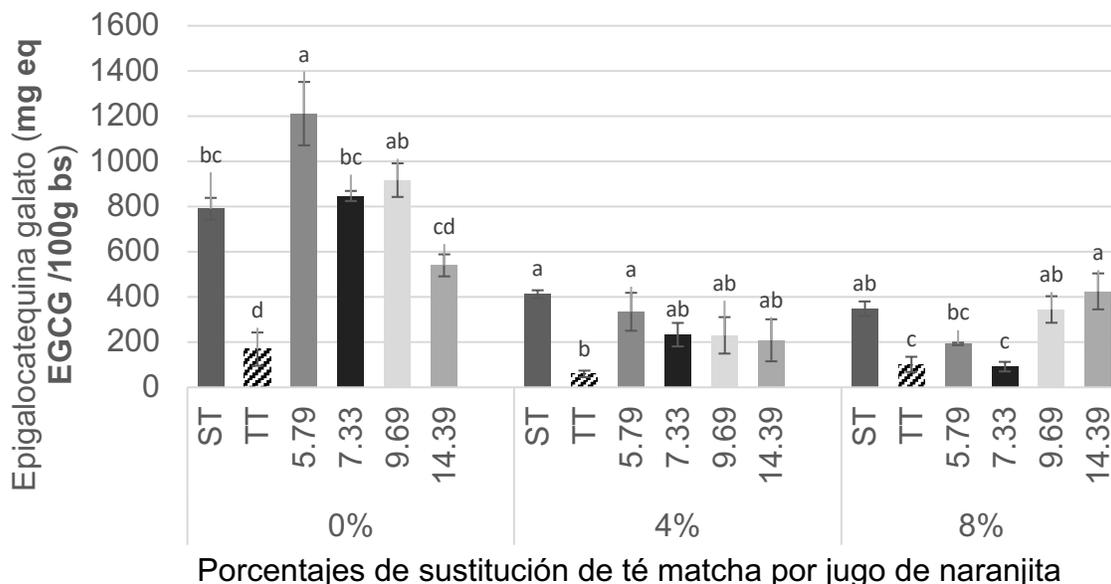


Figura 15. Efecto del procesamiento y porcentaje de sustitución en la concentración de epigallocatequina galato en mezclas de té matcha con jugo de naranjita. ST: Sin tratamiento, TT: Tratamiento térmico, Dosis UV-C: 5.79, 7.33, 9.69 y 14.39 mJ·cm⁻²

(EC) a (-)-catequina y (+)-catequina, conduciendo a concentraciones mayores de los compuestos (Verge et al., 2018). Por otro lado, Zimmermann y Gleichenhagen, (2011), examinaron el efecto de aditivos y la disminución del pH sobre la estabilidad de las catequinas durante la infusión de té. Encontraron que la adición de ácido cítrico a pH 3, produjo una mayor concentración de epigallocatequina galato, epigallocatequina y epicatequina galato, en comparación con el té puro. Notaron que la disminución del pH influía en la alteración estructural de las catequinas, pero no en la difusión de las catequinas en el agua. Su et al. (2003), mencionan que la acidificación de la bebida incrementa la estabilidad, sin embargo, encontraron que la presencia de ácido ascórbico y ácido cítrico en la bebida provocaba la degradación de los compuestos fenólicos. Es por ello que se puede asumir que la adición de naranjita posee un efecto prooxidante al aportar el ácido cítrico y el ácido ascórbico a la bebida. La Figura 16 muestra los cromatogramas obtenidos de las bebidas con 8% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita, comparando el control con la dosis más alta de

irradiación $14.39 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ y tratamientos térmicos convencionales. A partir de la comparación de los cromatogramas (a) y (b) de los tratamientos: ST y UV-C, respectivamente, se observa como después del tratamiento con UV-C (Figura 16b).

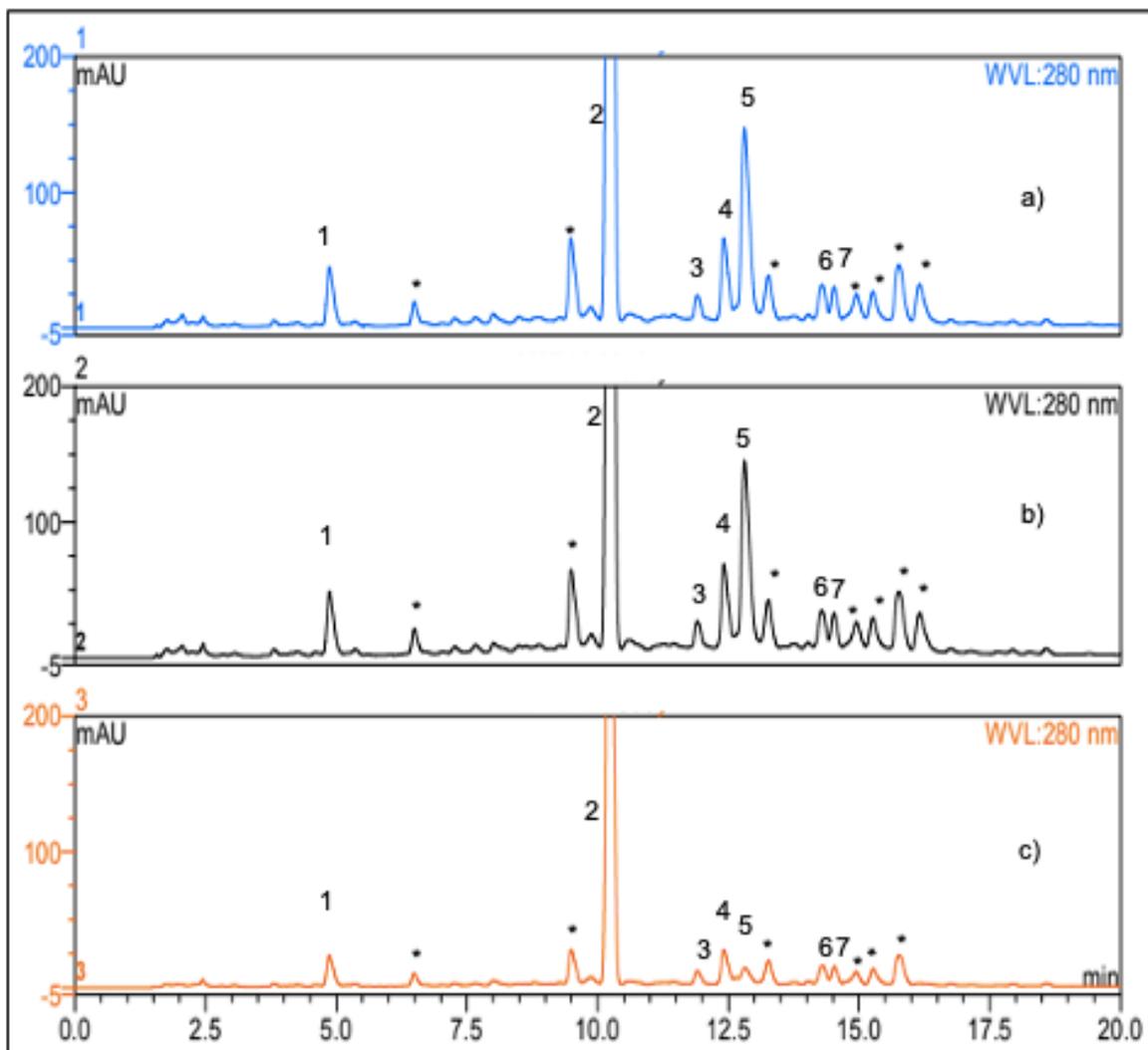


Figura 16. Cromatograma de té matcha con 8% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita, a) sin tratamiento de irradiación, b) tratamiento UV-C a $14.39 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ c) tratamiento térmico convencional al día 0. Pico 1: Acido gálico, pico 2: ácido clorogénico, pico 3: ácido cafeico, pico 4:epicatequina, pico 5: epigallocatequina galato, pico 6: vainillina, pico 7: rutina, picos con (*) no fueron identificados. Picos con (*) no fueron identificados.



Los polifenoles individuales permanecieron estables, ya que en ambos cromatogramas (a y b) prácticamente son iguales, observándose todos los picos del mismo tamaño. En cambio, al compararlos con el tratamiento térmico (c), se observa un cambio drástico en el perfil de polifenoles individuales, es decir, como todos los picos identificados e incluso algunos no identificados disminuyeron después de este tratamiento. Con esto se deja ver claramente como el tratamiento térmico afecta, incluso en las diferentes mezclas (M0 y M4) a la mayoría de los polifenoles individuales.

6.2.7.1 Cambios en el perfil de polifenoles individuales en condiciones de almacenamiento refrigerado a 4°C.

La concentración de los polifenoles individuales indentificados por HPLC de las mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución con jugo de naranjita, procesadas a través de diferentes tratamientos (TT y UV-C) así como del control (ST) al día 0 y 20 de almacenamiento en refrigeración a 4 °C, se muestra en la Tablas 10,13. El análisis de varianza realizado para cada polifenol identificado, arrojó que para el ácido clorogénico (ACI), el almacenamiento así como los tratamientos, tuvieron un efecto significativo ($P < 0.05$) en los 3 porcentajes de sustitución estudiados (Anexo 1; Tabla 40, 41 y 42). En la Tabla 10, se observa un incremento aproximado del 5% en la concentración del ACI después de los 20 días de almacenamiento comparado con el día 0. Este incremento también se observó para otros polifenoles individuales como el ácido gálico (AG). El AG además de mostrar cambios significativos ($P < 0.05$) entre el tiempo de almacenamiento también presentó cambios entre tratamientos (ST, TT y UV-C) (Tabla 10). El almacenamiento tuvo un efecto significativo ($P < 0.05$) en las mezclas M0, donde se observó un aumento considerable de la concentración de AG a los 20 días de almacenamiento. El AG al igual que el ACI son estructuras simples que conforman los principales ácidos fenólicos del té (Zuo et al., 2002). El AG se encuentra libre y forma parte de los taninos hidrolizables del té, estos taninos son susceptibles a hidrólisis en presencia de ácidos, bases o enzimas, permitiendo la liberación gradual de sus componentes primarios, ésteres de ácido gálico y unidad central de carbohidratos (Glucosa) (Arapitsas, 2012, Quideau et al., 2011). Mediante la



esterificación de la catequina con ácido gálico se pueden formar galatos, obteniéndose así la catequina-3-galato, la epicatequina-3-galato, la galocatequina-3-galato y la epigalocatequina-3-galato (EGCG) (Friedman et al., 2005). La degradación de las catequinas esterificadas producen catequinas simples y ácido gálico durante el procesamiento del té (Qin et al., 2012). Esto podría relacionarse con el incremento que se observa en la concentración de el AG durante el almacenamiento (Tabla 10), ya que en la concentración de EGCG en este estudio al día cero, se observaron concentraciones altas de estos compuestos, sin embargo, a los 20 días de almacenamiento (Tabla 13) se notó una disminución de este componente, por lo que puede atribuirse a una esterificación de la EGCG que resultan a su vez, en ácido gálico libre que contribuye al incremento de este polifenol (AG). Los cambios en polifenoles del té, puede deberse a factores físicos, químicos y enzimáticos, asimismo estas reacciones pueden ser potenciadas durante la producción del té, fermentación y almacenamiento (Olmez y Yilmaz, 2010, Qin et al., 2012). Además pueden estar influenciados por factores como temperatura, pH, humedad relativa, radiación entre otras (Ye et al., 2018, Li et al., 2011 y Bhat, 2016).

Esto puede explicar los resultados dinámicos en cambios en la concentración de polifenoles obtenidos, asimismo, las mezclas M4 y M8%, mostraron incrementos en la concentración de AG al día 20 de almacenamiento, sin embargo, estos incrementos fueron más bajos en comparación con los obtenidos por la mezcla M0. Para el ácido cafeico (AC), se observa que las mezclas procesadas y almacenadas a los 20 días, fueron más susceptibles a cambios en la concentración de este analito para mezclas con naranjita (M4 y M8), especialmente en las mezclas M8 (Tabla 10), donde las diferentes dosis al día 0, presentaron una reducción del 30% aproximadamente comparadas con el control, por el contrario, a los 20 días de almacenamiento se notó un aumento del 41% para las muestras tratadas con las diferentes dosis.

Tabla 10. Efecto del almacenamiento refrigerado a 4 °C en las concentraciones de ácido gálico y ácido clorogénico de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.

TRAT	Almacen (días)	AG (mg/100 g bs)				ACI (mg/100 g bs)			
		0%	4%	8%	0%	4%	8%		
ST	0	74.50 ± 6.65 ^b	37.28 ± 3.19 ^b	35.18 ± 0.34 ^b	434.48 ± 26.4 ^a	183.07 ± 7.66 ^a	184.11 ± 0.41 ^b		
	20	4092.9 ± 5.3 ^a	328.2 ± 31.2 ^a	365.8 ± 15.7 ^a	442.63 ± 0.25 ^a	200.53 ± 0.19 ^a	218.73 ± 0.07 ^a		
TT	0	42.10 ± 7.86 ^b	25.76 ± 3.10 ^b	21.18 ± 8.80 ^b	275.31 ± 37.6 ^b	144.90 ± 12.7 ^b	128.04 ± 37.5 ^a		
	20	567.2 ± 17.0 ^a	289.5 ± 0.12 ^a	320.9 ± 6.23 ^a	410.33 ± 20.7 ^a	195.18 ± 8.65 ^a	214.87 ± 6.16 ^a		
D1	0	72.16 ± 1.69 ^b	35.08 ± 4.84 ^b	25.05 ± 1.06 ^b	404.21 ± 14.0 ^b	182.54 ± 16.4 ^a	147.53 ± 7.34 ^b		
	20	15826 ± 190 ^a	321.7 ± 14.0 ^a	374.6 ± 24.8 ^a	646.53 ± 2.55 ^a	196.13 ± 0.18 ^a	213.17 ± 5.28 ^a		
D2	0	64.36 ± 5.90 ^b	31.98 ± 2.41 ^b	29.81 ± 11.1 ^b	357.02 ± 9.53 ^a	153.98 ± 1.44 ^b	209.01 ± 1.72 ^a		
	20	10379.3 ± 86 ^a	279.1 ± 27.3 ^a	357.0 ± 3.9 ^a	376.26 ± 2.87 ^a	184.52 ± 7.30 ^a	210.59 ± 0.28 ^a		
D3	0	85.04 ± 2.38 ^b	28.44 ± 2.51 ^b	33.79 ± 3.96 ^b	446.82 ± 43.5 ^a	149.69 ± 1.57 ^b	180.68 ± 13.2 ^a		
	20	11486.1 ± 8 ^a	293.9 ± 5.61 ^a	357.5 ± 14.2 ^a	471.86 ± 10.8 ^a	194.10 ± 0.72 ^a	218.12 ± 6.05 ^a		
D4	0	70.02 ± 3.01 ^b	15.60 ± 0.87 ^b	38.13 ± 2.33 ^b	427.64 ± 43.5 ^a	104.59 ± 0.93 ^b	193.80 ± 11.3 ^a		
	20	10622.7 ± 36 ^a	305.9 ± 0.74 ^a	374.0 ± 27.2 ^a	463.71 ± 13.8 ^a	195.05 ± 0.07 ^a	219.02 ± 2.67 ^a		

Todos los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). Letras minúsculas diferentes entre columnas denotan diferencias significativas entre días de almacenamiento mediante la prueba de Tukey (P<0.05). TRAT, tratamientos; Almacen, almacenamiento; ST, sin tratamiento; TT, tratamiento térmico; D1, 5.79 mJ.cm⁻²; D2, 7.33 mJ.cm⁻²; D3, 9.69 mJ.cm⁻²; D4, 14.39 mJ.cm⁻²; AG: ácido gálico; ACI: ácido clorogénico.



En mezclas M0, los tratamientos de irradiación comparados con el control, no presentaron diferencia significativa ($p > 0.05$), observándose un comportamiento estable entre las concentraciones de AC. En la epicatequina (EC), se encontró una estabilidad en las concentraciones obtenidas tanto del día 0 como del 20 de los porcentajes 4% y 8 % de sustitución (Tabla 11), es evidente que las mayores concentraciones se obtuvieron en mezclas con 0% de sustitución, ya que este compuesto se encuentra en mayor proporción en el té verde. Para este polifenol (EC) los 20 días de almacenamiento causaron un efecto significativo ($p < 0.05$) entre tratamientos (Anexo 1; Tabla 40, 41 y 42), donde la concentración de EC del tratamiento térmico al día 20 tuvo una reducción del 29.22% comparado con el control (ST). Efecto contrario con las concentraciones obtenidas de EC de las diferentes dosis de irradiación, las cuales presentaron un incremento aproximado del 34.74% comparado con el control (ST)

En la Tabla 12, se observa que la concentración de rutina (RT) en las mezclas, disminuyó en forma general, con la adición de naranjita. Para las mezclas con 8% de sustitución tanto el almacenamiento como los tratamientos, afectaron significativamente ($p < 0.05$) la concentración de RT (Anexo 1; Tabla 42), por lo que las dosis de irradiación y el tratamiento térmico presentaron un incremento en la concentración de este polifenol aproximadamente del 36% entre todas las dosis aplicadas, y del 45% para el tratamiento térmico, un efecto contrario sucedió con los tratamientos control (ST), disminuyendo ligeramente en un 9% al día 20 de almacenamiento (Tabla 12). Sin embargo, en las mezclas con 4% de adición de naranjita el almacenamiento a los 20 días, no mostró cambios significativos ($p > 0.05$) en su concentración (Anexo 1; Tabla 41), excepto en algunos tratamientos sujetos a radiación, donde a las dosis más altas se presentó un ligero aumento en la concentración de RT, mientras que con las dosis más bajas ($\leq 7.33 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$), se observaron pequeñas reducciones (aproximadamente del 18.5%) en concentración final de RT.

Tabla 11. Efecto del almacenamiento refrigerado a 4 °C en las concentraciones de ácido cafeico y epicatequina de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.

TRAT	Almacen (días)	AC (mg/100 g bs)				EC (mg/100 g bs)			
		0%	4%	8%	0%	4%	8%		
		ST	0	6.15 ± 0.50 ^a	3.30 ± 0.03 ^a	3.46 ± 0.08 ^a	24.7 ± 2.06 ^b	12.6 ± 0.44 ^a	11.6 ± 0.31 ^a
	20	6.17 ± 0.00 ^a	3.01 ± 0.05 ^b	3.43 ± 0.00 ^a	32.3 ± 0.16 ^a	9.13 ± 0.08 ^b	11.3 ± 0.03 ^a		
	0	6.19 ± 0.50 ^a	3.19 ± 0.05 ^a	2.33 ± 0.39 ^a	22.0 ± 7.29 ^a	9.26 ± 1.23 ^a	5.87 ± 2.59 ^a		
TT	20	6.26 ± 0.01 ^a	2.90 ± 0.02 ^b	3.37 ± 0.00 ^a	22.9 ± 0.04 ^a	8.73 ± 0.01 ^a	10.8 ± 0.03 ^a		
	0	6.21 ± 0.57 ^a	3.24 ± 0.03 ^a	2.40 ± 0.27 ^b	24.7 ± 1.29 ^b	12.4 ± 0.99 ^a	6.43 ± 0.55 ^b		
D1	20	7.15 ± 0.00 ^a	3.01 ± 0.00 ^b	3.51 ± 0.01 ^a	43.6 ± 0.18 ^a	9.43 ± 0.02 ^a	11.0 ± 0.00 ^a		
	0	5.96 ± 0.39 ^a	3.24 ± 0.09 ^a	2.49 ± 0.12 ^b	18.0 ± 1.92 ^b	11.8 ± 1.57 ^a	7.25 ± 1.95 ^a		
D2	20	6.93 ± 0.01 ^a	2.95 ± 0.00 ^a	3.53 ± 0.00 ^a	41.8 ± 3.20 ^a	9.00 ± 0.01 ^a	11.7 ± 0.04 ^a		
	0	6.24 ± 0.51 ^a	3.18 ± 0.05 ^a	2.50 ± 0.30 ^b	25.9 ± 0.00 ^b	10.5 ± 0.69 ^a	8.39 ± 0.50 ^b		
D3	20	6.55 ± 0.02 ^a	3.02 ± 0.02 ^a	3.57 ± 0.00 ^a	34.9 ± 0.43 ^a	9.35 ± 0.04 ^a	11.4 ± 0.01 ^a		
	0	6.06 ± 0.35 ^a	3.04 ± 0.06 ^a	2.56 ± 0.39 ^b	23.8 ± 3.18 ^a	7.60 ± 0.91 ^a	9.28 ± 0.99 ^a		
D4	20	6.69 ± 0.21 ^a	3.05 ± 0.01 ^a	3.55 ± 0.01 ^a	31.6 ± 0.24 ^a	9.26 ± 0.00 ^a	11.8 ± 0.04 ^a		

Todos los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). Letras minúsculas diferentes entre columnas denotan diferencias significativas entre días de almacenamiento mediante la prueba de Tukey (P<0.05). TRAT, tratamientos; Almacen, almacenamiento; ST, sin tratamiento; TT, tratamiento térmico; D1, 5.79 μj·cm⁻²; D2, 7.33 μj·cm⁻²; D3, 9.69 μj·cm⁻²; D4, 14.39 μj·cm⁻²; AC: ácido cafeico, EC; epicatequina.

Tabla 12. Efecto del almacenamiento refrigerado a 4 °C en las concentraciones de vainilina y rutina de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.

TRAT	Almacen (días)	VA (mg/100 g bs)				RT (mg/100 g bs)			
		0%	4%	8%	0%	4%	8%		
ST	0	38.63 ± 0.80 ^a	17.22 ± 1.11 ^a	18.79 ± 0.32 ^a	9.90 ± 0.07 ^a	3.76 ± 0.35 ^a	4.51 ± 0.37 ^a		
	20	34.44 ± 2.92 ^a	14.27 ± 0.91 ^a	17.58 ± 0.72 ^a	6.74 ± 0.77 ^b	3.57 ± 0.23 ^a	4.06 ± 0.55 ^a		
TT	0	40.74 ± 2.40 ^a	14.09 ± 1.44 ^a	9.078 ± 3.93 ^a	7.70 ± 2.16 ^a	3.76 ± 0.32 ^a	2.40 ± 0.82 ^a		
	20	33.11 ± 2.36 ^a	14.69 ± 0.85 ^a	14.86 ± 3.74 ^a	7.69 ± 0.56 ^a	3.19 ± 0.04 ^a	3.49 ± 0.15 ^a		
D1	0	37.25 ± 2.44 ^b	17.92 ± 1.74 ^a	10.03 ± 1.23 ^b	8.72 ± 0.01 ^a	4.41 ± 0.13 ^a	2.72 ± 0.17 ^a		
	20	52.91 ± 1.58 ^a	14.88 ± 0.64 ^a	17.89 ± 0.58 ^a	9.65 ± 2.11 ^a	3.63 ± 0.00 ^b	5.26 ± 0.58 ^a		
D2	0	29.41 ± 0.25 ^b	15.91 ± 1.63 ^a	11.38 ± 2.93 ^a	7.54 ± 0.91 ^b	4.06 ± 0.74 ^a	2.82 ± 0.37 ^a		
	20	53.68 ± 2.14 ^a	13.12 ± 0.27 ^a	17.98 ± 0.35 ^a	11.27 ± 0.0 ^a	3.24 ± 0.47 ^a	3.90 ± 0.22 ^a		
D3	0	41.43 ± 3.97 ^a	14.57 ± 0.36 ^a	12.93 ± 0.08 ^b	10.79 ± 0.4 ^a	3.55 ± 0.12 ^a	3.20 ± 0.00 ^a		
	20	37.11 ± 5.88 ^a	13.94 ± 0.20 ^a	17.70 ± 0.09 ^a	9.97 ± 0.98 ^a	3.61 ± 0.48 ^a	3.39 ± 0.37 ^a		
D4	0	40.59 ± 0.42 ^a	8.307 ± 1.71 ^a	14.40 ± 2.36 ^a	10.18 ± 0.1 ^a	2.56 ± 0.07 ^b	3.32 ± 0.03 ^a		
	20	43.45 ± 20.0 ^a	14.72 ± 1.30 ^a	18.30 ± 0.75 ^a	7.24 ± 3.79 ^a	3.63 ± 0.03 ^a	3.65 ± 0.32 ^a		

Todos los valores se expresan como media ± desviación estándar (n = 3). Letras minúsculas diferentes entre columnas denotan diferencias significativas entre días de almacenamiento mediante la prueba de Tukey (P<0.05). TRAT, tratamientos; Almacen, almacenamiento; ST, sin tratamiento; TT, tratamiento térmico; D1, 5.79 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; D2, 7.33 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; D3, 9.69 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; D4, 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; VA: vainilina, RT: rutina.

Un efecto contrario sucedió en las mezclas con M0, donde se obtuvo que a la dosis más alta ($14.39 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) se redujo un 28% la concentración de RT al día 20 de almacenamiento, sucediendo lo mismo en el tratamiento control (ST), donde se observó una reducción del 31% después de los 20 días. Para la vainillina (VA), el almacenamiento no tuvo un efecto significativo ($p > 0.05$) en mezclas con 0 y 4% de sustitución (Anexo 1; Tablas 40 y 41), a diferencia de las mezclas con 8% de sustitución (Anexo 1; Tabla 42), que tanto los tratamientos como el almacenamiento presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Por último, la epigallocatequina galato (EGCG) como lo muestra la Tabla 13, se obtuvo que en mezclas M0, el almacenamiento tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en la concentración, asimismo las diferentes dosis de irradiación en estudio y el control, presentaron una reducción de aproximadamente del 45% en la concentración final de EGCG a los 20 días de almacenamiento.

Tabla 13. Efecto del almacenamiento refrigerado a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ en las concentraciones de epigallocatequina galato de mezclas de té matcha con diferentes porcentajes de sustitución por jugo de naranjita.

TRAT	Almacen (días)	EGCG (mg/100 g bs)		
		0%	4%	8%
ST	0	790.1 ± 48.3^a	412.2 ± 17.3^a	153.6 ± 3.75^a
	20	548.1 ± 130^a	150.8 ± 3.75^b	347.6 ± 18.2^a
TT	0	169.1 ± 73.6^b	59.45 ± 14.6^a	101.7 ± 33.6^b
	20	953.9 ± 104^a	153.6 ± 29.1^a	316.6 ± 28.5^a
D1	0	1211.2 ± 140^a	334.4 ± 83.9^a	192.1 ± 5.4^b
	20	578.5 ± 2.95^b	176.6 ± 27.4^a	361.8 ± 32.3^a
D2	0	846.9 ± 22.2^a	233.1 ± 51.9^a	91.69 ± 21.1^b
	20	466.1 ± 170^a	201.8 ± 2.58^a	346.6 ± 28.7^a
D3	0	969.6 ± 74.4^a	230.1 ± 80.6^a	344.5 ± 58.8^a
	20	509.4 ± 2.95^b	173.7 ± 12.1^a	278.6 ± 31.3^a
D4	0	539.7 ± 48.7^a	208.2 ± 93^a	424.7 ± 79.6^a
	20	385.7 ± 3.90^b	194.9 ± 31.4^a	362.2 ± 22.4^a

Todos los valores se expresan como media \pm desviación estándar ($n = 3$). Letras minúsculas diferentes entre columnas denotan diferencias significativas entre días de almacenamiento mediante la prueba de Tukey ($P < 0.05$). TRAT, tratamientos; Almacen, almacenamiento; ST, sin tratamiento; TT, tratamiento térmico; D1, $5.79 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; D2, $7.33 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; D3, $9.69 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; D4, $14.39 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$; EGCG, epigallocatequina galato.

En mezclas M4, se observa que las diferentes dosis ejercieron una disminución en la concentración de EGCG al día 20 (alrededor del 22.5%) comparada con el aumento que presentaron los tratamientos térmicos. Con respecto a mezclas M8, a dosis bajas 5.79 y 7.33 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ presentaron aumentos del 46 y 73%, respectivamente, encontrándose que a dosis mayores 9.69 y 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$, se redujeron un 19 y un 15%, respectivamente durante los 20 días de almacenamiento refrigerado a 4 ° C.

6.2.3 Evaluación sensorial

Los resultados de la prueba triangular realizada se muestra en la Figura 17. Para encontrar diferencias significativas entre muestras para 55 jueces (total de participantes en el análisis sensorial de este estudio), se requiere con un nivel de significancia de 1% que 28 de éstos acierten o detecten dicha diferencia entre las muestras presentadas (Roessler, et al., 1948). Como se puede observar en la Figura 17, las muestras irradiadas con UV-C no presentaron diferencia significativa, comparadas con el tratamiento térmico convencional (control), por lo tanto, los jueces no detectan diferencia entre ambas muestras.

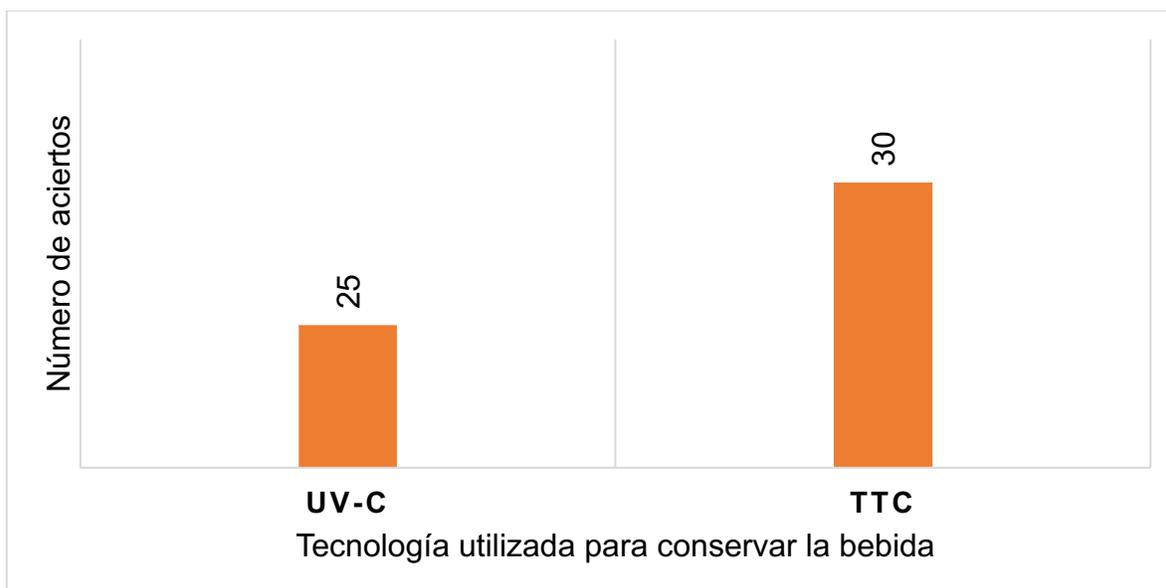


Figura 17. Prueba triangular desarrollada para indentificar diferencias entre tratamientos térmicos frente a tratamiento de irradiación con UV-C, en bebidas de té matcha con jugo de naranjita. N= 55 observaciones, tecnología UV-C= 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ y TTC= tratamiento térmico convencional 85 °C x 30 s.



Estos resultados son favorables, por la aceptabilidad alcanzada por el panel, indicando que esta tecnología térmica alternativa para el procesamiento de este tipo de bebidas resulta beneficiosa, ya que la bebida irradiada refleja ser adecuada y podría ser considerada para sustituir al TTC (control) al no haberse detectado diferencia.

6.3. Tercera fase: Evaluación del tratamiento combinado de UV-C+ tratamiento térmico moderado (55 °C x 30 s) vs. tratamiento térmico convencional (85 °C x 30 s)

Con base a los resultados obtenidos en la segunda fase. Se eligió la mezcla con 8% de sustitución, esta decisión radica en que la incorporación de mayor cantidad de naranjita a la mezcla potenciará y enriquecerá el licor del té matcha que conserva un sabor neutro, con sabores y aromas más agradables para el paladar del consumidor, sin observar cambios en la aceptabilidad comparado con mezclas tratadas térmicamente, conservando en mayor medida los componentes bioactivos que tienen un efecto benéfico a la salud. Si bien, para la incorporación de nuevas tecnologías a la industria alimentaria es necesario evaluar distintos atributos y parámetros sobre la calidad de las bebidas finales, también se requiere conocer la efectividad de los tratamientos y la estabilidad que presentan las bebidas durante su almacenamiento refrigerado, con el fin de conocer el comportamiento de la bebida y los cambios que van experimentando en el tiempo y a su vez, definir hasta que punto la bebida sigue conservando las características deseables y seguras para el consumidor.

6.3.1. Caracterización de la muestra

En este sentido, la mezcla formulada con té matcha con 8% de sustitución sin procesar utilizada para la tercera fase presentó las siguientes características: 211.66±2.35 UNT, cantidad de sólidos solubles de 1.13±0.05 °Brix, pH de 3.01±0.01, color: parámetro de Luminosidad (L^*): 69.51±0.14, (a^*): -1.52±0.05, con tendencia al verde, y parámetro (b^*): 14.35±0.15 con tendencia al amarillo. La bebida formulada, se sometió a diferentes tratamientos TT: tratamiento térmico convencional a 85 °C x 30 s), UVTTM: tratamiento combinatorio de UV-C 14.39

mJ·cm⁻² seguido de un tratamiento térmico moderado 55 °C x 30 s, TTM: tratamiento térmico moderado individual 55 °C x 30 s y UV-C: tratamiento de irradiación individual a 14.39 mJ·cm⁻². La evolución de los cambios fisicoquímicos y comportamiento microbiológico se evaluaron en los 0, 15, 30 y 60 días de almacenamiento en refrigeración a 4 °C.

6.3.2 Evaluación de análisis físicos durante almacenamiento refrigerado

La evolución del pH y °Brix durante el almacenamiento refrigerado se muestran en las Tablas 14 y 15, respectivamente. De acuerdo con el análisis de varianza realizado, se encontró que el pH no tuvo un cambio significativo ($p > 0.05$) (Anexo 2; Tabla 43), entre los tratamientos, sin embargo, el almacenamiento provocó un incremento significativo ($p < 0.05$), donde el tratamiento sin procesar al día 0 presentó el valor más bajo 3.0 ± 0.01 , comparado con el resto de los días. Los valores de pH oscilaron entre 2.89 y 3.20, exhibiendo una estabilidad constante hasta el día 60.

Tabla 14. Efecto individual y combinatorio de tecnologías y tiempo de almacenamiento sobre el pH en bebida de té matcha con jugo de naranjita.

TRATAMIENTO	pH			
	Día 0	Día 15	Día 30	Día 60
ST	$3.00 \pm 0.01_{bA}$	$3.07 \pm 0.0_{aA}$	$3.06 \pm 0.00_{aA}$	$3.08 \pm 0.00_{aA}$
TT	$2.95 \pm 0.10_{aA}$	$3.01 \pm 0.0_{aA}$	$3.06 \pm 0.00_{aA}$	$3.20 \pm 0.28_{aA}$
UVTTM	$2.89 \pm 0.09_{aA}$	$3.07 \pm 0.0_{aA}$	$3.04 \pm 0.01_{aA}$	$3.07 \pm 0.00_{aA}$
TTM	$2.95 \pm 0.00_{aA}$	$3.10 \pm 0.0_{aA}$	$3.06 \pm 0.00_{aA}$	$3.07 \pm 0.00_{aA}$
UV	$3.02 \pm 0.02_{aA}$	$3.07 \pm 0.0_{aA}$	$3.06 \pm 0.60_{aA}$	$3.08 \pm 0.00_{aA}$

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas \pm desviación estandar. Medias con letras minúsculas distintas en la misma columna denotan diferencia significativa por efecto del tratamiento y letras mayúsculas diferentes en fila, indican diferencia significativa durante el almacenamiento mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). ST, sin tratamiento; TT, tratamiento térmico; UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C+tratamiento térmico moderado, TTM, Tratamiento térmico moderado 55 °C x 30 s, irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm⁻².

6.3.2.1 Sólidos solubles (°Brix)

Los sólidos solubles (°Brix) contenidos en las bebidas procesadas no mostraron diferencias entre el control ST: 1.13-1.45, (UV-C) individual: 0.83-1.16, tratamiento térmico (TT): 1.01-1.21 °Brix y el tratamiento combinado (UVTTM): 1.03 -1.15 °Brix, desde el día 0 al día 30 de almacenamiento, notándose al día 60, una disminución de °Brix en muestras tratadas con UV-C y TTM. Tratamiento térmico convencional y UVTTM no presentaron diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los días de almacenamiento (Anexo 2; Tabla 44). Resultados similares fueron reportados por Ferrario et al. (2018), en mezclas de jugo de zanahoria y naranja con adición de Yerba Mate, donde no detectaron cambios en °Brix, en muestras tratadas a excepción de las tratadas con tratamientos combinatorios, asociado a la adición de Yerba mate a la bebida (Tabla 15).

Tabla 15. Efecto individual y combinatorio de tecnologías sobre los sólidos solubles presentes en bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante el tiempo de almacenamiento refrigerado a 4°C.

TRATAMIENTO	° Brix			
	Día 0	Día 15	Día 30	Día 60
ST	1.13±0.05 _{bcA}	1.25±0.0 _{abA}	1.03±0.00 _{cA}	1.45±0.00 _{aA}
TT	1.11±0.02 _{aA}	1.21±0.02 _{aA}	1.01±0.04 _{aA}	1.08±0.01 _{aA}
UVTTM	1.03±0.02 _{aA}	1.15±0.05 _{aA}	1.05±0.00 _{aA}	1.11±0.05 _{aA}
TTM	1.01±0.04 _{bA}	1.18±0.04 _{bA}	1.01±0.01 _{bA}	1.01±0.04 _{aB}
UV	1.16±0.05 _{abA}	0.96±0.07 _{abA}	1.08±0.15 _{aA}	0.83±0.05 _{bB}

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas \pm desviación estandar. Medias con letras minúsculas distintas en la misma columna denotan diferencia significativa por efecto del tratamiento, y letras mayúsculas diferentes en fila, indican diferencia significativa durante el almacenamiento mediante la prueba de Tukey ($P < 0.05$). ST, sin tratamiento; TT, tratamiento térmico; UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C + tratamiento térmico moderado; TTM, tratamiento térmico moderado 55 °C x 30 s; UV, irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm⁻²

6.3.3 Color

La evolución de los valores medios de los parámetros L^* , a^* y b^* correspondientes a las muestras tratadas individualmente con las tecnologías de irradiación



ultravioleta y térmicas así como su combinación, se muestran en la Tabla 16. Se registraron diferencias significativas ($p < 0.05$) para los valores de L^* , a^* y b^* entre los tratamientos aplicados y durante los días de almacenamiento (Anexo 2; Tabla 45, 47). Es notorio que en las muestras sin tratar (control) durante el periodo de almacenamiento, la luminosidad de la bebida se va perdiendo. Tornando las coloraciones de las bebidas a más opacas y oscuras, producto de la degradación de compuestos como las clorofilas (Ošřádalová et al. (2015), encargadas de conferir el color verde característico a la bebida. Los diferentes tratamientos aplicados exhibieron diferencias, donde se puede observar que tanto los UVTTM como el TTM utilizado individualmente al día 0 de almacenamiento, conserva en mayor medida la luminosidad de la bebida, comparada con los TT ($p < 0.05$), que presentaron los valores más altos de L^* . Partiendo de este hecho, las fluctuaciones del parámetro L^* , que se presentaron durante el almacenamiento, se puede atribuir a los cambios en los pigmentos contenidos en la bebida (clorofila) Ošřádalová et al., (2015). Asimismo, Kim et al. (2007) reportaron que en bebidas de té verde procesadas térmicamente la bebida se tornaba más oscura a medida que se incrementaba la temperatura de procesamiento. Estos resultados los relacionaron con la oxidación de las catequinas presentes en el té y la degradación de las clorofilas bajo condiciones de calentamiento. Asimismo, de las coordenadas cromáticas, el parámetro a^* presentó valores negativos lo cual indica que se inclinan hacia colores verdes. El tratamiento combinatorio (UVTTM) se observa una estabilidad durante los primeros 30 días de almacenamiento, en este parámetro, siendo hasta el día 60, donde comienza una marcada degradación del color, tal como ocurre con el tratamiento térmico convencional, donde se observa que el valor obtenido se inclina hacia valores positivos (colores rojos o marrones). Esta misma tendencia se puede observar para el resto de los días de almacenamiento para este tratamiento. También se puede notar que la radación ultravioleta aplicada individualmente presenta mejor estabilidad en el parámetro a^* comparada con los tratamientos térmicos. Por último, el parámetro b^* (azul-amarillo), mostró tendencias a color amarillo. El UVTTM presentó valores cercanos al control comparado con el TT, el cual es el tratamiento que exhibe valores más bajos en comparación con el resto de



los tratamientos. Al día 60 se observa que para todos los tratamientos, la tendencia al color amarillo disminuye considerablemente, evidenciando la poca estabilidad de los compuestos fitoquímicos relacionados con el color. Se ha descubierto que el almacenamiento de té verde conduce a una disminución de la concentración de clorofila. En estudios realizados por Ošťádalová et al. (2015) en muestras almacenadas durante 2 meses, se observó una disminución significativa en contenido de clorofilas, mencionan que la pérdida de clorofila puede explicarse por su sensibilidad a la luz, temperaturas más altas y pH del medio. Astley et al. (2003), mencionan que durante el almacenamiento puede llevarse a cabo la liberación de ácidos grasos y una acidificación posterior de las sustancias presentes en el té, que a su vez provoca la inestabilidad de la clorofila. Además, el acceso de oxígeno a la sustancia en combinación con la luz conduce a la liberación de magnesio de la molécula de clorofila que es reemplazado por hidrógeno, lo que permite la creación de feofitinas, los derivados de hidrógeno, y luego pirofeofitinas y feofórbidos. Este proceso da como resultado un cambio de color que van del verde a colores marrones, tal como lo describe Mayer, (1986). Mismos cambios se observan cuando los tés son sometidos a fermentación o bien a procesamientos térmicos (Kosińska y Andlauer, 2014). Ding, (2005), menciona que cualquier manipulación que facilite el acceso de oxígeno al té contribuirá a la degradación de los pigmentos naturales, incluida la clorofila. Esto explica los resultados obtenidos en este estudio al ser mezclas con bajos pH y tratadas térmicamente es notorio en el parámetro a^* al día 0. Por otro lados, es evidente la inestabilidad que sufren las clorofilas al marcar tendencias positivas, hacen que las bebidas se tornen a colores marrones o rojizos. Asimismo, la luminosidad de la bebida se encuentra comprometida al presentar valores bajos, esto quiere decir, que se inclina a colores más opacos u oscuros. Deng et al. (2018), menciona que los cambios en el pH podrían afectar la estabilidad de los polifenoles al cambiar sus formas químicas, lo que también es parte de la razón a la que le atribuyen la variación de color a los polifenoles.

Tabla 16. Efecto individual y combinatorio de tecnologías de UV-C y tratamientos térmicos moderados, durante el tiempo de almacenamiento sobre los parámetros de color en bebida de te matcha con jugo de naranjita

TRATAMIENTO	<i>L*</i>			
	DIA 0	DIA 15	DIA 30	DIA 60
ST	69.51±0.14 _{dE}	70.85±0.33 _{bc}	72.02±0.23 _{aA}	70.50±0.03 _{cE}
TT	71.09±0.04 _{cA}	72.41±0.01 _{aA}	69.91±0.14 _{dC}	71.57±0.00 _{bA}
UVTTM	69.86±0.05 _{bc}	70.89±0.00 _{aB}	69.08±0.67 _{cD}	70.90±0.01 _{aD}
TTM	69.67±0.12 _{cD}	68.94±0.01 _{dE}	70.29±0.06 _{bB}	71.40±0.01 _{aB}
UV	70.59±0.03 _{bB}	70.38±0.01 _{cD}	70.37±0.27 _{dB}	71.31±0.00 _{aC}

TRATAMIENTO	<i>a*</i>			
	DIA 0	DIA 15	DIA 30	DIA 60
ST	-1.52±0.05 _{cC}	-1.28±0.16 _{cC}	-0.51±0.32 _{aA}	-0.39±0.25 _{bC}
TT	-0.74±0.03 _{bA}	-0.21±0.03 _{aA}	-0.79±0.08 _{bC}	-0.15±0.02 _{aA}
UVTTM	-1.48±0.03 _{cC}	-1.07±0.02 _{bB}	-1.07±0.02 _{bE}	-0.40±0.03 _{aB}
TTM	-1.68±0.22 _{cD}	-1.92±0.03 _{cD}	-0.93±0.02 _{bD}	-0.46±0.03 _{aB}
UV	-1.39±0.04 _{cB}	-1.73±0.03 _{dD}	-0.56±0.02 _{bB}	-0.23±0.02 _{aA}

TRATAMIENTO	<i>b*</i>			
	DIA 0	DIA 15	DIA 30	DIA 60
ST	14.35±0.15 _{aC}	12.53±0.93 _{bc}	8.90±0.06 _{dE}	12.46±0.02 _{cA}
TT	10.34±0.02 _{bE}	7.93±0.01 _{dE}	13.81±0.46 _{aC}	10.11±0.01 _{dE}
UVTTM	14.74±0.11 _{bB}	12.48±0.02 _{cD}	17.93±0.02 _{aA}	12.01±0.02 _{dB}
TTM	15.56±0.73 _{bA}	17.83±0.01 _{aA}	14.29±0.04 _{cB}	11.31±0.00 _{dC}
UV	13.12±0.03 _{cD}	15.10±0.00 _{aB}	13.32±0.03 _{bD}	11.00±0.01 _{dD}

Valores medios de seis réplicas ± desviación estándar. Medias con letras minúsculas distintas en la misma fila denotan diferencia significativa por efecto del almacenamiento. Medias con letras mayúsculas diferentes en las columnas denotan diferencia significativa por tratamiento mediante la prueba Tukey ($p < 0.05$). ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico 85 °C x 30 s; UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C+tratamiento térmico moderado TTM, Tratamiento térmico moderado 55 °C x 30s; UV, irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm⁻²



6.3.4 Contenido de polifenoles totales (CPT)

Los tratamientos aplicados y el tiempo de almacenamiento presentaron cambios significativos ($p < 0.05$) sobre la concentración de polifenoles totales (Anexo 2; Tabla 48). Sin embargo, al realizar comparaciones entre los tratamientos, fue notorio que al día 0 el procesamiento no presentó diferencias entre tratamientos. A los 15 días de almacenamiento se observó el mismo comportamiento, a excepción del tratamiento con UV-C individual, donde se obtuvo el valor más bajo de concentración de estos compuestos (61.08 ± 0.37 mg EAG/g bs). Cabe mencionar que la concentración de polifenoles obtuvo un aumento del 48% alcanzando el punto más alto en la concentración al día 15 de almacenamiento en la mayoría de los tratamientos, sin embargo, al día 30 este comportamiento se invirtió, observándose la drástica caída en el contenido de polifenoles. El tratamiento UVTTM durante los 60 días de almacenamiento obtuvo valores muy similares con respecto al tratamiento control tanto el día 0 como al día 15 de almacenamiento. Tal como lo muestra la Tabla 17. Resultados similares fueron reportados por Ferrerio et al. (2018), donde observaron que en muestras tratadas con la combinación de tecnologías UV-C y tratamientos térmicos no mostraron cambios en el contenido de polifenoles durante el almacenamiento en comparación con el día 0, mencionando que en estas concentraciones permanecieron significativamente más altas comparadas con el control. Partiendo del hecho que la estabilidad de los compuestos fenólicos depende de muchos factores entre ellos, el pH, el procesamiento aplicado, iones metálicos, así como la estructura de los mismos (Deng et al., 2018). El comportamiento observado en este estudio se puede atribuir a los tiempos cortos de exposición de la radiación UV-C, aunado que los tratamientos térmicos moderados utilizados no generan el mismo impacto que los tratamientos térmicos convencionales, los cuales provocan una mayor degradación. Además, el impacto que se genera en la bebida, no daña al grado de permitir que ocurran reacciones de fotooxidación de polifenoles.

Tabla 17. Efecto individual y combinatorio del procesamiento con UV-C y tratamientos térmicos y tiempo de almacenamiento sobre la concentración de polifenoles totales en bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita.

TRATAMIENTO	Polifenoles totales (mg EAG/g bs)			
	Día 0	Día 15	Día 30	Día 60
ST	49.78 ± 0.02 _{ba}	74.77 ± 0.58 _{aA}	48.99 ± 0.56 _{bC}	31.18 ± 0.40 _{ca}
TT	51.37 ± 2.35 _{ba}	73.80 ± 0.88 _{aA}	54.65 ± 1.17 _{bB}	29.60 ± 4.54 _{ca}
UVTTM	52.48 ± 2.47 _{ba}	73.80 ± 0.91 _{aA}	53.72 ± 0.26 _{bB}	36.66 ± 2.90 _{ca}
TTM	52.97 ± 2.47 _{ba}	75.48 ± 1.76 _{aA}	57.42 ± 0.57 _{bB}	12.53 ± 3.70 _{ca}
UV	56.53 ± 0.22 _{ba}	61.08 ± 0.37 _{abB}	63.78 ± 1.80 _{aA}	34.74 ± 2.90 _{ca}

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Medias con letras mayúsculas distintas en la misma columna denotan diferencia significativa por efecto del tratamiento, y letras minúsculas en la misma fila denotan diferencia entre días de almacenamiento mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico 85 °C x 30 s; UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C+tratamiento térmico moderado TTM, tratamiento térmico moderado 55 °C x 30s, UV, irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm⁻²

6.3.5 Actividad antioxidante (AA)

En la tabla 18, se muestra la evolución de la actividad antioxidante de la bebida de té matcha con jugo de naranjita para los diferentes tratamientos durante el periodo de almacenamiento refrigerado. Dónde se obtuvo que tanto el tratamiento como el tiempo de almacenamiento, tuvieron un efecto significativo en la actividad antioxidante de la bebida (Anexo 2; Tabla 49). Sin embargo, es notorio que al día 0, los tratamientos no presentaron diferencias significativas entre la AA obtenida, comparadas con el control (ST), a excepción del tratamiento térmico moderado (TTM), el cual exhibió la menor actividad, obteniendo valores de 623.25 µmol ET/g bs. Para el día de almacenamiento 15, se nota una estabilidad constante en la actividad aproximadamente del 57%, para todos los tratamientos, resaltando que tanto el tratamiento control (365.13 µmol ET/g bs), como los tratamientos térmicos moderados individuales (349.86 µmol ET/g bs) y los tratamientos UV (331.98 µmol ET/g bs) presentaban menor AA comparada con el tratamiento combinatorio 407.79 µmol ET/g bs. Estudios realizados por Nekvapil et al. (2012) en muestras de té sin

procesar con la incorporación de jugo de cítricos revelaron que la capacidad antioxidante disminuyó un 11.5% después de 4 días de almacenamiento a 4°C. Dentro de los principales factores que repercuten en la calidad del té y la estabilidad de las catequinas durante el almacenamiento son la luz, el oxígeno y la temperatura (Sun et al., 2018, Zhu et al., 1997). También, en bebidas “ready to drink” el material de empaque tiene una importante influencia en la estabilidad de los componentes durante su almacenamiento. Kim et al. (2007), evaluaron el impacto de tres materiales de empaque vidrio, PET y pouch esterilizable sobre la estabilidad en las infusiones de té verde y encontraron que las catequinas eran estables hasta las 6 semanas de almacenamiento refrigerado y en ausencia de luz. La capacidad antioxidante de las infusiones de té verde disminuyó en un 18, 14 y 30% en vidrio, PET y bolsa esterilizables, respectivamente, siendo el PET y el material de vidrio las que obtuvieron una menor pérdida. Los autores explican que las diferencias obtenidas pueden deberse a las diferentes permeabilidades al oxígeno que presentan los materiales de empaque. Es por ello que el almacenamiento durante un periodo de tiempo prolongado y el material de empaque puede provocar una pérdida de la calidad del producto (Kosińska y Andlauer, 2014).

Tabla 18. Efecto individual y combinatorio del procesamiento con UV-C y tratamientos térmicos sobre la actividad antioxidante en bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante el tiempo de almacenamiento.

TRATAMIENTO	Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET/g bs}$)			
	Día 0	Día 15	Día 30	Día 60
ST	771.5 \pm 3.57 _{aA}	623.2 \pm 4.55 _{bB}	365.1 \pm 11.8 _{cBC}	339.6 \pm 4.60 _{cA}
TT	782.2 \pm 6.17 _{aA}	789.8 \pm 3.90 _{aA}	387.2 \pm 4.93 _{bAB}	250.9 \pm 7.38 _{cB}
UVTTM	779.4 \pm 3.90 _{aA}	790.2 \pm 17.6 _{aA}	407.7 \pm 7.87 _{bA}	277.1 \pm 2.01 _{cB}
TTM	779.9 \pm 12.0 _{aA}	781.7 \pm 4.11 _{aA}	331.9 \pm 10.8 _{bC}	208.5 \pm 3.45 _{bC}
UV	627.4 \pm 10.9 _{aB}	591.3 \pm 3.68 _{aB}	349.8 \pm 5.18 _{bC}	358.8 \pm 20.1 _{bA}

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas \pm desviación estándar. Medias con letras mayúsculas distintas en la misma columna denotan diferencia significativa por efecto del tratamiento, y letras minúsculas distintas en la fila indican diferencia entre días de almacenamiento, mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico 85 °C x 30 s; UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C+tratamiento térmico moderado; TTM, Tratamiento térmico moderado 55 °C x 30 s; UV, irradiación UV-C a 14.39 $\text{mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$



6.3.6 Flavonoides totales (FT)

En la Tabla 19, se muestra el comportamiento de la concentración de los flavonoides totales a través del tiempo de almacenamiento refrigerado de los diferentes tratamientos aplicados a las bebidas de té matcha con jugo de naranjita. Al realizar el análisis de varianza (Anexo 2; Tabla 50) se obtuvo que los tratamientos no tuvieron efecto significativo ($p > 0.05$) en la concentración de los flavonoides en la bebida. Sin embargo, el tiempo de almacenamiento afectó significativamente ($p < 0.05$) al contenido de FT; encontrándose en los tratamiento combinatorios que el día 0 y día 15 existe una estabilidad de estos componentes. A tiempos mayores de 30 días se observa una reducción marcada alrededor de un 30.79%, tal como se presentó en la concentración de polifenoles totales y actividad antioxidante de este estudio. Este comportamiento fue notorio para el resto de los tratamientos. Estos resultados concuerdan con los reportados por Chen et al. (2001), quienes realizaron un estudio en bebidas de té enlatadas y embotelladas que evaluaron durante 6 meses de almacenamiento, encontrando que al preparar el té en agua destilada y sobre soluciones tampón de pH 4 y pH 5, condujo a la degradación de las catequinas del té de un 23%, 55% y 90%, respectivamente. Con lo cual confirmaron que la estabilidad de las catequinas del té era sensible al pH. También, adicionaron té verde en refrescos comerciales con pH que oscilaron entre 3.23 y pH 6 y encontraron que a pH bajos la concentración de catequinas disminuyó en un 45% después de 6 meses de almacenamiento, mientras que en refrescos de pH 6, se degradó completamente después de 4 meses de almacenamiento. Es común que en la preparación de bebidas a base de té exista la presencia de otros ingredientes que mejoren o potencien el sabor de las bebidas los cuales incluyen la sacarosa, ácido cítrico y ácido ascórbico. Sin embargo, estudios realizados por Su et al. (2003), describen que el ácido cítrico y ascórbico eleva la degradación de las catequinas en un extracto de catequinas de té verde solubilizado y purificado. Contrariamente Sang et al. (2005), mostraron que una mayor concentración de catequinas prolonga positivamente la vida útil y la estabilidad de (-)-Epigallocatequina-3-galato (EGCG) y otras catequinas. En concordancia con estos resultados, la estabilidad que se presentó en estos componentes se podría atribuir

al método de extracción utilizado para obtener la base de té matcha. Ya que al realizar múltiples extracciones permite que el agua al estar en constante agitación, en conjunto con el tamaño de partícula del polvo, hace que se disuelva en gran medida el polvo de té matcha, con lo cual se obtiene mayor concentración de compuestos bioactivos en suspensión; dando como resultado una mayor estabilidad de los componentes.

Tabla 19. Efecto individual y combinatorio del procesamiento con UV-C y tratamientos térmicos sobre la concentración de flavonoides totales en bebidas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante el almacenamiento.

TRATAMIENTO	Contenido de flavonoides (mg ECAT/g bs)			
	Día 0	Día 15	Día 30	Día 60
ST	7.35 ± 0.17 _{abA}	7.66 ± 0.28 _{aA}	5.37 ± 0.28 _{bA}	6.63 ± 0.98 _{abA}
TT	7.54 ± 0.27 _{aA}	7.07 ± 0.12 _{aA}	6.01 ± 0.53 _{aA}	6.64 ± 0.62 _{aA}
UVTTM	7.76 ± 0.15 _{aA}	7.41 ± 0.23 _{aA}	5.37 ± 0.06 _{bA}	5.96 ± 0.53 _{bA}
TTM	7.51 ± 0.06 _{aA}	7.15 ± 0.27 _{aA}	6.40 ± 0.97 _{aA}	5.30 ± 0.76 _{aA}
UV	8.03 ± 0.13 _{aA}	7.65 ± 0.22 _{aA}	7.04 ± 0.51 _{abA}	5.92 ± 0.50 _{bA}

Los valores reportados son el promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Medias con letras mayúsculas distintas en la misma columna denotan diferencia entre tratamientos y letras minúsculas distintas en la misma fila indican diferencia durante el almacenamiento, mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico 85 °C x 30 s; UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C+tratamiento térmico moderado TTM, Tratamiento térmico moderado 55 °C x 30s; UV, irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm⁻²

6.3.7 Evolución del perfil de polifenoles individuales durante el almacenamiento

En la Figura 16, se muestra el perfil cromatográfico de los compuestos fenólicos encontrados en muestras de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita evaluados al día 0 y día 60 de almacenamiento refrigerado, detectándose 7 picos, de los cuales por orden de aparición, se encontraron los siguientes: Pico 1: ácido gálico, pico 2: ácido clorogénico, pico 3: ácido cafeico, pico 4: epicatequina, pico 5: epigallocatequina galato, pico 6: vainillina, y pico 7: rutina. De éstos, la epigallocatequina galato corresponde al polifenol en mayor proporción en este estudio, obteniéndose concentraciones de 243.77 mg/100 g bs, seguido de el ácido clorogénico de 122.01 mg/100g bs, ácido gálico 18.54 mg/100 g bs y epicatequina con 6.80 mg/100 g bs. Este último componente y la epigallocatequina galato son



polifenoles principales que constituyen el té verde (Kosińska y Andlauer, 2014). De acuerdo con análisis de varianza realizado (Anexo 2; Tabla 51) tanto el tratamiento como el tiempo de almacenamiento tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en la concentración de polifenoles individuales. Como se observa en la Tabla 20, el ácido gálico al día 0, los tratamientos aplicados no tuvieron efecto significativo ($p > 0.05$) en la concentración de este componente, se encontró que los tratamientos combinatorios (UVTTM) no presentaron diferencias comparadas con el control. Sin embargo, al día 60 el tratamiento térmico (TT) presentó una disminución en la concentración al igual que los tratamiento de UV-C (UV), tratamiento térmico moderado (TTM) y los (UVTTM). El almacenamiento tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en el tratamiento de UV-C, donde se observó una disminución en la concentración marcada al día 60, comparada con el día 0. El ácido clorogénico (ACI) es uno de los componentes que se encontró en mayor concentración en la bebida. En el día 0, los UVTTM conservaron mayores concentraciones comparada con los TT, al día 60 se observó que los TTM y la UV-C fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) comparado con el día 0 de almacenamiento, donde se pudo observar valores más pequeños en la concentración de (ACI). En la concentración de la epicatequina (EC) los tratamientos no tuvieron un efecto significativo ($p > 0.05$). Sin embargo, se puede observar en los cromatogramas (Figura 18) una disminución de este componente al día 60, para los tratamientos térmicos y el control (pico 4, cromatograma B3 y B1) por efecto del almacenamiento, comparados con el día 0. El ácido cafeico (AC) los tratamientos fueron significativamente diferentes comparados con el control ($p < 0.05$). El tiempo de almacenamiento tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en las muestras control y UV-C donde se observó que al día 60 hubo una disminución en la concentración de (AC). Por otro lado, la vainillina presentó diferencias significativas entre tratamientos y días de almacenamiento ($p < 0.05$), se observó que los tratamientos de UV-C al día 0 no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$) comparadas con el control. Sin embargo, al día 60, los TT reflejan el valor más bajo en la concentración de VA, seguido de los tratamientos UVTTM y UV-C, presentado diferencias significativas comparadas con el control ($p < 0.05$).

Tabla 20. Efecto del procesamiento individual y combinatorio de irradiación UV-C y tratamientos térmicos moderados en el tiempo de almacenamiento sobre los compuestos fenólicos individuales presentes en mezclas de te matcha con jugo de naranjita

TRAT	Almacen (días)	Compuesto fenólico (mg/ 100 g bs)							
		AG	ACI	AC	EC	EGCG	VA	RT	
UVTTM	0	22.5±3.0 ^{aa}	186.4±21.9 ^{aa}	4.23±0.2 ^{ab}	7.88±0.6 ^{aa}	837.6±18.0 ^{aa}	5.44±3.12 ^{ab}	2.54±0.84 ^{aab}	
	60	15.8±0.7 ^{aab}	138.7±3.3 ^{aA}	3.6±0.17 ^{ab}	5.52±5.3 ^{aA}	116.3±20.0 ^{bAB}	4.49±0.10 ^{aBC}	2.37±0.07 ^{aAB}	
TTM	0	15.1±1.3 ^{aA}	146.7±3.7 ^{aAB}	4.08±0.0 ^{ab}	7.63±5.7 ^{aA}	168.1±5.57 ^{aC}	17.13±2.6 ^{aA}	1.84±0.22 ^{aB}	
	60	13.6±0.1 ^{aAB}	117.0±2.80 ^{bB}	3.73±0.1 ^{ab}	9.62±4.8 ^{aa}	47.47±31.25 ^{bBC}	4.95±0.85 ^{bB}	1.04±0.10 ^{bB}	
UV	0	27.5±2.0 ^{aa}	162.4±8.1 ^{aAB}	4.26±0.2 ^{ab}	10.9±0.3 ^{aa}	347.8±6.1 ^{ab}	14.82±2.3 ^{aA}	4.50±0.81 ^{aA}	
	60	14.7±1.2 ^{bAB}	121.9±1.5 ^{bB}	3.38±0.0 ^{bB}	17.6±6.8 ^{aa}	191.1±48.30 ^{bA}	5.62±0.85 ^{bB}	2.70±0.33 ^{aA}	
ST	0	18.5±4.6 ^{aa}	122.0±16.5 ^{ab}	6.80±0.4 ^{aa}	9.50±1.5 ^{aa}	243.7±37.2 ^{aBC}	10.50±1.4 ^{bA}	3.40±0.33 ^{aAB}	
	60	17.7±1.2 ^{aA}	119.7±1.34 ^{ab}	4.27±0.1 ^{bA}	3.38±0.7 ^{bA}	20.12±11.2 ^{bBC}	16.56±0.0 ^{aA}	2.00±0.65 ^{aAB}	
TT	0	16.7±3.4 ^{aA}	126.7±6.75 ^{ab}	4.06±0.5 ^{ab}	9.29±5.2 ^{aA}	235.7±43.2 ^{aC}	10.40±1.2 ^{aAB}	3.12±0.67 ^{aAB}	
	60	12.8±1.5 ^{aB}	119.5±5.28 ^{ab}	3.46±0.1 ^{ab}	3.00±0.7 ^{aA}	ND ^{bC}	2.63±0.10 ^{bC}	1.32±0.38 ^{aAB}	

Los valores reportados son el promedio de dos réplicas ± desviación estándar. Medias con letras mayúsculas distintas en columnas denotan diferencia significativa entre tratamientos y letras minúsculas distintas en la misma columna denotan diferencia entre día de almacenamiento, mediante la prueba de Tukey (p<0.05). TRAT, tratamientos, Almacen, almacenamiento, ST, Sin tratamiento, TT, Tratamiento térmico (85°C x 30 s), UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C+tratamiento térmico moderado, TTM, Tratamiento térmico moderado (55°C x 30 s) UV, irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm² (UV). AG, ácido gálico, ACI, ácido clorogénico, AC, ácido cafeico, EC, Epicatequina, EGGC, Epigallocatequina galato, VA, Vainillina y RT, Rutina.



La rutina (RT), por su parte, presentó mayor estabilidad a lo largo del almacenamiento comparado con el resto de los polifenoles, a excepción de los TTM, que provocaron una reducción de este componente al día 60. El tratamiento UV-C presentó mayores concentraciones al día 0 comparados con los TTM. Por otro lado, los tratamientos y el tiempo de almacenamiento tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en la concentración de epigallocatequina galato (EGCG), donde UVTTM resultó con una concentración elevada comparada con el tratamiento control al día 0, seguido de las muestras irradiadas con UV-C, donde presentan mayores concentraciones comparadas con los TT y TTM, cabe mencionar que el efecto por el almacenamiento es evidente por la reducción observada de aproximadamente del 73% que presentaron todos los tratamientos al día 60, donde el TT presentó una disminución total en la concentración de EGCG. Estudios realizados por Vergne et al. (2018), encontraron que las concentraciones de las catequinas en bebidas de té verde fueron relativamente estables en comparación con las muestras control después de ser sometidas a una dosis de UV-C de $17.34 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$, obteniendo concentraciones significativamente mayores que la concentración media del control, a dosis de $240 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ (dosis más alta). Lo cual teorizaron que este efecto es resultado de una inducción a reacciones de epimerización por causa de la radiación, en donde la (-) - epicatequina se transforma en (-) - catequina y (+) - catequina (Islam et al., 2016b; Wang y Helliwell, 2000). Wan y Helliwell (2000), estudiaron estas reacciones de isomerización inducida por calor, adicional a ello realizaron un experimento en donde trataron una solución acuosa de epicatequina donde la irradiaron a 120 y $240 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$. Encontraron que el control no tenía cantidades detectables de (+) - o (-) - catequina, sin embargo, en muestras tratadas con UV-C, encontraron concentraciones de 2.0 y $3.84 \text{ }\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Estos resultados se asocian con los obtenidos en este estudio, en donde las catequinas permanecieron estables en bebidas irradiadas con UV-C comparadas con el control al día 0 de almacenamiento.

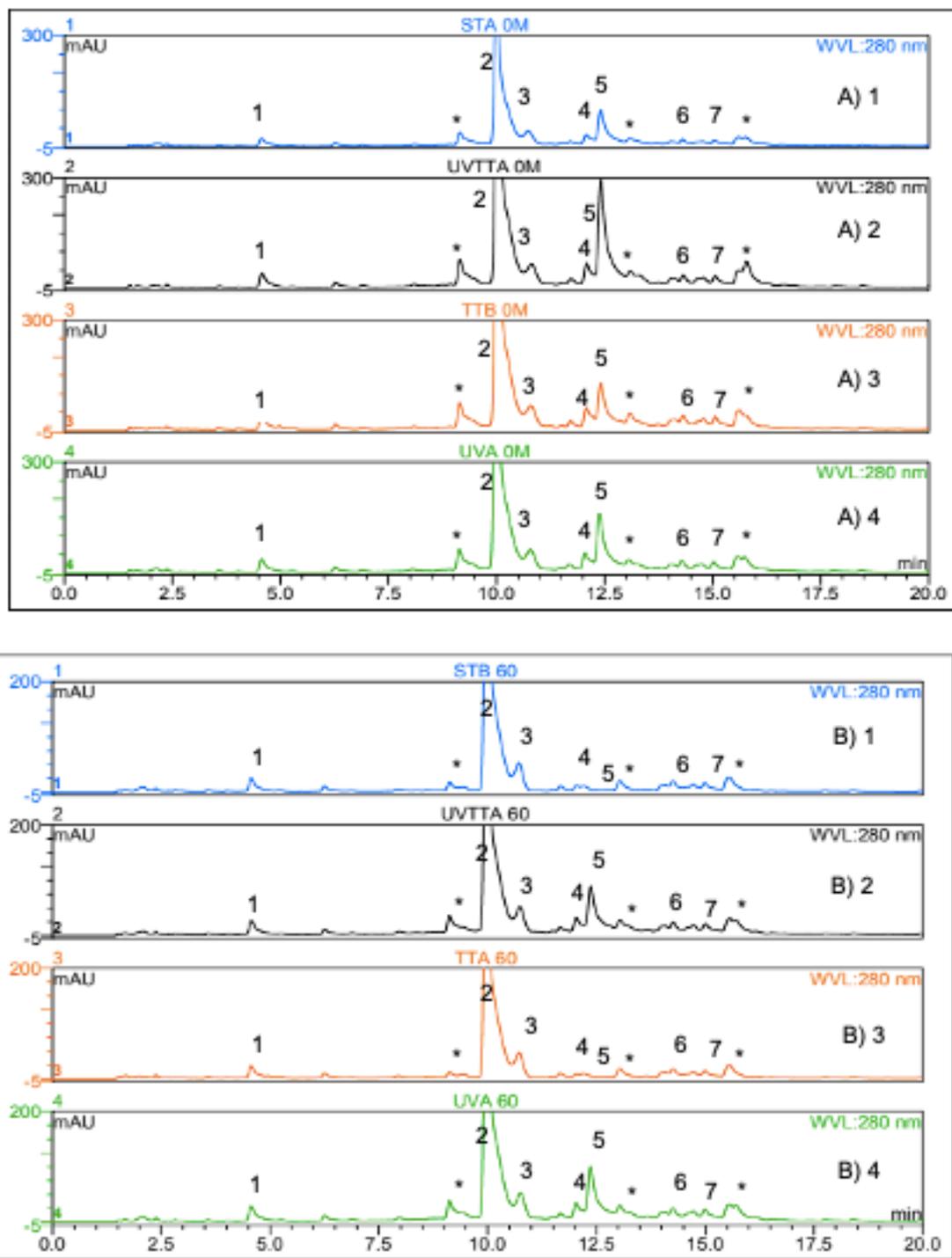


Figura 18. Cromatogramas del perfil polifenólico presente en bebidas de te matcha con jugo de naranjita, A) día 0 y B) día 60. ST (control) UVTT (trat. combinatorio), TT (trat. térmico), UV (Trat. de irradiación). Pico 1: ácido gálico, 2: ácido clorogénico, 3: ácido cafeico, 4: epicatequina, 5: epigallocatequina galato, 6: vainillina, 7: rutina, (*) picos no identificados



6.3.8 Estabilidad microbiológica durante el almacenamiento refrigerado a 4 °C

En este estudio el procesamiento en donde se utilizó la sinergia de tecnologías de radiación ultravioleta y tratamiento térmicos moderados se eligió la dosis más alta alcanzada para evaluar el efecto de una mayor dosis de UV sobre las características físicoquímicas y microbiológicas de la bebida. El análisis de varianza (Anexo 2; Tabla 52) arrojó que tanto el procesamiento de la bebida como el tiempo de almacenamiento, tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en la cantidad de log UFC/mL de mesófilos aerobios y psicrófilos aeróbios. Encontrándose que durante el almacenamiento el día 0 se observó crecimiento de mesófilos aerobios como se observa en la Tabla 21, por lo que los tratamientos no presentaron efecto significativo en su inactivación, con excepción del TT. Al transcurrir los días de almacenamiento solo las bebidas control presentaron crecimiento, siendo hasta el día 60 donde se mostró un crecimiento de este tipo de microorganismos en bebidas procesadas con UV-C. Como es notorio, los tratamientos ejercieron una buena eficiencia en la reducción de microorganismos tanto para hongos y levaduras y coliformes totales. Así mismo, microorganismos aerobios como mesófilos, presentaron recuentos muy bajos en las bebidas sometidas a los diferentes procesamientos; que de acuerdo a la NOM-093-SSA1-1994 mencionan que en aguas preparadas la cuenta total de mesofílicos aerobios, deben contemplar el límite de 150 000 UFC/mL, para coliformes totales 100 UFC/ mL y coliformes fecales la cuenta debe ser negativo. Considerando que la bebida presentó recuentos muy por debajo del conteo permisible, se considera una bebida segura para el consumo. Microorganismos psicrófilos aeróbios, los cuales se desarrollan en ambientes fríos, son un buen indicador del deterioro o seguridad de la bebida refrigerada, por tanto, es importante reconocer que durante los días 0 y 15 del almacenamiento refrigerado, no se encontró presencia de estos, si no hasta el día 30, se notó un crecimiento en bebidas irradiadas con UV-C y este crecimiento fue menor comparados con los obtenidos en tratamientos control. Resaltando que los tratamientos combinatorios ejercen una buena efectividad contra el crecimiento de microorganismos de deterioro durante periodos largos de almacenamiento (Tabla

21), donde no hubo crecimiento de estos microorganismos durante 30 días, con lo cual, se puede asumir que la sinergia de tecnologías tienen la misma efectividad que los tratamientos térmicos convencionales utilizados frente al desarrollo de estos microorganismos.

Tabla 21. Efecto del procesamiento individual y combinatorio de la radiación ultravioleta y tratamientos térmicos moderados sobre la carga nativa en bebidas almacenadas en refrigeración de té matcha con jugo de naranjita

Almacen	TRAT	Mesófilos	Psicrófilos	Hongos y Levaduras	Coliformes Totales
		Log UFC mL ⁻¹			
Día 0	ST	1.25 ± 0.33 ^a	ND ^b	ND	ND
	TT	ND ^b	ND ^b	ND	ND
	UVTTM	1.00 ± 0.00 ^a	ND ^b	ND	ND
	TTM	1.23 ± 0.33 ^a	ND ^b	ND	ND
	UV	1.15 ± 0.21 ^a	ND ^b	ND	ND
Día 15	ST	2.08±0.53 ^a	ND ^b	ND	ND
	TT	ND ^b	ND ^b	ND	ND
	UVTTM	ND ^b	ND ^b	ND	ND
	TTM	ND ^b	ND ^b	ND	ND
	UV	ND ^b	ND ^b	ND	ND
Día 30	ST	2.02 ± 0.92 ^a	1.86 ± 0.51 ^a	ND	ND
	TT	ND ^b	ND ^b	ND	ND
	UVTTM	ND ^b	ND ^b	ND	ND
	TTM	ND ^b	ND ^b	ND	ND
	UV	ND ^b	1.00 ± 0.00 ^a	ND	ND
Día 60	ST	1.34 ± 0.32 ^a	1.07 ± 0.15 ^a	ND	ND
	TT	ND ^b	1.07 ± 0.15 ^a	ND	ND
	UVTTM	ND ^b	1.00 ± 0.00 ^b	ND	ND
	TTM	ND ^b	1.00 ± 0.00 ^b	ND	ND
	UV	1.20 ± 0.17 ^a	1.00 ± 0.00 ^a	ND	ND

Los valores reportados son el promedio de dos réplicas ± desviación estándar. Medias con letras minúsculas distintas en la misma columna, denotan diferencia significativa entre tratamientos mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). ST, sin tratamiento, TT, tratamiento térmico 85 °C x 30 s; UVTTM, tratamiento combinatorio de irradiación UV-C+tratamiento térmico moderado; TTM, tratamiento térmico moderado 55 °C x 30 s; UV, irradiación UV-C a 14.39 mJ·cm⁻²



Por último, al día 60, se observó una mayor cantidad de estos microorganismos, pero a pesar de ser periodos largos de almacenamiento, en la bebida no se obtuvieron recuentos altos de estos microorganismos. Fenoglio et al. (2019), determinaron el efecto letal de los tratamientos combinatorios de UV y tratamientos térmicos moderados, donde compararon las curvas de supervivencia a la radiación UV a temperatura ambiente, al calor y a los tratamientos combinatorios, demostraron que existía un efecto sinérgico de ambas tecnologías actuando simultáneamente, cuya magnitud era termodependiente entre 50 y 60 °C. mencionan que es necesario optimizar la temperatura de tratamiento para aprovechar al máximo el proceso combinado. En este sentido, el UVTTM utilizado en este estudio cumplió con las reducciones y características deseadas en la bebida aún utilizando la dosis más alta $14.36 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$ y temperaturas moderadas de 55 °C por cortos tiempos. También se le podría atribuir al efecto antimicrobiano que presentan los componentes presentes en la naranjita utilizada en las bebidas en estudio. Asimismo, la ausencia de azúcares fermentables en la bebida hace que sea una bebida más estable y menos susceptible al daño microbiológico.

VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El tratamiento con UV-C es eficaz para eliminar la microbiota nativa de la mezcla matcha-naranjita a la dosis más baja tratada ($5.79 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$). Los tratamientos con UV-C no afectaron la cantidad de sólidos solubles ni el pH de las bebidas. La concentración de polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante presentes en la mezcla no se vio afectada por tratamientos de UV-C a dosis bajas (5.79 y $7.33 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$). Por el contrario, el porcentaje de sustitución de matcha por jugo de naranjita influyó significativamente en la concentración de estos componentes, atribuido al efecto de dilución y presencia de ácidos orgánicos que actúan como prooxidantes. Los tratamientos de pasteurización térmica afectaron en mayor medida las propiedades químicas (CPT, FT y AA) con respecto a los tratamientos UV-C. También las diferencias de color obtenidas por los tratamientos se vieron ligeramente afectadas en comparación con los TT. En el estudio de tecnologías



combinatorias se observó un efecto sinérgico de los tratamientos combinatorios al momento de inactivar microorganismos aerobios y microorganismos de deterioro como hongos y levaduras y patógenos como coliformes totales. La eficacia de la UV-C se asoció a los bajos coeficientes de absorción y turbidez de las mezclas. El CPT totales e individuales, FT y AA fueron afectadas más por la presencia de ácidos orgánicos que confieren la acidez al medio (jugo de naranjita), comparado con los tratamientos aplicados. Asimismo, la concentración de estos compuestos bioactivos, está sujeta a cambios significativos relacionados con el tipo y la duración del almacenamiento que repercute en la estabilidad de las formas químicas de los compuestos bioactivos que a su vez se ven reflejadas en el color del té matcha, considerándose una propiedad cualitativa importante en la bebida. Por tal motivo, se concluye que para mezclas con 8% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita procesadas con tratamientos combinatorios de UV-C ($14.29 \text{ mJ}\cdot\text{cm}^{-2}$) y tratamientos térmicos moderados ($55 \text{ }^\circ\text{C} \times 30 \text{ s}$), resulta idóneo para obtener una bebida segura con una vida útil de hasta 30 días en condiciones de refrigeración, tomando como referencia que la bebida a pesar de ser segura microbiológicamente a los 30 días de almacenamiento, es importante considerar aspectos relacionados con la calidad organoléptica de la bebida aunado a que el tipo de envase también juega un rol importante en la conservación de los componentes bioactivos de interés. Por tal motivo, es importante establecer que, 15 días de almacenamiento resultan suficientes para conservar una bebida inocua y estable fisicoquímicamente. Estos hallazgos sostienen que el uso de esta sinergia de tecnologías resultan en una alternativa favorable para la estabilización de bebidas de té matcha con jugo de naranjita. Se sugiere realizar más estudios para establecer concentraciones más pequeñas de jugo de naranjita en estudios posteriores donde se conserve las características que la naranjita imparte a la bebida, sin comprometer la concentración de los compuestos bioactivos. Finalmente, los resultados mostrados allanan el camino para seguir estudiando el efecto de la luz UV-C asistida por un tratamiento térmico moderado en la flora nativa de diferentes tipos de tés con la incorporación de jugos de frutas. También abre camino a realizar estudios de viabilidad celular y daño estructural así como también, estudios de resonancia



magnética nuclear para proporcionar un avance significativo en la comprensión de las respuestas microbianas y compuestos bioactivos a una variedad de tensiones ambientales, como es el uso de tecnologías combinatorias.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Adams, M. R. y Moss, M. O. 1995. *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. 577 p.

Agarwal, A. K., y Das, L. M. (2001). Biodiesel development and characterization for use as a fuel in compression ignition engines. *Journal of Engineering for Gas Turbines and Power* 123(2), 440-447.

Ali, N. A. A., Chhetri, B. K., Dosoky, N. S., Shari, K., Al-Fahad, A. J., Wessjohann, L., y Setzer, W. N. (2017). Antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities of *Ocimum forskolei* and *Teucrium yemense* (Lamiaceae) essential oils. *Medicines*, 4(2), 17.

Alothman, M., Bhat, R., y Karim, A. A. (2009). Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. *Trends in Food Science & Technology*, 20, 201–212.

Ananingsih, V. K., Sharma, A., y Zhou, W. (2013). Green tea catechins during food processing and storage: a review on stability and detection. *Food Research International*, 50(2), 469-479.

Antonio-Gutiérrez, O. T., López-Díaz, A. S., López-Malo, A., Palou, E., y Ramírez-Corona, N. (2019). UV-C Light for processing beverages: principles, applications, and future trends. In *Processing and Sustainability of Beverages*. pp. 205-234

Antonio-Gutiérrez, O., López-Malo, A., Ramírez-Corona, N., y Palou, E. (2017). Enhancement of UVC-light treatment of tangerine and grapefruit juices through ultrasonic atomization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 7-12.

Anzaldúa Morales, A. (1994). *La Evaluación Sensorial de los Alimentos en teoría y la práctica*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.



Arapitsas, P. (2012). Hydrolyzable tannin analysis in food. *Food chemistry*, 135(3), 1708.

Astley S.B. 2003: Antioxidants. Role of antioxidant nutrients in defense systems. In: Caballero B Eds; *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Academic Press, Oxford, pp. 282-289

Awika, J.M., L.W. Rooney y R.D. Waniska, 2004. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 90 (1-2), 293-301

Azam, S., Hadi, N., Khan, N. U., y Hadi, S. M. (2004). Prooxidant property of green tea polyphenols epicatechin and epigallocatechin-3-gallate: implications for anticancer properties. *Toxicology in vitro*, 18(5), 555-561.

Barragán-Valbuena, P.A. (2011). Potencial saludable de sustancias bioactivas de algunas verduras. Consultado en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis560.pdf>. El 31 de octubre de 2018.

Batchu, S., Chaudhary, K., Wiebe, G., Seubert, J. (2013). Bioactive Compounds in Heart Disease, Chapter 28. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Cardiovascular Disease*. 431.

Berk, Z. (2016). Citrus fruit processing. Academic press Elsevier. Londres, Reino unido. ISBN: 978-0-12-803133-9

Bhat, R. (2016). Impact of ultraviolet radiation treatments on the quality of freshly prepared tomato (*Solanum lycopersicum*) juice. *Food chemistry*, 213, 635-640

Bhat, R., Ameran, S. B., Voon, H. C., Karim, A. A., y Tze, L. M. (2011). Quality attributes of starfruit (*Averrhoa carambola* L.) juice treated with ultraviolet radiation. *Food Chemistry*, 127(2), 641-644.

Bolton, J. R., y Cotton, C. A. (2011). *The ultraviolet disinfection handbook*; American Water Works Association Eds. ISBN 978-1-58321-584-5



Buettner, G. R.; Jurkiewicz, B. A. (1996). Chemistry and biochemistry of ascorbic acid. Handbook of Antioxidants; Packer, E. C., Jurkiewicz, B. A., Eds.; Dekker: New York; pp 91-115.

Cabrera, C., Giménez, R., y López, M. C. (2003). Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(15), 4427-4435.

Caminiti, I. M., Palgan, I., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D. J., ... y Lyng, J. G. (2012). The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 680-686.

Cárdenas-Baquero, G. D., Arrazola-Paternina, G., Villalba-Cadavid, M., (2015). Frutas tropicales: fuentes de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos. *Ingenium*, vol. 17, 33, pp 29-40

Cava, E. L. M. L., y Sgroppo, S. C. (2015). Evolution during refrigerated storage of bioactive compounds and quality characteristics of grapefruit [*Citrus paradisi* (Macf.)] juice treated with UV-C light. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie- Food Science and Technology*, 63(2), 1325–1333.

Cebulak, T., Oszmiański, J., Kapusta, I., y Lachowicz, S. (2017). Effect of UV-C radiation, ultra-sonication electromagnetic field and microwaves on changes in polyphenolic compounds in chokeberry (*Aronia melanocarpa*). *Molecules*, 22(7), 1161.

Cencic, A. y Chingwaru, W. (2010). The Role of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. *Nutrients*, 2(6), 611-625.

Centro tecnológico Ainia, 2018. Tendencias en alimentos y bebidas para 2018. Consultado en: <https://www.ainia.es/tecnoalimentalia/consumidor/tendencias-alimentos-bebidas-2018/>. El 30 de octubre del 2018.



Char, C. D., Mitilinaki, E., Guerrero, S. N., y Alzamora, S. M. (2010). Use of high-intensity ultrasound and UV-C light to inactivate some microorganisms in fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 3(6), 797-803.

Chen, H. E., Peng, H. Y., y Chen, B. H. (1996). Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice. *Food chemistry*, 57(4), 497-503.

Chen, Z. Y., Zhu, Q. Y., Tsang, D., y Huang, Y. (2001). Degradation of green tea catechins in tea drinks. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(1), 477-482.

Cheng, Y., Rouseff, R., Li, G., y Wu, H. (2020). Methanethiol, an off-flavor produced from the thermal treatment of mandarin juices: A study of citrus sulfur volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(4), 1030-1037.

Cheong, M. W., Zhu, D., Sng, J., Liu, S. Q., Zhou, W., Curran, P., y Yu, B. (2012). Characterisation of calamansi (*Citrus microcarpa*). Part II: Volatiles, physicochemical properties and non-volatiles in the juice. *Food chemistry*, 134(2), 696-703

Cheong, W. J., Park, M. H., Kang, G. W., Ko, J. H., y Seo, Y. J. (2005). Determination of catechin compounds in Korean green tea infusions under various extraction conditions by high performance liquid chromatography. *Bulletin of Korean Chemical Society*, 26, 747-754.

Cheyrier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 223S-229S

Corbo, M. R., Bevilacqua, A., Petruzzi, L., Casanova, F. P., y Sinigaglia, M. (2014). Functional beverages: the emerging side of functional foods: commercial trends, research, and health implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(6), 1192-1206.

Cortés, C., Esteve, M. J., y Frígola, A. (2008). Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food control*, 19(2), 151-158.



- Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Micieli, D., y Trombetta, D. (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: implications for their antibacterial activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(15), 6300-6308.
- Deng, J., Yang, H., Capanoglu, E., Cao, H., y Xiao, J. (2018). Technological aspects and stability of polyphenols. In *Polyphenols: Properties, recovery, and applications* (pp. 295-323).
- Ding, P. (2005). Use of nondestructive spectroscopy to assess chlorophyll and nitrogen in fresh leaves. (Doctoral dissertation, Oregon State University).
- Dosoky, N. S., y Setzer, W. N. (2018). Biological activities and safety of Citrus spp. essential oils. *International journal of molecular sciences*, 19(7), 1966.
- Dubey, K. K., Janve, M., Ray, A., y Singhal, R. S. (2020). Ready-to-Drink Tea. In *Trends in Non-alcoholic Beverages* (pp. 101-140).
- Es-Safi, N. E., Le Guernevé, C., Fulcrand, H., Cheynier, V., y Moutounet, M. (1999). New polyphenolic compounds with xanthylium skeletons formed through reaction between (+)-catechin and glyoxylic acid. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(12), 5211-5217.
- Fenoglio, D., Ferrario, M., Schenk, M., y Guerrero, S. (2019). UV-C light inactivation of single and composite microbial populations in tangerine-orange juice blend. Evaluation of some physicochemical parameters. *Food and Bioprocesses Processing*, 117, 149-159.
- Ferrario, M., Schenk, M., Carrillo, M. G., y Guerrero, S. (2018). Development and quality assessment of a turbid carrot-orange juice blend processed by UV-C light assisted by mild heat and addition of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) extract. *Food chemistry*, 269, 567-576.
- Flores-Cervantes, D. X., Palou, E., y López-Malo, A. (2013). Efficacy of individual and combined UVC light and food antimicrobial treatments to inactivate *Aspergillus*



flavus or *A. niger* spores in peach nectar. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 20, 244-252.

Forney, L., Pierson, J. A., y Ye, Z. (2004). Juice irradiation with Taylor–Coutte Flow: UV inactivation of *Escherichia coli*. *Journal of Food Protection*, 67(11), 2410–2415.

Fredericks, I. N., du Toit, M., y Krügel, M. (2011). Efficacy of ultraviolet radiation as an alternative technology to inactivate microorganisms in grape juices and wines. *Food Microbiology*, 28(3), 510–517.

Friedberg, E. C., Walker, G. C., Siede, W., Wood, R. D., Schultz, R. A., y Ellenberger, T. (Eds.). (2006). DNA repair and mutagenesis. Washington: ASN.

Friedman, M., Kim, S. Y., Lee, S. J., Han, G. P., Han, J. S., Lee, K. R., y Kozukue, N. (2005). Distribution of catechins, theaflavins, caffeine, and theobromine in 77 teas consumed in the United States. *Journal of food science*, 70(9), C550-C559.

Fundo, J. F., Miller, F. A., Mandro, G. F., Tremarin, A., Brandão, T. R., y Silva, C. L. (2019). UV-C light processing of Cantaloupe melon juice: Evaluation of the impact on microbiological, and some quality characteristics, during refrigerated storage. *LWT- Food Science and Technology* 103, 247-252.

Gabriel, A. (2012). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and spoil- age yeasts in germicidal UV-C-irradiated and heat-treated clear apple juice. *Food Control*, 25(2), 425–432.

Gachovska, T. K., Kumar, S., Thippareddi, H., Subbiah, J., y Williams, F. (2008). Ultraviolet and pulsed electric field treatments have additive effect on inactivation of *E. coli* in apple juice. *Journal of Food Science*, 73(9), M412-M417.

Gayán, E., Condón, S., y Álvarez, I. (2014). Continuous-flow UV liquid food pasteurization: engineering aspects. *Food and bioprocess technology*, 7(10), 2813-2827.



Gayán, E., Serrano, M. J., Monfort, S., Álvarez, I., y Condón, S. (2012). Combining ultraviolet light and mild temperatures for the inactivation of *Escherichia coli* in orange juice. *Journal of Food Engineering*, 113(4), 598-605.

Goh, S. G., Noranizan, M., Leong, C. M., Sew, C. C., y Sobhi, B. (2012). Effect of thermal and ultraviolet treatments on the stability of antioxidant compounds in single strength pineapple juice throughout refrigerated storage. *International Food Research Journal*, 19(3), 1131.

Gómez-López, V.M., Koutchma, T., Linden, K., 2012. Ultraviolet and pulsed light processing of fluid foods. In: Cullen, P.J., Tiwai, B., Valdramidis, V. (Eds.), *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*. Academic Press, San Diego, pp. 185–223.

González-Aguilar, G. A., Zavaleta-Gatica, R., y Tiznado-Hernández, M. E. (2007). Improving postharvest quality of mango ‘Haden’ by UV-C treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 45(1), 108-116.

González-Rodríguez, L., Perea-Sánchez, J.M., Ortega- Anta, R. M., (2015). Los alimentos funcionales en el contexto de la dieta mediterránea. *Mediterráneo económico*, (27), 139-160

Islam, M. S., Patras, A., Pokharel, B., Wu, Y., Vergne, M. J., Shade, L., ... y Sasges, M. (2016). UV-C irradiation as an alternative disinfection technique: Study of its effect on polyphenols and antioxidant activity of apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 34, 344-351.

Jáuregui, A. M. M., y Escudero, F. R. (2007). Componentes fenólicos de la dieta y sus propiedades biomedicinales. *Horizonte Médico (Lima)*, 7(1), 23-31.

Jeszka-Skowron, M., Krawczyk, M., y Zgoła-Grześkowiak, A. (2015). Determination of antioxidant activity, rutin, quercetin, phenolic acids and trace elements in tea infusions: Influence of citric acid addition on extraction of metals. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 70-77.



Jiménez-Cucaita, L.E., (2017). Escalamiento de la producción de bebidas funcionales a partir de productos vegetales no tradicionales. Ed. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D. C., Colombia.

Khoo, H. E., Prasad, K. N., Kong, K. W., Jiang, Y., y Ismail, A. (2011). Carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables. *Molecules*, 16(2), 1710-1738.

Kim, E. S., Liang, Y. R., Jin, J., Sun, Q. F., Lu, J. L., Du, Y. Y., y Lin, C. (2007). Impact of heating on chemical compositions of green tea liquor. *Food Chemistry*, 103(4), 1263-1267

Kinugasa, H., y Takeo, T. (1990). Deterioration mechanism for tea infusion aroma by retort pasteurization. *Agricultural and biological chemistry*, 54(10), 2537-2542.

Kolářková, T., Kolofíková, K., Sytařová, I., Snopek, L., Sumczynski, D., y Orsavová, J. (2020). Matcha tea: Analysis of nutritional composition, phenolics and antioxidant activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(1), 48-53.

Kolářková, T., Kolofíková, K., Sytařová, I., Snopek, L., Sumczynski, D., y Orsavová, J. (2020). Matcha Tea: Analysis of Nutritional Composition, Phenolics and Antioxidant Activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75(1), 48-53.

Komatsu, Y., Suematsu, S., Hisanobu, Y., Saigo, H., Matsuda, R., y Hara, K. (1993). Effects of pH and temperature on reaction kinetics of catechins in green tea infusion. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 57(6), 907-910.

Komes, D., Horžić, D., Belščak, A., Ganić, K. K., y Vulić, I. (2010). Green tea preparation and its influence on the content of bioactive compounds. *Food research international*, 43(1), 167-176.

Kosińska, A., y Andlauer, W. (2014). Antioxidant capacity of tea: effect of processing and storage. In *Processing and impact on antioxidants in beverages* (pp. 109-120). Academic Press.



Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2(2), 138-155.

Koutchma, T., Keller, S., Parisi, B., y Chirtel, S. (2004). Ultraviolet disinfection of juice products in laminar and turbulent flow reactors. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 179–189.

Koutchma, T., Parisi, B., y Patazca, E. (2007). Validation of a UV coiled tube reactor for fresh fruit juices. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 6, 319–328.

Krishna-Teja, C., Shivashankar-Sanganamoni, Prabhakar, B., Pavuluri-Srinvasa. (2017). Effect of UV-C Light Treatment on physicochemical and Bioactive Compounds in Apple and Pineapple Juices. *International Journal of current microbiology and applied sciences*. Vol 6 N° 6

Lee, H. S., y Coates, G. A. (2003). Effect of thermal pasteurization on Valencia orange juice color and pigments. *LWT-Food Science and Technology*, 36(1), 153-156.

Li, N., Taylor, L. S., y Mauer, L. J. (2011). Degradation kinetics of catechins in green tea powder: effects of temperature and relative humidity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(11), 6082-6090

Li, X., Zhou, R., Xu, K., Xu, J., Jin, J., Fang, H., y He, Y. (2018). Rapid determination of chlorophyll and pheophytin in green tea using fourier transform infrared spectroscopy. *Molecules*, 23(5), 1010 .

López-Díaz, A., Palou, E., y López-Malo, A. (2012). Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2), 79-93

Lopez-Garcia, R. (2000). Citric acid. Kirk-Othmer. *Encyclopedia of Chemical Technology*, 1-25



Lu, Q., Peng, Y., Zhu, C., y Pan, S. (2018). Effect of thermal treatment on carotenoids, flavonoids and ascorbic acid in juice of orange cv. Cara Cara. *Food Chemistry*, 265, 39-48.

Mayer, A. M. (1986). Polyphenol oxidases in plants-recent progress. *Phytochemistry*, 26(1), 11-20.

Mendonca, A.F. (2002). Inactivation by irradiation. In: Juneja, V.K., Sofos, J.N. (Eds.), Control of Foodborne Microorganisms. Marcel Dekker, New York, pp. 75–103

Minitab. 2010. Statistical Software 16. State College: Minitab. PA, USA.

Mitchell, D. L., Jen, J., y Cleaver, J. E. (1991). Relative induction of cyclobutane dimers and cytosine photohydrates in DNA irradiated in vitro and in vivo with ultraviolet-C and ultraviolet-B light. *Photochemistry and photobiology*, 54(5), 741-746.

Navarro González, I., Periago, M. J., y García Alonso, F. J. (2017). Estimación de la ingesta diaria de compuestos fenólicos en la población española. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 21(4), 320-326.

Nekvapil, T., Kopriva, V., Boudny, V., Hostovsky, M., Dvorak, P., y Malota, L. (2012). Decrease in the antioxidant capacity in beverages containing tea extracts during storage. *The Scientific World Journal*,

Nisperos-Carriedo, M. O., Baldwin, E. A., Moshonas, M. G. and Shaw, P. E. (1992). Determination of volatile flavor components, sugars, and ascorbic, dehydroascorbic, and other organic acids in calamondin (*Citrus mitis* Blanco). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40:2464-2466.

Ochoa-Velasco, C. E., y Beltrán, J.Á. G. (2013). Short-wave ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice inoculated with *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of Food Engineering*, 117, 34–41.



Ochoa-Velasco, C. E., y Guerrero Beltrán, J. Á. (2013). Short-wave ultraviolet-C light effect on pitaya (*Stenocereus griseus*) juice inoculated with *Zygosaccharomyces bailii*. *Journal of Food Engineering*, 117(1), 34–41

Ölmez, H., y Yilmaz, A. (2010). Changes in chemical constituents and polyphenol oxidase activity of tea leaves with shoot maturity and cold storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 34, 653-665.

Ortiz, J., Ferruzzi, M. G., Taylor, L. S., y Mauer, L. J. (2008). Interaction of environmental moisture with powdered green tea formulations: Effect on catechin chemical stability. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(11), 4068-4077.

Ošťádalová, M., Tremlová, B., Pokorná, J., y Král, M. (2015). Chlorophyll as an indicator of green tea quality. *Acta Veterinaria Brno*, 83(10), 103-109.

Oteiza, J. M., Giannuzzi, L., y Zaritzky, N. (2010). Ultraviolet treatment of orange juice to inactivate *E. coli* O157:H7 as affected by native microflora. *Food and Bioprocess Technology*, 3(4), 603–614.

Patil, B., Jayaprakasha, G., Chidambara, K., Vikram, A. (2009). Bioactive compounds: historical perspectives, opportunities, and challenges. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57 (18): 8142 – 8160.

Qin, J. H., Li, N., Tu, P. F., Ma, Z. Z., y Zhang, L. (2012). Change in tea polyphenol and purine alkaloid composition during solid-state fungal fermentation of postfermented tea. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(5), 1213-1217.

Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., y Pouysegou, L. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.

Rajauria, G., Tiwari, B., (2018). Fruit juices: Extraction, composition, quality and analysis. Ed. Elsevier. ISBN: 978-0-12-802230-6



Ramesh, T., Nayak, B., Amirbahman, A., Tripp, C. P., y Mukhopadhyay, S. (2016). Application of ultraviolet light assisted titanium dioxide photocatalysis for food safety: A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 105-11

Rastogi, R. P., Richa, K. A., Tyagi, M. B., y Sinha, R. P. (2010). Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. *Journal of Nucleic Acids*, 2010, 592980.

Raybaudi-Massilia, R., Calderón-Gabaldón, M. I., Mosqueda-Melgar, J., y Tapia, M. S. (2013). Inactivation of *Salmonella enterica* ser. Poona and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut “Maradol” red papaya (*Carica papaya* L) treated with UV-C light and malic acid. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 8(1-2), 37-44.

Revista, bebidas mexicanas, (2017). producción de jugo de fruta usando pasteurización ultravioleta. Ed. Alfa-editores técnicos. ISSN 0188-8080.

Rizwan, K., Zubair, M., Rasool, N., Riaz, M., Zia-UI-Haq, M., y De Feo, V. (2012). Phytochemical and biological studies of *Agave attenuata*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(5), 6440–6451.

Rodriguez-Amaya, D.B., and Kimura, M. (2004). HarvestPlus handbook for carotenoid analysis.

Rodríguez-Rodríguez, M. Z., Quintero-Ramos, A., Meléndez-Pizarro, C. O., Meza-Velázquez, J. A., Jiménez-Castro, J. A., Sánchez-Madriral, M. Á., ... y Espinoza-Hicks, J. C. (2020). Microbial and physicochemical properties of UV-C processed aloe vera gel blends at different pHs using a continuous flow UV system. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(1), 175-188.

Roessler, E. B., Warren, J., y Guymon, J. F. (1948). Significance in triangular taste tests. *Food Research*, 13, 503-505

Ruiz-Armenta, X. A., Zazueta-Morales, J. D. J., Aguilar-Palazuelos, E., Delgado-Nieblas, C. I., López-Díaz, A., Camacho-Hernández, I. L., ... y Martínez-Bustos, F.



(2018). Effect of extrusion on the carotenoid content, physical and sensory properties of snacks added with bagasse of naranjita fruit: optimization process. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 172-180.

Sampedro, F., Geveke, D. J., Fan, X., y Zhang, H. Q. (2009). Effect of PEF, HHP and thermal treatment on PME inactivation and volatile compounds concentration of an orange juice–milkbased beverage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(4), 463–469.

Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martínez, P., de Ancos, B., Martín-Belloso, O., y Cano, M. P. (2005). Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4403–4409.

Sang, S., Lambert, J. D., Ho, C. T., y Yang, C. S. (2011). The chemistry and biotransformation of tea constituents. *Pharmacological research*, 64(2), 87-99.

Sang, S., Lee, M. J., Hou, Z., Ho, C. T., y Yang, C. S. (2005). Stability of tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate and formation of dimers and epimers under common experimental conditions. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(24), 9478-9484.

Santhirasegaram, V., Razali, Z., y Somasundram, C. (2015). Effects of sonication and ultraviolet-C treatment as a hurdle concept on quality attributes of Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) juice. *Food Science and Technology International*, 21(3), 232-241.

Sastry, S. K., Datta, A. K., y Worobo, R. W. (2000). Ultraviolet light. *Journal of Food Science*, 65, 90–92.

Sew, C. C., Ghazali, H. M., Martín-Belloso, O., y Noranizan, M. A. (2014). Effects of combining ultraviolet and mild heat treatments on enzymatic activities and total phenolic contents in pineapple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 511-516.



Shama, G. (1999). Ultraviolet light. In: Robinson, R.K., Batt, C., Patel, P. (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*. Academic Press, Londres, pp. 2208–2214.

Shamsudin, R., Adzahan, N. M., Yee, Y. P. y Mansor, A. (2014). Effect of repetitive ultraviolet irradiation on the physico-chemical properties and microbial stability of pineapple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 23, 114-120.

Shen, Y., Sun, Y., Qiao, L., Chen, J., Liu, D., y Ye, X. (2013). Effect of UV-C treatments on phenolic compounds and antioxidant capacity of minimally processed Satsuma mandarin during refrigerated storage. *Postharvest biology and technology*, 76, 50-57.

Shi, J., Maguer, M.L., Bryan, M., and Kakuda, Y. (2003). Kinetics of lycopene degradation in tomato puree by heat and light irradiation. *Journal of Food Engineering* 25: 485–498. Washington D.C: HarvestPlus.

Shin, J. K., Kim, G. N., y Jang, H. D. (2007). Antioxidant and pro-oxidant effects of green tea extracts in oxygen radical absorbance capacity assay. *Journal of medicinal food*, 10(1), 32-40.

Sikkema, J., de Bont, J. A., y Poolman, B. (1995). Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological reviews*, 59(2), 201-222.

Singleton, L., Orthofer, R., y Lamuela, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152–178.

Stintzing, F. C., Stintzing, A. S., Carle, R., Frei, B., y Wrolstad, R. E. (2002). Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6172-6181

Su, Y. L., Leung, L. K., Huang, Y., y Chen, Z. Y. (2003). Stability of tea theaflavins and catechins. *Food Chemistry*, 83(2), 189-195.



Sun, B., Wang, W., He, Z., Zhang, M., Kong, F., Sain, M., y Ni, Y. (2018). Improvement of stability of tea polyphenols: a review. *Current pharmaceutical design*, 24(29), 3410-3423.

Tandon, K., Worobo, R. W., Churey, J. J., y Padilla-Zakour, O. I. (2003). Storage quality of pasteurized and UV treated apple cider. *Journal of Food Processing and Preservation*, 27(1), 21-35.

Torija-Isasa, E. (2016). Alimentos funcionales y obesidad. Interés y realidad. Ed. Anales de la real academia nacional de farmacia.

Troy, D. J., Ojha, K. S., Kerry, J. P., y Tiwari, B. K. (2016). Sustainable and consumer-friendly emerging technologies for application within the meat industry: An overview. *Meat science*, 120, 2-9.

Tu, Y. Y., Xia, H. L., y Watanabe, N. (2005). Changes in catechins during the fermentation of green tea. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(6), 574-577.

U. S. Food and Drug Administration. (2000). 21 CFR Part 179, "Irradiation in the Production, Processing and Handling of Food", Fed. Regist., 65:71056-71058.

Ultee, A., Bennik, M. H. J., y Moezelaar, R. J. A. E. M. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1561-1568.

Unluturk, S. K., Arastoopour, H., y Koutchma, T. (2004). Modeling of UV dose distribution in a thin-film UV reactor for processing of apple cider. *Journal of Food Engineering*, 65(1), 125-136.

USFDA. (2000). 21 CFR Part 179. Irradiation in the production, processing, and handling of food. Federal Register. 71056–71058.

Uysal Pala, C. y Kirca Toklucu, A. (2011). Effect of UV-C light on anthocyanin content and other quality parameters of pomegranate juice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 790-795.



Uysal Pala, C., y Kirca Toklucu, A. (2011). Changes in microbial quality and total monomeric anthocyanins of ultraviolet (UV-C) and heat-treated pomegranate juice during storage. IFT Annual Meeting & Food Expo, June 11-14, New Orleans, Louisiana, USA, P 158-16.

Veldhuizen, E. J., Tjeerdsma-van Bokhoven, J. L., Zweijtzer, C., Burt, S. A., y Haagsman, H. P. (2006). Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1874-1879.

Vergne, M. J., Patras, A., Bhullar, M. S., Shade, L. M., Sasges, M., Rakariyatham, K., ... y Xiao, H. (2018). UV-C Irradiation on the Quality of Green Tea: Effect on Catechins, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity. *Journal of food science*, 83(5), 1258-1264.

Vergne, M. J., Patras, A., Bhullar, M. S., Shade, L. M., Sasges, M., Rakariyatham, K., ... y Xiao, H. (2018). UV-C Irradiation on the Quality of Green Tea: Effect on Catechins, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity. *Journal of food science*, 83(5), 1258-1264.

Villareal, Y., Mejía, D.F., Osorio, O., Cerón, A.F., (2013). Efecto de la pasteurización sobre características sensoriales y contenido de vitamina C en jugos de frutas. Consultado en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v11n2/v11n2a08.pdf>. El 28 de octubre del 2018.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., y Pérez-Álvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. *Food control*, 19(12), 1130-1138.

Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D. A., Riener, J., Lyng, J. G., y Morgan, D. J. (2008). Reduction of *Staphylococcus aureus* and quality changes in apple juice processed by ultraviolet irradiation, pre-heating and pulsed electric fields. *Journal of Food Engineering*, 89(3), 267-273.



Wang, H., y Helliwell, K. (2000). Epimerisation of catechins in green tea infusions. *Food Chemistry*, 70(3), 337-344.

Wang, R., Zhou, W., y Jiang, X. (2008). Mathematical modeling of the stability of green tea catechin epigallocatechin gallate (EGCG) during bread baking. *Journal of Food Engineering*, 87, 505–513.

Woo, K. K., Ngou, F. H., Ngo, L. S., Soong, W. K., y Tang, P. Y. (2011). Stability of betalain pigment from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *American Journal of Food Technology*, 6(2), 140-148.

Xiang, Q., Fan, L., Zhang, R., Ma, Y., Liu, S., y Bai, Y. (2020). Effect of UVC light-emitting diodes on apple juice: Inactivation of *Zygosaccharomyces rouxii* and determination of quality. *Food Control*, 111, 107082.

Ye, Y., Yan, J., Cui, J., Mao, S., Li, M., Liao, X., y Tong, H. (2018). Dynamic changes in amino acids, catechins, caffeine and gallic acid in green tea during withering. *Journal of Food Composition and Analysis*, 66, 98-108.

Yu, L., Yan, J., y Sun, Z. (2017). D-limonene exhibits anti-inflammatory and antioxidant properties in an ulcerative colitis rat model via regulation of iNOS, COX-2, PGE2 and ERK signaling pathways. *Molecular medicine reports*, 15(4), 2339-234.

Zeng, L., Ma, M., Li, C., y Luo, L. (2017). Stability of tea polyphenols solution with different pH at different temperatures. *International journal of food properties*, 20(1), 1-18

Zhang, Q. J., Li, W., Li, K., Nan, H., Shi, C., Zhang, Y., ... y Zhang, D. (2020). SMRT sequencing yields the chromosome-scale reference genome of tea tree, *Camellia sinensis* var. *sinensis*. *bioRxiv*.

Zhu, Q. Y., Zhang, A., Tsang, D., Huang, Y., y Chen, Z. Y. (1997). Stability of green tea catechins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(12), 4624-4628.

Zimmermann, B. F., y Gleichenhagen, M. (2011). The effect of ascorbic acid, citric acid and low pH on the extraction of green tea: how to get most out of it. *Food chemistry*, 124(4), 1543-1548.

Zuo, Y., Chen, H., y Deng, Y. (2002). Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*, 57(2), 307-316.

IX. APÉNDICES

Anexo 1. Análisis de varianza (Primera fase experimental)

Tabla 22. Análisis de varianza de las propiedades ópticas de las mezclas matcha-naranja.

FUENTE	DF	pH	°Brix	Propiedades ópticas		
				<i>Coefficiente de absorción</i>	<i>turbidez</i>	<i>Profundidad de penetración</i>
Mezcla	2	0.08403*	2.4325*	14.3840*	20403.9*	0.0086*
Total	3	0.0025	0.00625	0.0460	0.5	0.00
Error	5	0.08653	2.43875	14.4300	20404.4	0.0086

Tabla 23. Análisis de varianza de la carga microbiana (mesófilos aerobios) en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Sustitución	2	0.07851	0.03926	0.80	0.459
Dosis	5	6.53391	1.30678	26.79	0.000
Sust*Dosis	10	0.61688	0.06169	1.26	0.303
Error	24	1.17072	0.04878		

Tabla 24. Análisis de varianza de la carga microbiana (psicrófilos aerobios) en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
--------	----	----	----	---	---

Sustitución	2	0.9544	0.47720	89.12	0.000
Dosis	5	12.0495	2.40989	450.07	0.000
Sust*Dosis	10	7.4989	0.74989	140.05	0.000
Error	24	0.1285	0.00535		

Tabla 25. Análisis de varianza de la carga microbiana (hongos y levaduras) en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Sustitución	2	0.3664	0.18321	3.15	0.061
Dosis	5	13.6937	2.73874	47.16	0.000
Sust*Dosis	10	2.8790	0.28790	4.96	0.001
Error	24	1.3937	0.05807		

Tabla 26. Análisis de varianza de las propiedades fisicoquímicas de las mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	DF	pH	°Brix	Color			AA	TPC	FC
				L*	a*	b*			
Tratamiento	5	0.0022*	0.0517	0.743	0.1210*	2.038	68208*	786.9*	826.535*
Sustitución	2	0.2692*	3.6192*	23.020*	1.6269*	104.564*	1917221*	16945.7*	17.47*
Trat * Sust	10	0.0003	0.0915*	1.679	0.0578	7.738	16130*	186.8*	2.53*
Error	18	0.0003	0.0238	1.797	0.0367	5.953	475	3.6	0.309

Tabla 27. Análisis de varianza sobre la concentración de polifenoles totales en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	3908.9	781.8	250.52	0.000



Mezcla	2	33960.0	1680.0	5441.23	0.000
Tratamiento* Mezcla	10	1862.6	186.3	59.69	0.000
Error	18	56.2	3.1		

Tabla 28. Análisis de varianza sobre la concentración de flavonoides totales en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	87.35	17.471	56.59	0.000
Mezcla	2	1653.07	826.535	2677.23	0.000
Trat* Mezcla	10	25.39	2.539	8.22	0.000
Error	18	5.56	0.309		
TOTAL	35	1771.37			

Tabla 29. Análisis de varianza sobre la actividad antioxidante en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	341030	68208	143.70	0.000
Mezcla	2	3834442	1917221	4039.14	0.000
Trat* Mezcla	10	161296	16130	33.98	0.000
Error	18	8544	475		
TOTAL	35	4345321			

Tabla 30. Análisis de varianza sobre el parámetro L* en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	3.719	0.7438	0.41	0.833
Mezcla	2	46.042	23.0208	12.81	0.000
Trat*mezcla	10	16.705	1.6705	0.92	0.530
Error	18	32.354	1.7974		
TOTAL	35	98.820			

Tabla 31. Análisis de varianza sobre el parámetro a^* en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	0.6053	0.12107	3.29	0.028
Mezcla	2	3.2538	1.62690	44.26	0.000
Tratamiento*mezcla	10	0.5787	0.05787	1.57	0.193
Error	18	0.6617	0.03676		
TOTAL	35	5.0995			

Tabla 32. Análisis de varianza sobre el parámetro b^* en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	10.19	2.038	0.34	0.880
Mezcla	2	209.13	104.564	17.56	0.000
Tratamiento* Mezcla	10	77.38	7.738	1.30	0.301
Error	18	107.16	5.953		
TOTAL	35	403.86			

Tabla 33. Análisis de varianza sobre la diferencia de color en mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	50.781	10.156	2.63	0.059
Mezcla	2	5.531	2.765	0.72	0.502
Tratamiento* Mezcla	10	93.921	9.392	2.43	0.048
Error	18	69.463	3.859		
TOTAL	35	219.696			

Tabla 34. Análisis de varianza sobre la concentración de polifenoles totales durante 20 días de almacenamiento refrigerado de mezclas de té matcha-naranja.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Sustitución	2	30240.9	15120.4	5788.26	0.000
Tratamiento	5	4076.2	815.2	312.08	0.000
Sust*tratamiento	10	7328.1	732.8	280.53	0.000
Error	18	47.0	2.6		
Total	35	41692.1			

Tabla 35. Análisis de varianza sobre la concentración de flavonoides totales durante 20 días de almacenamiento refrigerado de mezclas de té matcha-naranja

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Sustitución	2	1653.07	826.535	2677.23	0.000
Tratamiento	5	87.35	17.471	56.59	0.000
Sust*tratamiento	10	25.39	2.539	8.22	0.000
Error	18	5.56	0.309		
Total	35	1771.37			

Tabla 36. Análisis de varianza sobre la actividad antioxidante exhibida durante 20 días de almacenamiento refrigerado de mezclas de té matcha-naranja

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	5	41930	8386	0.62	0.688
Sustitución	2	6655192	3327596	245.25	0.000
Tratamiento*mezcla	10	177116	17712	1.31	0.299
Error	18	244230	13568		
Total	35	7118467			

Tabla 37. Análisis de varianza resumido sobre parámetros de color durante 20 días de almacenamiento de mezclas con 0% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita

FUENTE	GL	L*	a*	b*
Almacenamiento	1	0.0130	1.0813*	118.38*
Tratamiento	5	2.9245	0.2481	15.97
Tratamiento*almacenamiento	5	1.7182	0.3780	14.84
Error	11	15.0658	0.4464	48.35
Total	23	19.7215	2.1539	197.54

Tabla 38. Análisis de varianza resumido sobre parámetros de color, durante 20 días de almacenamiento de mezclas con 4% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita

FUENTE	GL	L*	a*	b*
Almacenamiento	1	23.626*	0.17466*	379.08*
Tratamiento	5	12.916*	0.65115*	115.23*
Tratamiento*almacenamiento	5	3.365	0.09517	23.63
Error	11	6.076	0.15071	64.39
Total	22	48.938	1.01442	622.01

Tabla 39. Análisis de varianza resumido sobre parámetros de color, durante 20 días de almacenamiento de mezclas con 8% de sustitución de té matcha por jugo de naranjita

FUENTE	GL	L*	a*	b*
Almacenamiento	1	29.914*	0.004114	289.30*
Tratamiento	5	29.264	0.60181	87.47
Tratamiento*almacenamiento	5	7.295	0.24679	29.38
Error	11	35.473	0.97205	150.22
Total	22	101.947	0.004114	556.37

Tabla 40. Efecto del almacenamiento sobre los polifenoles individuales de la mezcla de té matcha con 0% de sustitución de jugo de naranjita

FUENTE	DF	AG	ACI	RT	AC	EC	VA	EGCG
Almacen	1	460474482*	427581306*	0.0062	1.452*	770.01*	118.6	196201*
Tratamiento	5	152807339*	153993382*	13.263	0.672	294.39*	215.9*	440338*
Trat*Almacen	5	151803388*	150656141*	49.857*	0.880	354.11*	818.2*	1259233*
Error	12	45574	51672	32.164	1.449	83.72	487.7	104449
Total	23	765130782	732282501	95.291	4.455	1502.23	1640.3	2000220

Tabla 41. Efecto del almacenamiento sobre los polifenoles individuales de la mezcla de té matcha con 4% de sustitución de jugo de naranjita.

FUENTE	DF	AG	ACI	RT	AC	EC	VA	EGCG
Almacen	1	450656*	10148.4*	0.2568	0.27136*	14.5181*	0.954	30950*
Tratamiento	5	2660	4715.5*	1.8139*	0.03555*	20.787*	56.720*	72151*
Trat*Almacen	5	1616	3958.1*	2.5505*	0.07060*	18.704*	66.702*	75673*
Error	12	2024	627.8	1.3449	0.02738	6.527	15.928	21042
Total	23	456956	19449.8	5.9662	0.40489	60.536	140.303	199817

Tabla 42. Efecto del almacenamiento sobre los polifenoles individuales de la mezcla de té matcha con 8% de sustitución de jugo de naranjita (día 0 y día 20)

FUENTE	DF	AG	ACI	RT	AC	EC	VA	EGCG
Almacen	1	644825*	10528*	5.500*	41.8979*	63.05*	127.77*	43479*
Tratamiento	5	3013*	4714*	6.411*	0.0683	27.08*	89.56*	104743*
Trat*Almacen	5	1341	4559*	8.191*	0.1065	18.86*	50.33*	104717*
Error	12	2095	1881	1.967	1.4053	21.21	46.99	16958
Total	23	651274	21682	22.068	43.4780	121.20	314.64	269898

Anexo 2. Análisis de varianza (tercera fase experimental)

Tabla 44. Análisis de varianza para el pH del té matcha con jugo de naranjita

Efecto	Criterio	Estadística de prueba	F	GL		P
				Num	Denom	
Tratamiento	Lambda de Wilks	0.86381	0.788	4	20	0.546
	Traza de Hotelling	0.15766	0.788	4	20	0.546
	Traza de Pillai	0.13619	0.788	4	20	0.546
	Raiz mayor de Roy	0.15766				
Almacenamiento	Lambda de Wilks	0.34342	12.75	3	20	0.00
	Traza de Hotelling	1.91189	12.75	3	20	0.00
	Traza de Pillai	0.65658	12.75	3	20	0.00
	Raiz mayor de Roy	1.91189				
Almacenamiento *Tratamiento	Lambda de Wilks	0.69483	0.732	12	20	0.706
	Traza de Hotelling	0.43920	0.732	12	20	0.706
	Traza de Pillai	0.30517	0.732	12	20	0.706
	Raiz mayor de Roy	0.43920				

Tabla 44. Análisis de varianza para los °Brix del te matcha con jugo de naranjita

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	4	0.1165	0.02912	5.07	0.006
Almacen	3	0.2287	0.07625	13.26	0.000
Tratamiento*Almacen	12	0.1475	0.012292	2.14	0.064
Error	20	0.1150	0.005750		
Total	39	0.6077			

Tabla 45. Análisis de varianza para el parámetro L* del té matcha con jugo de naranjita

Efecto	Criterio	Estadística de prueba	F	GL		P
				Num	Denom	
Tratamiento	Lambda de Wilks	0.00189	2645.156	4	20	0.000
	Traza de Hotelling	529.0313	2645.156	4	20	0.000
	Traza de Pillai	0.99811	2645.156	4	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	529.0313				
Almacenamiento	Lambda de Wilks	0.0022	3023.405	3	20	0.000
	Traza de Hotelling	453.51069	3023.405	3	20	0.000
	Traza de Pillai	0.9978	3023.405	3	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	453.51069				
Almacenamiento *Tratamiento	Lambda de Wilks	0.00063	2630.039	12	20	0.000
	Traza de Hotelling	1578.02366	2630.039	12	20	0.000
	Traza de Pillai	0.99937	2630.039	12	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	1578.02366				

Tabla 46. Análisis de varianza para el parámetro a* del té matcha con jugo de naranjita

Efecto	Criterio	Estadística de prueba	F	GL		P
				Num	Denom	
Tratamiento	Lambda de Wilks	0.00916	540.796	4	20	0.000
	Traza de Hotelling	108.15928	540.796	4	20	0.000
	Traza de Pillai	0.99084	540.796	4	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	108.15928				
Almacenamiento	Lambda de Wilks	0.00346	1920.768	3	20	0.000
	Traza de Hotelling	288.11527	1920.768	3	20	0.000
	Traza de Pillai	0.99654	1920.768	3	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	288.11527				
	Lambda de Wilks	0.00665	249.138	12	20	0.000

Almacenamiento *Tratamiento	Traza de Hotelling	149.48303	249.138	12	20	0.000
	Traza de Pillai	0.99335	249.138	12	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	149.48303				

Tabla 47. Análisis de varianza para el parámetro b* del te matcha con jugo de naranjita

Efecto	Criterio	Estadística de prueba	F	GL		P
				Num	Denom	
Tratamiento	Lambda de Wilks	0.0002	24822.06	4	20	0.000
	Traza de Hotelling	4964.4121	24822.06	4	20	0.000
	Traza de Pillai	0.9998	24822.06	4	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	4964.4121				
Almacenamiento	Lambda de Wilks	0.00049	13604.67	3	20	0.000
	Traza de Hotelling	2040.70108	13604.67	3	20	0.000
	Traza de Pillai	0.99951	13604.67	3	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	2040.70108				
Almacenamiento *Tratamiento	Lambda de Wilks	0.00013	12902.43	12	20	0.000
	Traza de Hotelling	7741.45887	12902.43	12	20	0.000
	Traza de Pillai	0.99987	12902.43	12	20	0.000
	Raiz mayor de Roy	7741.45887				

Tabla 48. Análisis de varianza sobre la concentración de polifenoles totales durante 60 días de almacenamiento refrigerado de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tiempo	3	9421.2	3140.4	786.88	0.000
Tratamiento	4	124	31	7.77	0.001
Tiempo*Tratamiento	12	1163.3	96.94	24.29	0.000
Error	20	79.8	3.99		
TOTAL	39	10788.3			

Tabla 49. Análisis de varianza sobre la actividad antioxidante de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante 60 días de almacenamiento refrigerado.

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tiempo	3	1670169	556723	6939.57	0.000
Tratamiento	4	31864	7966	99.3	0.000
Tiempo*Tratamiento	12	121473	10123	126.18	0.000
Error	20	1604	80		

Tabla 50. Análisis de varianza sobre los flavonoides totales de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante 60 días de almacenamiento refrigerado de mezclas

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	4	1.655	0.4136	1.83	0.162
Tiempo	3	21.308	7.1027	31.49	0.000
Tiempo*Tratamiento	12	6.093	0.5078	2.25	0.052
Error	20	4.511	0.2256		
TOTAL	39	33.567			

Tabla 51. Análisis de varianza sobre los polifenoles individuales de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante 60 días de almacenamiento refrigerado.

FUENTE	DF	ácido gálico	ACI	Ácido cafeico	EC	EGCG	Vainillina	Rutina
Tratamiento	4	134.23*	4632.4*	9.1315*	186.112	366769*	193.28*	9.762*
Almacen	1	133.8*	3240.0*	4.9925*	7.273	440585*	116.05*	7.126*
Almacen*trat	4	94.5*	1613.2*	3.0939*	125.218	234341*	215.65*	1.965
Error	10	55.07	932	0.7754	164.863	33268	27.14	2.705



ACL: ácido clorogénico, EC: epicatequina, EGCG: Epigallocatequina.

Tabla 52. Análisis de varianza sobre los mesófilos aerobios de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante almacenamiento

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	4	17.846	4.4615	95.32	0.000
Almacen	3	2.3006	0.76686	16.38	0.000
Almacen*trat	12	6.5353	0.5446	11.64	0.000
Error	20	0.9361	0.04681		
Total	39	27.6179			

Tabla 53. Análisis de varianza sobre los psicrófilos aerobios de mezclas de té matcha con 8% de sustitución con jugo de naranjita durante almacenamiento

FUENTE	GL	SC	CM	F	P
Tratamiento	4	4.7178	1.17944	34.68	0.000
Almacen	3	3.612	1.20399	35.4	0.000
Almacen*trat	12	5.9024	0.49187	14.46	0.000
Error	20	0.6802	0.03401		

Anexo 3. Curva de calibración

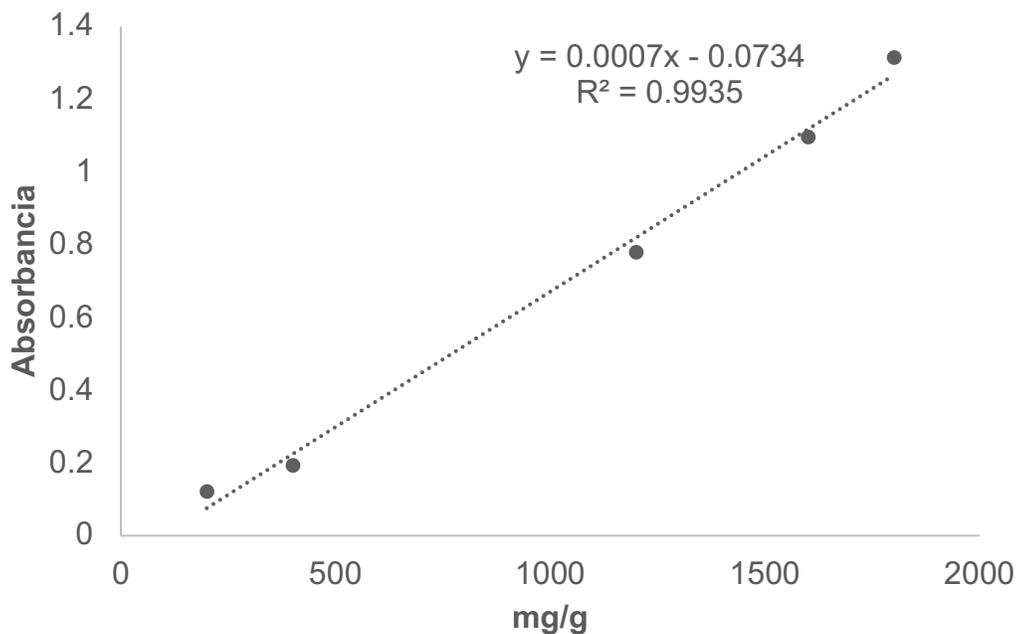


Figura 19. Curva de calibración para polifenoles totales (tercera fase experimental)

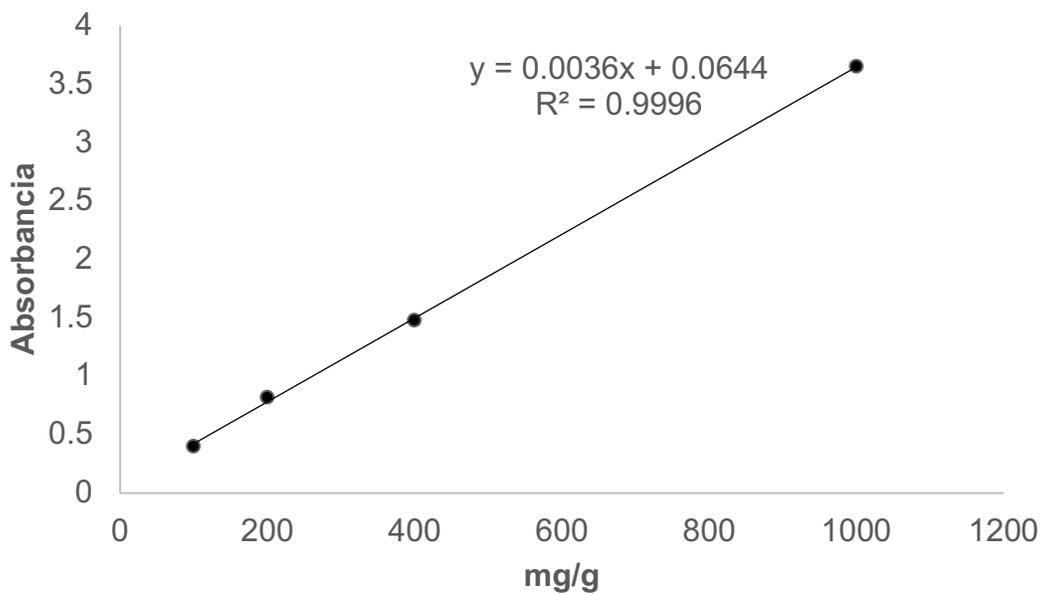


Figura 20. Curva de calibración para flavonoides totales tercera fase

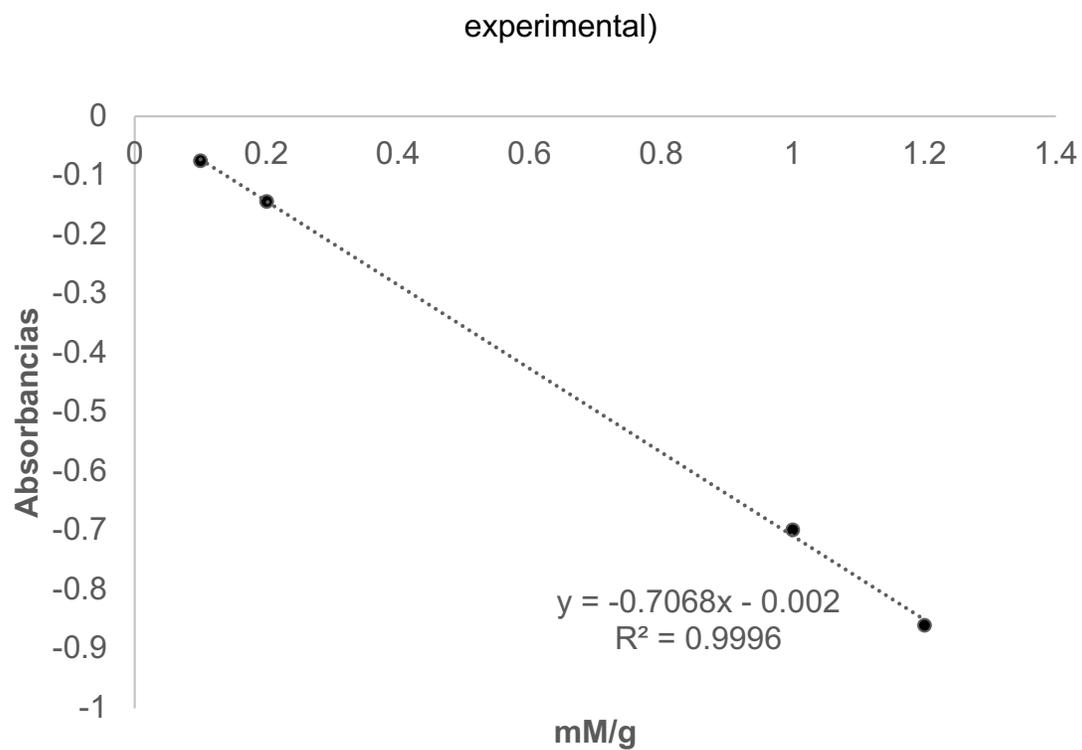


Figura 21. Curva de calibración para actividad antioxidante (tercera fase experimental).