

# Características físicoquímicas, contenido de antocianinas, actividad antioxidante y recuento de mohos y levaduras en jugo de granada tratado con UV-C

## Physicochemical characteristics, anthocyanins content, antioxidant activity and yeast and mold counts on pomegranate juice treated with UV-C

Gabriela Barraza Jáuregui<sup>1</sup>, José Luis Soriano Colchado<sup>2</sup>, Jesús Obregón Domínguez<sup>3</sup>

Recibido: 18 de junio de 2015

Aceptado: 14 de agosto de 2015

### Resumen

El efecto de la dosis (18 y 36 kJ/L) de irradiación de UV-C en pH, acidez titulable, sólidos solubles, contenido de antocianina, actividad antioxidante y recuento de mohos y levaduras en jugo de granada al ser evaluado mostró que las características físicoquímicas no cambiaron significativamente ( $p < 0.05$ ) después del tratamiento UV-C y durante el almacenamiento a 2 °C. El contenido total de antocianinas mostró una reducción significativa ( $p < 0.05$ ) de 13.65 y 21.45% y de 40.27 y 43.84% para las dosis de 18 y 36 kJ/L después del tratamiento con UV-C y al día 14 de almacenamiento respectivamente. La actividad antioxidante mostró una reducción significativa ( $p < 0.05$ ) de 22.54% inmediatamente después

de la aplicación de una dosis UV-C de 36 kJ/L y de 29.33 y 50.46% para muestras irradiadas con dosis de UV-C de 18 y 36 kJ/L al día 14 de almacenamiento. Se redujo significativamente ( $p < 0.05$ ) el conteo de mohos y levaduras en 76.7 (18 kJ/L) y 86.91% (36 kJ/L) en las muestras de jugo de granada tratado con UV-C. Después de 2 semanas de almacenamiento a 2 °C el conteo se incrementó a  $3 \times 10^2$  y  $2.8 \times 10^2$  ufc/mL, con menor conteo microbiano para la dosis más alta aplicada.

**Palabras clave:** Jugo de granada, antocianinas, UV-C, actividad antioxidante, tecnología no térmica.

### Abstract

The effect of irradiation dose (18-36 kJ/L) of UV-C on pH, titratable acidity, soluble solids, anthocyanin content, antioxidant activity and count of molds and yeasts in pomegranate juice was evaluated. The physicochemical characteristics did not change significantly ( $p < 0.05$ ) after UV-C treatment and during storage at 2 °C. The total anthocyanin content showed a significant reduction ( $p < 0.05$ ) of 13.65 and 21.45% and 40.27 and 43.84% for doses of 18 to 36 kJ/L after treatment with UV-C and at the 14th day of storage respectively.

The antioxidant activity showed a significant reduction ( $p < 0.05$ ) of 22.54% immediately after the application of a dose UV-C 36 kJ/L and 29.33 and 50.46% for samples irradiated with doses of UV-C 18 and 36 kJ/L at the 14th day of storage. The count of moulds and yeasts was reduced significantly ( $p < 0.05$ ) to 76.7 (18 kJ/L) and 86.91% (36 kJ/L) in samples of pomegranate juice treated with UV-C. After two weeks of storage at 2 °C the count increased to a  $3 \times 10^2$  y  $2.8 \times 10^2$  ufc/mL, with the lower microbial counts of the highest

1 Ingeniero en Industrias Alimentarias, Ms. Tecnología de Alimentos, UNT, UPAO

2 Ingeniero en Industrias Alimentarias, Ms. Tecnología de Alimentos, UPAO

3 Ingeniero en Industrias Alimentarias, Engineering Consulting & Service

dose applied.

**Keywords:** Pomegranate juice, anthocyanin, anti-oxidant activity, UV-C, non-thermal technology.

## INTRODUCCIÓN

La granada (*Punica granatum L.*) pertenece a la familia punicea y es uno de los frutos comestibles más antiguos que se conocen. Se consume fresca o procesada como zumo o jugo, jarabe, mermeladas o vino (Orak, 2009).

En la actualidad existe un gran interés en el jugo de granada debido a su alto contenido de compuestos fenólicos (catequinas, taninos y antocianinas). Las antocianinas, responsables del color rojo brillante del jugo es uno de los principales parámetros de calidad que afecta la aceptabilidad sensorial del consumidor (Alighourchi y Barzegar, 2009; Borochoy-Neori et al, 2009; Patras et al, 2010). Antocianinas y otros compuestos fenólicos del jugo de granada presentan efectos preventivos y terapéuticos sobre la enfermedad cardiovascular, inflamación y diferentes tipos de cáncer (Khan, 2009; Lansky y Newman, 2007) basado en su elevada actividad antioxidante (Borochoy-Neori et al, 2009). Gil et al (2000) reportaron una actividad antioxidante del jugo de granada tres veces mayor que la de vino tinto y el té verde.

En general, el tratamiento térmico es la más técnica común aplicada para la seguridad y conservación de jugos de frutas. Sin embargo, la frescura de jugo es desfavorablemente afectada por el tratamiento térmico. Recientemente existe un considerable interés en tecnologías no térmicas para la preservación de los jugos debido a la creciente demanda de los consumidores por productos frescos, de alta calidad y nutritivos (Patil et al, 2009). Una de las tecnologías no térmicas empleados para la conservación de jugos es la irradiación UV-C (Koutchma, 2009), que en el intervalo de 200-280 nm presenta efecto germicida sobre microorganismos (bacterias, levaduras, mohos y virus) (Caminiti et al, 2012). En los últimos 20 años tanto la industria de alimentos y bebidas como los productores de equipos UV, han puesto gran interés por este campo. Los efectos letales de la UV-C y su efectividad en la desinfección son bien conocidos, sin embargo en el campo de los alimentos se está investigando (López-Malo y Palou, 2005). El tratamiento para jugos de frutas con UV-C es una alternativa interesante de conservación porque genera una reducción microbiana importante sin ningún cambio significativo en la calidad del producto (López-Malo & Palou, 2005). No existen restricciones legales para su aplicación por lo que constituye una excelente alternativa para

extender la vida útil de los alimentos. Presenta la ventaja que no se forman productos químicos tóxicos, ni promueve la formación de subproductos mutagénicos y carcinógenos y retiene sus propiedades nutricionales (La Cava y Sgroppo, 2015).

La eficacia de la inactivación de la radiación UV depende del tipo de fluido a tratar y sus características. La capacidad de penetración de la luz UV-C es probablemente el factor más importante. De hecho el mayor inconveniente de la desinfección con luz ultravioleta es su baja penetración, ya que para la inactivación de microorganismos estos tienen que ser directamente expuestos a la irradiación (Gutiérrez, 2010). Por lo que suspensiones de microorganismos muy densas y las altas concentraciones de solutos reducen la penetración de los UV y su efecto germicida (López, 2003). Además, la presencia de sustancias sólidas, como el polvo o la fibra, protegen a los microorganismos de la inactivación.

Las tecnologías no térmicas, incluyendo la luz UV-C, presentan como criterio científico para la pasteurización de zumos, cinco reducciones logarítmicas de la carga microbiana patógena (López-Díaz et al, 2012). Más de cinco reducciones logarítmicas de *E. coli* como un microorganismo de referencia se informó para jugo manzana tratado con UV-C (Franz et al, 2009; Keyser et al, 2008). Además, tres reducciones logarítmicas de la flora natural en jugo de naranja tratado con UV-C fueron reportados por Keyser et al (2008) y Tran y Farid (2004). Por otra parte, una tecnología no térmica debe ser asegurar la calidad microbiana junto con la calidad nutricional y sensorial del jugo. Aunque los efectos de la radiación UV-C en algunas de las propiedades físico-químicas de jugos de frutas se han reportado, no existe un estudio profundo sobre el efecto de la luz UV-C en jugo de granada.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la dosis de UV-C, en las características fisicoquímicas, contenido de antocianinas, actividad antioxidante y recuento de mohos y levaduras en jugo de granada.

## MATERIALES Y MÉTODO

### PREPARACIÓN DEL JUGO DE GRANADA

100 kg de frutos de granada, variedad Wonderful, recolectados en madurez de cosecha, sin daño por picadura de insectos, color rojo uniforme y peso promedio de 450 g, en buen estado, sin presencia de plagas, picadura de insectos o con algún daño físico o microbiológico, procedentes de la provincia de Virú, departamento de La Libertad

fueron lavadas y desinfectadas con una solución de agua clorada de 100 ppm, acondicionados en forma manual, empleando un cuchillo de acero inoxidable, con la finalidad de retirar la cáscara y obtener los arilos, a partir de los cuales se obtuvo el jugo con el uso de un extractor. Posteriormente el jugo de granada (JG) fue filtrado con el uso de una malla de acero inoxidable de 0.5 mm de abertura.

### ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DEL JUGO DE GRANADA

Los sólidos solubles totales (SST), pH y acidez titulable (AT) se determinaron antes y después del tratamiento de irradiación con UV-C. El contenido de sólidos solubles (°Brix) se midió a 20 °C usando un refractómetro digital (Atago PAL-1), el pH se determinó utilizando un medidor de pH de mesa (HANNA Instruments). La acidez titulable se determinó de acuerdo con el método de la AOAC (1990) y se expresó como peso de ácido cítrico en 100 mL (w/v).

### TRATAMIENTO CON UV-C

Para la aplicación de las dosis de UV-C se utilizó un purificador ultravioleta de 1 gl/min modelo compacto (Figura 1), Pentek/Sterilight Modelo: PF10-SC1, el cual consiste en una cámara cilíndrica de acero inoxidable en cuyo interior se encuentra un tubo de cuarzo que recorre la cámara, dentro del cual se encuentra colocada la lámpara UV-C y por cuyo exterior circuló el JG. El fluido fue impulsado al interior de la cámara por una bomba desde el tanque de entrada y fue recogido por un tubo de salida que acaba en un recipiente nuevo.

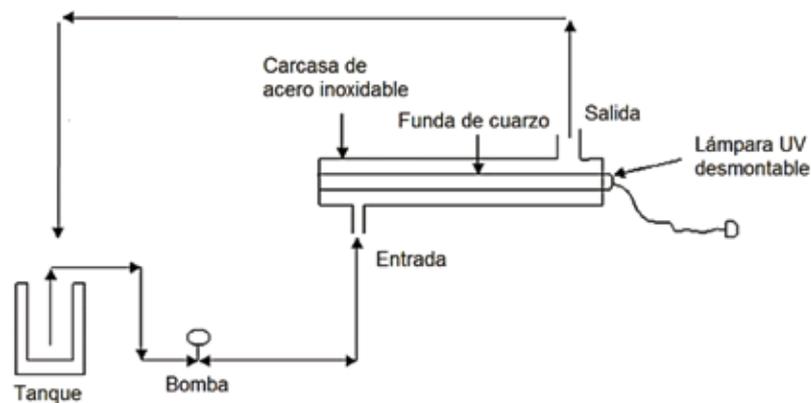


Figura 1. Equipo UV-C para fluidos.

La luz UV fue irradiada por una lámpara de baja presión, de vapor de mercurio (emisor) de 254 nm (Lámpara Philips, modelo TUV-G30T8, 16 Watts). La lámpara presenta una distancia máxima de 2 cm al fluido que pasa por un tubo de cuarzo. La dosis UV fue determinada en función a la energía entregada por volumen de líquido y expresada como kJ/L (Keyser et al, 2008), considerando un sistema de operación por batch en donde el líquido es recirculado a través del reactor (Ecuación 1).

$$D = \frac{P * t}{V} \quad (1)$$

Donde:

D= Dosis (J/L), P= Potencia de la lámpara (W), t= Tiempo de tratamiento (s), V= Volumen de JG a tratar (L).

Los tiempos de tratamiento para las dosis establecidas fueron los siguientes se calcularon a partir de la ecuación 1.

$$t_1 = \frac{D_1 * V}{P} = \frac{18 \text{ kJ/L} * 2 \text{ L}}{16 \text{ W}} = 37.5 \text{ min}$$

$$t_2 = \frac{D_2 * V}{P} = \frac{36 \text{ kJ/L} * 2 \text{ L}}{16 \text{ W}} = 75 \text{ min}$$

El JG tratado fue envasado en botellas de vidrio esterilizadas y almacenado a 2 °C para su posterior evaluación.

### CONTENIDO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES

El contenido de antocianinas monoméricas totales se determinó utilizando el método del pH-diferencial desarrollado por Giusti y Wrolstad y descrito por (Kuskoski et al, 2005) con algunas modificaciones. 6 g de JG fue diluido con etanol al 80%, pH 2. Se utilizó dos sistemas tampón: ácido clorhídrico/ cloruro de potasio de pH 1.0 (0.025 M) y ácido acético/ acetato sódico de pH 4.5 (0.4 M). A 0.2 mL de una muestra diluida (para conseguir una absorbancia en el rango de 0.100-1.200 a 510 nm) se añadió 1.8 mL de la correspondiente disolución tampón y se midió la absorbancia frente a un blanco a 510 y 700 nm. Se calculó la absorbancia final a partir de la ecuación 2.

$$A = (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}_{1.0}} - (A_{515 \text{ nm}} - A_{700 \text{ nm}})_{\text{pH}_{4.5}} \quad (2)$$

La concentración de pigmentos monoméricos en el extracto se expresó en cianidina-3-glucósido (ecuación 3).

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/100 g)} = \frac{A * PM * FD * 100}{\epsilon} \quad (3)$$

Donde: A= Absorbancia; PM= peso molecular; FD= Factor de dilución;  $\epsilon$ = absortividad molar. La concentración final de antocianinas (mg/100 g) se calculó en base al volumen de extracto y peso de JG y se expresó en cianidina 3-glucósido (PM: 449.2 g/mol y  $\epsilon$ : 26900 L/mol.cm).

### ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante se determinó con el método del DPPH. Este método, desarrollado por Brand-Willams y mencionado por Kuskoski et al (2005), se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH• 100  $\mu$ M por antioxidantes. Se añadió 0.1 mL de la muestra o patrón, la mezcla se homogenizó cuidadosamente, y se mantuvo en la oscuridad durante 30 minutos. Las medidas de absorbancia a 515 nm se realizaron antes de añadir la muestra (A0) y pasados los 30'. La concentración de DPPH• en el medio de reacción se calculó como % inhibición (ecuación 4).

$$\% \text{ inhibición} = \left( \frac{Abs_{\text{muestra}}}{Abs_{\text{DPPH}}} \right) * 100 \quad (4)$$

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El recuento de mohos y levaduras se realizó por recuento en placa según método FDA-BAM Cap.18. Parte A, B, C (FDA, 2001).

## ESTUDIO DE ALMACENAMIENTO

JG irradiado (18 y 36 kJ/L) fue almacenado en condiciones de refrigeración ( $2.0 \pm 0.5$  °C). Se evaluó pH, SS (sólidos solubles) y AT (acidez titulable), contenido de antocianinas, actividad antioxidante y recuento de mohos y levaduras cada 7 días durante un periodo de 14 días.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los análisis se realizaron por triplicado. Los resultados fueron expresados en promedio indicando la desviación estándar, con el fin de evaluar el grado de variabilidad de los datos experimentales.

Para evaluar el efecto de la dosis UV-C en las características fisicoquímicas, recuento de mohos y levaduras y capacidad antioxidante de JG se aplicó un análisis de varianza (ANVA) ( $\alpha=0.05$ ) (Montgomery, 2005). Los análisis estadísticos se realizaron empleando el Software SPSS® versión 20.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EFFECTO DE LA IRRADIACIÓN UV-C EN LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE JG

Los valores de pH, AT y SS del JG sin irradiar e irradiado con luz UV-C y almacenado durante 14 días a 2 °C se presenta en la tabla 1. No se encontraron cambios significativos en estos valores después de la irradiación con luz UV-C y durante los 14 días de almacenamiento ( $p < 0,05$ ) en comparación con la muestra no tratada. Estudios similares han sido reportados en los que no se revelaron cambios significativos en el pH, sólidos solubles y los valores de acidez en jugo de manzana (Caminiti et al 2012; Falguera et al, 2011; Noci et al, 2008; Walkling-Ribeiro et al, 2010); jugo de mango y piña (Mukhopadhyay et al, 2011); jugo de uva (Lorenzini et al, 2010) y jugo de granada (Pala y Toklucu, 2011) después del tratamiento UV-C.

**Tabla 1. Valores de pH, acidez titulable y sólidos solubles de JG irradiado con luz UV-C y almacenado durante 14 días a 2 °C.**

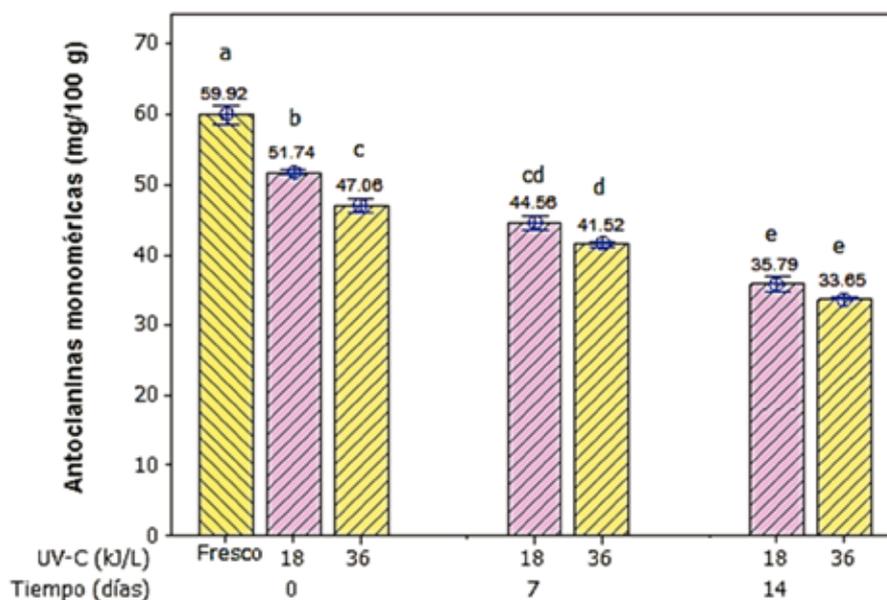
Tiempo (Días)	Dosis kJ/L	pH	AT (%)	SST (°Brix)
1	18	3.35±0.10 <sup>a</sup>	1.30±0.04 <sup>a</sup>	14.27±0.21 <sup>a</sup>
	36	3.37±0.02 <sup>a</sup>	1.31±0.01 <sup>a</sup>	14.47±0.15 <sup>a</sup>
7	18	3.34±0.05 <sup>a</sup>	1.31±0.01 <sup>a</sup>	14.27±0.21 <sup>a</sup>
	36	3.36±0.20 <sup>a</sup>	1.31±0.02 <sup>a</sup>	14.60±0.01 <sup>a</sup>
14	18	3.37±0.38 <sup>a</sup>	1.32±0.02 <sup>a</sup>	14.33±0.21 <sup>a</sup>
	36	3.39±0.13 <sup>a</sup>	1.30±0.05 <sup>a</sup>	14.30±0.20 <sup>a</sup>

### CONTENIDO DE ANTOCIANINAS MONOMÉRICAS TOTALES

El contenido de antocianinas en JG en función a la dosis de irradiación y tiempo de almacenamiento se presenta en la figura 2, observándose que el contenido total de antocianinas cambió significativamente ( $p < 0.05$ ) después del tratamiento de con UV-C mostrando una reducción del 13.65 y 21.45% para las dosis de 18 y 36 kJ/L respectivamente. Sin embargo, Pala y Toklucu (2011) informaron que no hubo cambios significativos en el con-

tenido de antocianinas en JG sometido a tres dosis de irradiación UV-C (12.47 J/MI; 37.41 J/mL y 62.35 J/mL) en un reactor UV (Gentra Stock Joint Company, Istanbul, Turkey) compuesto de un reflector de acero inoxidable, un tubo de teflón corrugado en espiral alrededor de la manga de cuarzo y 9 lámparas germicidas de 28 W de salida. Esta diferencia pudo deberse al tipo de reactor utilizado en esta investigación, constituido sólo por una lámpara UV-C de 16 Watts, por lo que fue necesario mantener mayor tiempo de exposición para lograr el efecto deseado.

La exposición a largo plazo de la luz UV-C puede causar la fotodegradación de antocianinas debido al efecto de decoloración de pigmentos (Guerrero-Beltrán, et al, 2009). Los fotones de la luz UV a 254 nm son absorbidos por moléculas orgánicas y afectan enlaces conjugados incluyendo enlaces disulfuro y por tanto, puede reducir el contenido de antocianinas (Koutchma y Parisi, 2004).



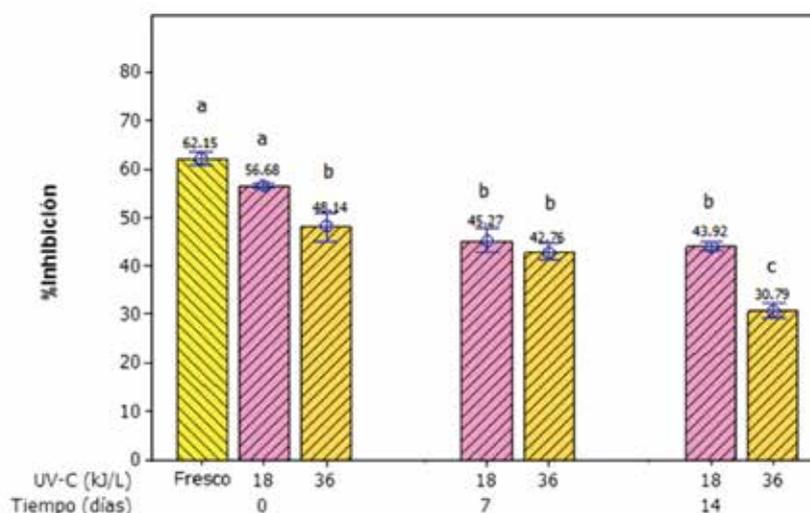
**Figura 2. Contenido de antocianinas en JG en función a la dosis de irradiación y tiempo de almacenamiento.**

Adicionalmente, se observó una reducción del contenido de antocianinas de 40.27 y 43.84% en JG en los tratamientos sometidos a las dosis de 18 y 36 kJ/L respectivamente en el día 14 de almacenamiento la temperatura de 2 °C. Del mismo modo, Pérez-Vicente et al (2004) encontraron que la pérdida antocianina en JG almacenado durante dos meses fue alrededor del 60% a 5 °C.

### ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante se determinó por la captación de radicales libres DPPH y fue expresada como % de inhibición (figura 3). La actividad antioxidante de JG fresco fue de 62.15% y mostró una reducción significativa ( $p > 0.05$ ) de su actividad antioxidante de 22.54% inmediatamente después de la aplicación de una dosis UV-C de 36 kJ/L. No se observó el mismo efecto en las muestras tratadas con la dosis de 18 kJ/L.

Varios trabajos han sido publicados sobre el efecto de la luz UV-C en la actividad antioxidante de otros jugos de frutas. Noci et al (2008), aplicó la radiación UV-C a jugo de manzana e informó que su actividad antioxidante no se vio afectada por tratamiento con UV-C, mientras que una disminución significativa se observó en contenido de fenoles totales en comparación con el jugo fresco. Caminiti et al (2012) trataron jugo de manzana a la luz UV-C (2.66 a 53.10 J/cm<sup>2</sup>) utilizando un reactor de película UV-C y no encontraron cambios significativos en el contenido de fenoles totales.



**Figura 3. Actividad antioxidante en JG en función a la dosis de irradiación y tiempo de almacenamiento.**

Pala y Toklucu (2011) evaluaron cambios en la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en JG sometido a irradiación UV-C y tratamiento térmico y reportaron que estos tratamientos no afectaron la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales comparación con la muestra JG no tratado.

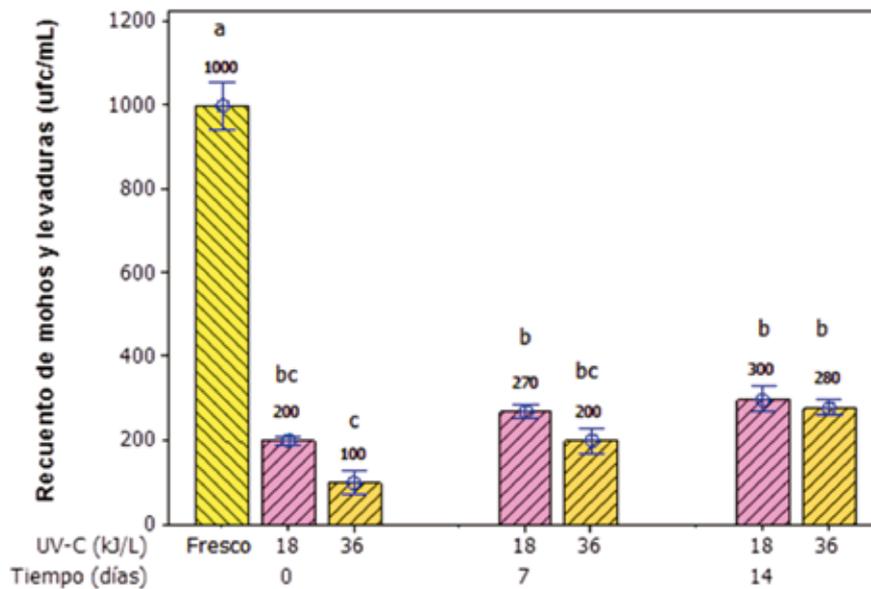
Al respecto, Alothman et al (2009) reportaron que el tratamiento UV-C puede aumentar o disminuir la capacidad de extracción de antioxidantes debido a algunas variables usadas, como: dosis administrada, tiempo de exposición, tipo de materia prima, por lo que variables empleadas durante la irradiación UV-C tienen que evaluarse adecuadamente para evitar impactos negativos en la calidad del zumo de fruta. Durante el almacenamiento se observó disminución de la actividad antioxidante en 29.33 y 50.46% para muestras irradiadas con dosis de UC-V de 18 y 36 kJ/L al día 14.

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Los cambios en el recuento microbiano (mohos y levaduras) en JG almacenado a temperatura de refrigeración ( $2 \pm 1$  °C) durante 2 semanas se muestran en la figura 4. El JG recién extraído presentó un recuento de mohos y levaduras ( $10^3$  ufc/mL) en el límite permisible de MINSa (2008). Los tratamientos de irradiación con dosis de UV-C de 18 y 36 kJ/L redujeron significativamente ( $p < 0.05$ ) el conteo de mohos y levaduras en 76.7% y 86.91% respectivamente. Después de 2 semanas de almacenamiento a 2 °C el conteo se incrementó a  $3 \times 10^2$  y  $2.8 \times 10^2$  ufc/mL detectándose el menor conteo microbiano con la dosis más alta aplicada.

Sin embargo, la reducción microbiana pudo haber sido afectada por el intenso color rojo del JG, debido a su alto contenido de antocianinas (Pala y Toklucu, 2013). Del mismo modo, Guerrero-Beltrán et al (2009) aplicaron luz UV-C a jugos que contenían antocianinas inoculados con *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 10274 y reportaron una reducción logarítmica de 0.53 para el recuento de levadura en el jugo de uva con color violeta profundo y reducción de 2.51 para jugo de arándano con color rojo-marrón. Además Keyser et al (2008) encontraron que la reducción logarítmica de mohos y levaduras en néctar de fresa sometido a dosis UV-C de 2.06 kJ/L fue de 2.45. Feng et al (2013) irradiaron jugo de sandía con dosis de UV-C de 2.7, 9.4 y 37.5 kJ/L, reportando reducciones logarítmicas significativas ( $p < 0.05$ ) en los recuentos de aerobios mesófilos, coliformes y mohos y levaduras con la dosis de 37.5 kJ/L y 9.4 kJ/L con reduccio-

nes logarítmicas de 1.47, 0.99 y 1.29, 1.0 para aerobios mesófilos viables y mohos y levaduras respectivamente.



**Figura 4. Recuento microbiano (mohos y levaduras) en JG irradiado con UV-C y almacenado a temperatura de refrigeración ( $2 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) durante 14 días.**

Se observó ligera reactivación al día 7 y 14, posiblemente debido a una fotorreacción y a la resistencia de los microorganismos, determinada principalmente por su capacidad para reparar el daño ocasionado por el ADN (López-Díaz et al, 2012).

## CONCLUSIÓN

En general, este estudio demostró que el procesamiento de UV-C puede asegurar la inocuidad del JG y mantener sus atributos sensoriales y tener una vida útil más larga bajo condiciones de refrigeración en comparación con el JG no tratado. Además, el estudio indica que el contenido de antocianinas y actividad antioxidante del JG pudieron ser desfavorablemente afectados por la exposición excesiva de la luz UV-C. De acuerdo con los resultados microbiológicos, el uso de la irradiación UV-C para la desinfección del JG es una promesa para prolongar la vida útil de jugo durante el almacenamiento refrigerado ( $2 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Debido a esto, la optimización de la dosis de UV-C es un factor esencial para garantizar la seguridad microbiana junto con características fisicoquímicas y nutricionales del JG fresco.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Fondo de Investigación de la Universidad Privada Antenor Orrego por financiar esta investigación.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alighourchi, H., & Barzegar, M. (2009). Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90, 179-185.
- Alothman, M., Bhat, R., & Karim, A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food*

Chemistry, 115, 785-788.

- AOAC INTERNATIONAL. (1997). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists INTERNATIONAL. 16th Edition. Volume II, Maryland – USA.
- Borochoy-Neori, H., Judeinstein, S., Tripler, E., Harari, M., Greenberg, A., Shomer, I., & Holland, D. (2009). Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 189-195.
- Caminiti, I., Palgan, I., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D., Lyng, J. (2012). The effect of ultraviolet light on microbial inactivation and quality attributes of apple juice. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 680-686.
- Falguera, V., Pagan, J., & Ibarz, A. (2011). Effect of UV irradiation on enzymatic activities and physicochemical properties of apple juices from different varieties. *LWT - Food Science and Technology*, 44(1), 115-119.
- Feng, M.; Ghafoor, K.; Seo, B.; Yang, K. y Park, J. 2013. Effects of ultraviolet-C treatment in Teflon-coil on microbial populations and physico-chemical characteristics of watermelon juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 19:133-139.
- FDA. (2001). BAM: Yeasts, Molds and Mycotoxins. Recuperado el 15 de Enero de 2015, de <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>
- Franz, C., Specht, I., Cho, G., Graef, V., & Stahl, M. (2009). Franz, C.M.A.P., Specht, I., Cho, G.S., Graef, V., Stahl, M.R., 2009. UV-C-inactivation of microorganisms in naturally cloudy apple juice using novel inactivation equipment based on Dean vortex technology. *Food Control*, 20, 1103-1107.
- Gil, M., Tomás-Barberán, F., Hess-Pierce, B., Holcroft, D., & Kader, A. (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4581-4589.
- Gutiérrez, M. (2010). Pasteurización de zumos con luz ultravioleta. Recuperado el 15 de abril de 2015, de Gutiérrez, M. 2010. Pasteurización de zumos con luz ultravioleta. [En línea], [fecha de consulta. 15] [http://www.catedu.es/ctamagazine/index.php?option=com\\_content&task=view&id=669&Itemid=59](http://www.catedu.es/ctamagazine/index.php?option=com_content&task=view&id=669&Itemid=59)
- Keyser, M., Müller, I., Cilliers, F., Nel, W., & Gouws, P. (2008). Keyser, M., Müller, I.A., Cilli Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(3), 348-354.
- Khan, S. (2009). The role of pomegranate (*Punica granatum L.*) in colon cancer. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 22, 346-348.
- Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 138-155.
- Koutchma, T., & Parisi, B. (2004). Biodosimetry of *Escherichia coli* UV inactivation in model juices with regard to dose distribution in annular UV reactors. *Journal of Food Science*, 69(1), 14-22.
- Kuskoski, M., Asuero, A., Troncosol, A., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência y Tecnología de Alimentos*, 25(4), 726-732.
- La Cava, E., & Sgroppo, S. (2015). Evolution during refrigerated storage of bioactive compounds and quality characteristics of grapefruit [*Citrus paradisi* (Macf.)] juice treated with UV-C light. *LWT - Food Science and Technology*, 1-9.
- Lansky, E., & Newman, R. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 177-206.

- López, E. (2003). Conservación de jugo de sandía aplicando irradiación ultravioleta de onda corta. Tesis para optar el Título de Licenciado en Ingeniería de Alimentos. Puebla, México: Departamento de Biblioteconomía y Documentación.
- López-Díaz, A., Palou, E., & López-Malo, A. (2012). Radiación ultravioleta en jugos de frutas: fundamentos y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6, 79-93.
- López-Malo, A., & Palou, E. (2005). *Ultraviolet and Food Preservation*. EEUU: Ed. Barbosa-Canovas.
- Lorenzini, M., Fracchetti, F., Bolla, E., Stefanelli, E., Rossi, F., & Torriani, S. (2010). Ultraviolet light (UV-C) irradiation as an alternative technology for the control of microorganisms in grape juice and wine. Georgia: 33° Congreso Mundial de la Viña y el Vino.
- MINSA. (2008). NTS N° 071. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para alimentos y bebidas de consumo humano. Lima.
- Montgomery, D. (2005). *Diseño y análisis de experimentos* (2 ed.). Mexico: Limusa.
- Mukhopadhyay, M., Majumdar, M., & Pallabi, B. (2011). Microbial contamination of street vended fruit juices in Kolkata City. *Internet Journal of Food Safety*, 13, 1-5.
- Noci, F., Riener, J., Walkling, M., Cronin, D., Morgan, D., & Lyng, J. (2008). Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple juice. *Journal of Food Engineering*, 85(1), 141-146.
- Orak, H. (2009). Evaluation of antioxidant activity, colour and some nutritional characteristics of pomegranate (*Punica granatum L.*) juice and its sour concentrate processed by conventional evaporation. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(1), 1-11.
- Pala, C., & 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, 790-795.
- Pala, C., & Toklucu, A. (2013). Microbial, physicochemical and sensory properties of UV-C processed orange juice and its microbial stability during refrigerated storage. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 426-431.
- Patil, S., Bourke, P., Frias, J., Tiwari, B., & Cullen, P. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* in orange juice using ozone. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 551-557.
- Patras, A., Brunton, N., O'Donnell, C., & Tiwari, B. (2010). Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 3-11.
- Tran, M., & Farid, M. (2004). Ultraviolet treatment of orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5, 495-502.
- Walkling-Ribeiro, M., Noci, F., Cronin, D., Lyng, J., & Morgan, D. (2010). Shelf life and sensory attributes of a fruit smoothie-type beverage processed with moderate heat and pulsed electric fields. *LWT - Food Science and Technology*, 43(7), 1067-1073.