



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE IONIZADAS PARA
LA CONSERVACIÓN DE JUGO NATURAL DE NARANJA

GARAY AUCAY DIANA ESTEFANIA
INGENIERA EN ALIMENTOS

JARAMILLO ROMERO JOSE RICARDO
INGENIERO EN ALIMENTOS

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE IONIZADAS
PARA LA CONSERVACIÓN DE JUGO NATURAL DE NARANJA

GARAY AUCAY DIANA ESTEFANIA
INGENIERA EN ALIMENTOS

JARAMILLO ROMERO JOSE RICARDO
INGENIERO EN ALIMENTOS

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE IONIZADAS PARA LA
CONSERVACIÓN DE JUGO NATURAL DE NARANJA

GARAY AUCAY DIANA ESTEFANIA
INGENIERA EN ALIMENTOS

JARAMILLO ROMERO JOSE RICARDO
INGENIERO EN ALIMENTOS

ROMERO BONILLA HUGO ITALO

MACHALA, 22 DE FEBRERO DE 2022

MACHALA
2022

APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE IONIZADAS PARA LA CONSERVACIÓN DE JUGO NATURAL DE NARANJA

INFORME DE ORIGINALIDAD

3%

INDICE DE SIMILITUD

3%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositoriobibliotecas.uv.cl	1%
Fuente de Internet		
2	www.scribd.com	1%
Fuente de Internet		
3	repositorio.unp.edu.pe	1%
Fuente de Internet		

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, GARAY AUCAY DIANA ESTEFANIA y JARAMILLO ROMERO JOSÉ RICARDO, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE COBRE IONIZADAS PARA LA CONSERVACIÓN DE JUGO NATURAL DE NARANJA, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la auditoria de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad de frente a cualquier tipo de reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 23 de febrero de 2022

GARAY AUCAY DIANA ESTEFANIA
0707300950

JARAMILLO ROMERO JOSÉ RICARDO
0705642403

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres que con su esfuerzo lograron la culminación de mis estudios, a mi familia y a mi enamorada que además es mi compañera de tesis, ellos depositaron en mí toda su confianza y aunque a veces los tiempos eran difíciles siempre estuvieron presentes.

Jose Ricardo Jaramillo Romero

Dedico mi trabajo de tesis a mi familia por su apoyo incondicional, a mis padres, Ismael Garay y Ana Aucay que me dieron lecciones morales sobre disciplina desde una edad temprana y ayudaron en mis estudios, a mi compañero de tesis y pareja sentimental por su apoyo y esfuerzo en la culminación de nuestro trabajo de investigación.

Diana Estefania Garay Aucay

AGRADECIMIENTO

A Dios, por permitirme llegar a esta etapa muy especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han servido para poder llegar hasta esta instancia. A mis Padres Ufredo Jaramillo y María Romero, mis Hermanos Ezequiel Jaramillo, María José Jaramillo y la Familia Jaramillo Delgado, que siempre me brindaron su apoyo en la realización de mis estudios y en la culminación de esta tesis.

A mi Tutor, Dr Hugo Romero Bonilla quien, con sus conocimientos y enseñanzas fueron fundamentales para la culminación de mis estudios con éxito.

Jose Ricardo Jaramillo Romero

Me gustaría agradecer a mi tutor, el Dr Hugo Romero Bonilla, por su constante apoyo y orientación durante la ejecución de este proyecto de investigación. Además, me gustaría agradecer a mi compañero de pregrado por su esfuerzo colaborativo durante la recopilación de datos experimentales. A la planta docente de la carrera de ingeniería en alimentos por su compromiso en la educación y formación ética de los futuros profesionales.

Diana Estefania Garay Aucay

RESUMEN

La nanotecnología manipula materiales tanto sintéticos como naturales a nivel atómico y molecular, esta ciencia ha tenido una gran acogida en la industria alimentaria para la conservación y/o modificaciones de diversos productos alimenticios, el empleo de nanopartículas de metales como el cobre han dado excelentes resultados en productos alimenticios, diversos estudios han confirmado las propiedades bacteriostáticas y antibacterianas, que ralentizan el metabolismo de las partículas nocivas, impiden su posterior desarrollo y reproducción, tomando en cuenta que este metal es empleado desde los inicios de la humanidad para alargar la vida útil de sus alimentos y almacenamiento de agua, con el avance de la tecnología se ha llevado el estudio de sus iones, los cuales tienen un alto efecto bactericida, virucida, y fungicida.

Con la llegada de la pandemia provocada por el covid-19 los consumidores cambiaron sus preferencias a la hora de elegir sus alimentos, inclinándose por aquellos que tengan en su etiqueta “natural, sin conservantes”, en el caso de las bebidas aumentó la demanda de jugos cítricos debido a su contenido de vitamina C, teniendo en cuenta que la conservación de los mismos requieren aditivos alimentarios o un tratamiento térmico agresivo lo cual implicaría la eliminación o disminución en vitaminas termosensibles del jugo, con estos indicios se realizó el estudio de la aplicación de nanotecnología en este tipo de bebidas.

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar el efecto conservante que tienen las nanopartículas de cobre en jugo natural de naranja, en el estudio se empleó el equipo NEC-4000 para introducir los iones en el agua empleada para la elaboración del nanojugo.

Se realizó mediciones de concentración de cobre en el agua tratada empleando el kit de medición de Cu Necon, se obtuvo dos muestras con concentraciones de 2 ppm y 4 ppm de iones de cobre, las muestras fueron almacenadas una a temperatura ambiente y la otra en refrigeración, para evaluar la influencia del cobre en la conservación del jugo se realizó un monitoreo de parámetros como pH, Brix, y análisis microbiológicos, estos análisis fueron realizados cada 6 días siendo el último análisis al día 25. Los resultados fueron favorables, obteniendo un tiempo de vida útil de 10 días para la muestra con una concentración de 2 ppm y 25 días para la muestra con 4 ppm de nanopartículas de cobre a una temperatura de 4 °C, en cuanto a los parámetros de pH en la muestra de 2 ppm se obtiene una media de 3,70 y para

4ppm una media de 3,78 no habiendo diferencia estadísticamente significativas entre ambos pH, en el caso de los grados brix su valor se mantuvo durante los 25 días de almacenamiento. A partir del análisis estadístico se obtuvieron tablas y valores donde se observa la influencia de las nanopartículas de cobre en la conservación de nuestro producto, se obtuvo un valor de p value de 0,06 en cuanto a la temperatura de almacenamiento y un valor de p value fue de 0.00 para concentración de nanopartículas de cobre, lo que nos indica que existe una diferencia significativa en ambos casos. Para el caso del tratamiento de 2 ppm de nanopartículas de cobre sin refrigeración se obtuvo una media marginal de coliformes totales de 5 en el día 1 y un valor de 34,33 en el día 25, en la muestra de 4 ppm de nanopartículas de cobre sin refrigeración en el día 1 la media marginal para coliformes totales se obtuvo un valor de 0 y en el día 25 de 13,83. En el tratamiento de 4ppm de nanopartículas de cobre a temperatura de 4°C no existió crecimiento bacteriano a lo largo del periodo de conservación, por lo cual estos resultados confirmaron que el uso de nanotecnología puede ser una alternativa para conservar este tipo de jugos y así de esta manera reemplazar el consumo de conservantes en la dieta de las personas.

Palabras clave: Nanotecnología, nanopartículas de cobre, jugo natural, conservantes.

ABSTRACT

Nanotechnology manipulates both synthetic and natural materials at the atomic and molecular level, this science has been very well received in the food industry for the conservation and/or modification of various food products, the use of nanoparticles of metals such as copper have given excellent results in food products, various studies have confirmed the bacteriostatic and antibacterial properties, which slow down the metabolism of harmful particles, prevent their subsequent development and reproduction, taking into account that this metal has been used since the beginning of humanity to extend the useful life of its food and water storage, with the advancement of technology has led to the study of its ions, which have a high bactericidal, virucidal, and fungicidal effect.

With the arrival of the pandemic caused by covid-19, consumers changed their preferences when choosing their food, leaning towards those that have "natural, without preservatives" on their label, in the case of beverages, the demand for citrus juices due to their content of vitamin C, taking into account that their conservation requires food additives or an aggressive thermal treatment which would imply the elimination or decrease in thermosensitive vitamins of the juice, with these indications the study of the application was carried out. of nanotechnology in this type of beverage.

The objective of this research work is to evaluate the preservative effect of copper nanoparticles in natural orange juice, in the study the NEC-4000 equipment was used to introduce the ions into the water used for the preparation of the nanojuice, measurements of copper concentration in the treated water using the Cu Necon measurement kit, two samples were obtained with concentrations of 2 ppm and 4 ppm of copper ions, the samples were stored one at room temperature and the other in refrigeration, to To evaluate the influence of copper on the conservation of the juice, parameters such as pH, Brix, and microbiological analysis were monitored. These analyzes were carried out every 6 days, the last analysis being on day 25. The results were favorable, obtaining a shelf life of useful life of 10 days for the sample with a concentration of 2 ppm and 25 days for the sample with 4 ppm of copper nanoparticles at a temperature of 4 °C, and As for the pH parameters, the values remained at 3.70 for the 2 ppm sample and a value of 3.78 for the 4 ppm sample. In the case of degrees Brix, its value was 14, which is maintained throughout the 25 days, for which a significant difference was not obtained in the physicochemical parameters evaluated, performing the processing of statistical data, tables and values were obtained where the influence of the ions in the conservation of our

product is observed, obtaining a significant difference in terms of storage temperature, for both samples and treatments there was no growth of molds and yeasts, in the case of the 2 ppm treatment without refrigeration, a marginal average of 5 was obtained on day 1 and a value of 34.33 for day 25, in the 4 ppm sample without refrigeration on day 1 the marginal mean has a value of 0 and on day 25 it is 13.83. In the treatment of 4 ppm at a temperature of 4°C, there was no bacterial growth throughout the conservation period, for which these results confirmed that the use of nanotechnology can be an alternative to preserve this type of juice and thus replace the consumption of preservatives in the human diet.

Keywords: Nanotechnology, copper nanoparticles, natural juice, preservatives.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	14
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
1.3 JUSTIFICACIÓN	17
1.4 OBJETIVOS	18
1.4.1 Objetivo General	18
1.4.2 Objetivo específicos	18
1.5 HIPÓTESIS	19
MARCO TEÓRICO	20
2.1 Antecedentes del consumo de Cobre	20
2.2 Presencia de cobre en los alimentos	20
2.3 Importancia del cobre en la dieta humana	21
3.4 Causas de la deficiencia de cobre	22
2.5 Propiedad antimicrobiana del cobre	22
2.6 Nanotecnología	23
2.6.1 Nanotecnología en la industria alimentaria	24
2.6.2 Aspectos legales y aspectos sanitarios e higiénicos.	25
2.6.3 Iones metálicos antibacterianos	26
2.6.3.1 Efecto antibacteriano de nanopartículas metálicas sobre cepas bacterianas resistentes a antibióticos	26
2.6.3.2 Nanopartículas ionizadas de Cobre (características, propiedad antimicrobiana)	27
2.6.4 Métodos de obtención de nanomateriales	28
2.6.4.1 Deposición química de vapor (CVD)	28
2.6.4.2 Tecnología NECON con iones	29
2.7 Métodos de conservación de jugos de frutas	30
2.7.1 Pasteurización	30

2.7.2 Refrigeración	30
2.7.3 Tecnología HPP	30
2.7.4 Conservantes usados en bebidas cítricas	31
2.8 Efectos nocivos de conservantes en la salud	32
2.9 Jugo natural de naranja	32
2.10 GENERALIDADES DE LA NARANJA	33
2.10.1 Origen	33
2.10.3 Requerimientos Agroclimáticos.	34
2.10.4 Particularidades de la naranja	34
2.10.5 Variedades de naranjas	34
2.10.6 Producción de Naranja	34
3. METODOLOGÍA	35
3. 1 Localización	35
3.2 Proceso de elaboración del jugo de naranja	36
3.5 NEC-4000	41
3.6 Fotómetro medidor de Cu	42
3.7 DETERMINACIÓN DEL pH	42
3.8 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES	42
3.8.1 Preparación de la muestra	42
3.9 EVALUACIÓN DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA	43
3.10 Procesamiento estadístico de los datos	44
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
CONCLUSIONES	50
RECOMENDACIONES	51
ANEXOS	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Formulaciones	40
Tabla 2: Prueba de efectos entre parámetros	47
Tabla 3: Sólidos Solubles	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Acción antimicrobiana del cobre.	23
Figura 2: Acción de nanopartículas de cobre.	27
Figura 3: Equipos con tecnología de iones metálicos	29
Figura 4: Imagen de ubicación de la Universidad Técnica de Machala.	33
Figura 5: Diagrama de flujo del proceso	36
Figura 6: Selección de las naranjas .	37
Figura 7: Lavado y desinfección de la fruta.	37
Figura 8: Pelado y troceado.	38
Figura 9: Extractor eléctrico.	38
Figura 10: Jugo envasado.	39
Figura 11: Jugo en refrigeración.	39
Figura 12: Jugo a temperatura ambiente.	40
Figura 13: Equipo Nec- 4000.	41
Figura 14: Mc- media pad para coliformes y E. Coli.	43
Figura 15: Mc- media pad para Mohos y levaduras.	44
Figura 16 : Medias marginales estimadas para coliformes totales.	45
Figura 17: Comparación de media de coliformes totales según la temperatura de almacenamiento.	46
Figura 18: Comparación de media de coliformes totales según la concentración de Cu	46
Figura 19: Medias marginales estimadas de pH	48
Figura 20: Valores de pH según la concentración de nanopartículas de Cu	49

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El cobre es conocido por la humanidad hace más de 10000 años, usado por las primeras civilizaciones como recipientes para la cocción de alimentos por su alta conductividad térmica, con el avance de la medicina fue empleado para esterilizar heridas, tratar dolores de cabeza e infecciones de oído y en la India se empleó recipientes de cobre para transportar agua, actualmente se sigue empleando para el tratamiento de enfermedades como la artritis (García et al., 2017).

Con el avance de la ciencia, las investigaciones dieron a conocer el poder antibacterial y antifúngico del cobre, teniendo una letalidad con un alto espectro de microorganismos patógenos. La nanotecnología y la manipulación de nanopartículas, tiene comienzo en los años 1980, en la actualidad se producen miles de nanomateriales modificados, en un caleidoscopio de sustancias, formas y tamaños los cuales se pueden utilizar en una amplia gama de productos y procesos industriales para aprovechar sus novedosas características físicas, térmicas, ópticas y biológicas. Las propiedades de las nanopartículas pueden estar definidas por la composición química, el tamaño o la forma, la estructura cristalina, la solubilidad o la adhesión de los nanomateriales, o bien, por la química, la carga o el área de la superficie (Sanchez et al., 2016).

Actualmente en la industria alimentaria se emplean nanopartículas de este y otros metales como plata, oro y zinc están siendo empleadas en la elaboración de la matriz polimérica del recubrimiento interno de envases para alimentos, otorgando una película con propiedades antioxidantes y antimicrobianas, la cual ayuda a la conservación del alimento que es depositado en el envase (Ripoll, 2015).

El elemento con mayor actividad antibacteriana en la composición de estas aleaciones es el cobre, sus iones destruyen activamente los microorganismos en contacto con el metal, ya que según diversas investigaciones los iones de cobre tienen propiedades antibacterianas y antivirales, lo que le permite penetrar en la membrana celular y alterar el metabolismo de las bacterias y virus, lo que les dificulta alimentarse y destruye su ADN. El estudio también demostró que los iones de cobre son capaces de matar incluso a *Staphylococcus aureus* y *E. coli* (Montalvo, 2019).

Los conservantes son un tipo de aditivo alimentario, junto con colorantes, emulsionantes, etc. Su tarea específica es aumentar el período de almacenamiento de los productos alimenticios, para protegerlos de los daños causados por microorganismos. En nuestro país, como en la mayoría de países del mundo, los conservantes se encuentran entre los aditivos aprobados para su uso en la industria alimentaria. Su lista y contenido cuantitativo en productos alimenticios están regulados por las normas INEN, sin embargo el principal daño que pueden causar los conservantes en los alimentos son las reacciones alérgicas, la formación de carcinógenos en el cuerpo, así como la destrucción o indigestibilidad de los nutrientes. En cuanto al momento de la digestión de los alimentos , todo es muy individual, y los aditivos alimentarios en la mayoría de los casos no influyen, aunque en algunas personas pueden provocar trastornos gastrointestinales (Ramírez, 2017).

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de conservantes en los alimentos es común, sin embargo, algunas sustancias utilizadas son nocivas para la salud humana y pueden conducir a numerosas situaciones como alergias, problemas gástricos y enfermedades más graves como el cáncer. Los conservantes se prueban en laboratorios antes de ofrecerlos al consumidor. Aun así, los efectos de estos productos, a la larga, pueden traer perjuicios, especialmente cuando se suman a otros factores, entre ellos, el sedentarismo y el estrés. Los estudios indican que el conservante benzoato de sodio y los colorantes alimentarios pueden provocar síntomas de trastorno por déficit de atención en los niños, sin embargo no se ha logrado encontrar un sustituto el cual tenga la misma eficacia para el control de microorganismos en los alimentos procesados para eliminar o reducir su aplicación, por tal razón se ha visto la necesidad de lograr una conservación que no tenga efectos sobre la salud humana mediante el uso de nanopartículas de cobre.

Según la Secretaría de Salud en el año 2016 estudios realizados a jugos de naranjas que se expenden en las calles, el 32% no son aptos para el consumo humano ya que no cumplen con los requisitos mínimos microbiológicos, este tipo de producto tiene la presencia en grandes cantidades de enterobacterias o microorganismos nocivos para la salud humana.

1.3 JUSTIFICACIÓN

Los consumidores actuales son más exigentes y buscan alimentos naturales, sin embargo, en cuanto a jugo de naranja comercial se trata, son jugos procesados con colorantes, saborizantes y conservantes, debido a su corto tiempo de vida útil y al no existir un método alternativo que reemplace estos aditivos. Con el uso de la nanotecnología nuestro trabajo tiene como objetivo ofrecer un jugo de naranja sin conservantes, ni otro tipo aditivo empleando las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas de cobre ionizadas, manteniendo la inocuidad del producto y características propias de la fruta como su valor nutricional, enfocándonos en la conservación de la vitamina C, que es extremadamente importante en las reacciones redox del cuerpo, asimilar las glándulas y fortalecer la inmunidad. En todo el mundo, en relación con la pandemia, se ha intensificado la tendencia hacia una alimentación saludable los consumidores, están prestando más atención a su salud, se esfuerza por adquirir productos para una “nutrición adecuada” con el objetivo fortalecer su inmunidad. En este sentido, está aumentando la demanda de bebidas cítricas naturales.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo General

Aplicar nanopartículas ionizadas de cobre para la conservación de jugo natural de naranja.

1.4.2 Objetivo específicos

- Evaluar el efecto antimicrobiano del cobre en la inocuidad del producto mediante análisis microbiológicos.
- Analizar la influencia de las nanopartículas de cobre sobre las propiedades físico-químicas del producto.

1.5 HIPÓTESIS

Las nanopartículas de cobre ionizadas pueden conservar el jugo de naranja sin afectar negativamente la calidad fisicoquímica.

1.5.1 Variables independientes: concentración de nanopartículas de cobre (ppm)

1.5.2 Variables dependientes: pH, °brix, Coliformes totales, coliformes fecales, mohos y levaduras.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del consumo de Cobre

En los siglos XVIII y XIX, los platos de cobre y los utensilios domésticos ocuparon un lugar importante en la vida cotidiana. Civilizaciones como los griegos, romanos, egipcios, aztecas y mayas, utilizaban el cobre en la fabricación de vasijas para preservar agua y alimentos, como también en la fabricación de instrumentos quirúrgicos y en la curación de heridas, se utilizaron utensilios de cobre ya que se mantiene su sabor por mucho más tiempo, así también se dieron cuenta que al cocinar los alimentos en estas vasijas su tiempo de cocción era más corto (Velasquez et al., 2019).

Desde los inicios de la humanidad el cobre la ha acompañado, siendo uno de los metales que, en bajas concentraciones, son esenciales para el metabolismo de las células animales y vegetales. El cobre fue utilizado durante mucho tiempo en la medicina para el tratamiento de muchas enfermedades: intoxicación del cuerpo, convulsiones, úlceras, etc. Durante las epidemias de peste y cólera, las personas que trabajaban en las minas o fábricas de cobre tenían menos probabilidades de enfermarse, estas personas también padecen menos cáncer que otras (Rivera, 2008).

Cabe señalar que el cobre es famoso por sus propiedades medicinales y se usa ampliamente en la medicina popular: En caso de un hematoma, se debe aplicar un centavo de cobre en el área dañada, luego el dolor desaparecerá y el hematoma no permanecerá, el mismo centavo de cobre de la antigüedad se calentaba a rojo, se arrojaba al agua y se dejaba beber a un paciente con fiebre. En el siglo XX previo a la era antibiótica, diferentes compuestos químicos de cobre fueron utilizados en el tratamiento de patologías infecciosas, como impétigo, tuberculosis y sífilis. (Hernández et al., 2020).

2.2 Presencia de cobre en los alimentos

El desarrollo de la tecnología ha permitido enriquecer alimentos con cobre, sin embargo este micronutriente se encuentra de forma natural en muchos alimentos, las mejores fuentes de cobre son el hígado, el cacao en polvo, la carne, los cereales integrales, las semillas, las nueces, el trigo sarraceno, el pan de centeno, el salmón, los aguacates, la remolacha, mariscos,

los espárragos, la soja, los granos de trigo germinados, las papas y los productos hechos con harina de centeno. Otras excelentes fuentes de cobre son las acelgas, las espinacas, el repollo, la berenjena, los guisantes, la remolacha, las aceitunas y las lentejas (Lugo, 2017).

2.3 Importancia del cobre en la dieta humana

El cobre es uno de los oligoelementos esenciales (vitales) más importantes. En el cuerpo de un adulto, el contenido de cobre es de aproximadamente 50-120 mg, mientras que aproximadamente el 60% de todo el cobre se encuentra en los músculos y huesos, el otro porcentaje en el hígado y otros órganos (Lugo, 2017).

El papel del cobre en el organismo es amplio. En primer lugar, participa activamente en la construcción de muchas proteínas y enzimas que necesitamos (ascorbinasa, tirosinasa, citocromo oxidasa, superóxido dismutasa), así como en los procesos de crecimiento y desarrollo de células y tejidos (Quispe et al., 2017).

Participa en la síntesis de colágeno, que es necesario para la formación de la estructura proteica de los huesos esqueléticos, el cobre hace que nuestros huesos estén sanos y fuertes. Para las personas con huesos frágiles y propensas a las fracturas, a menudo es suficiente agregar suplementos de cobre a la dieta, y las fracturas se detienen, ya que los minerales dejan de eliminarse, el tejido óseo se fortalece y se previene el desarrollo de osteoporosis. Gracias al cobre, nuestros vasos sanguíneos toman la forma correcta, permaneciendo fuertes y elásticos durante mucho tiempo. El cobre promueve la formación de elastina, un tejido conectivo que forma una capa interna que sirve como marco vascular. Junto con el ácido ascórbico, el cobre mantiene activo el sistema inmunológico, ayudando a proteger al cuerpo de infecciones (Unger & Barbará, 2008).

Las enzimas responsables de proteger al organismo de los radicales libres también contienen cobre. El cobre es importante para mantener a la enzima superóxido dismutasa, la cual posee un poderoso efecto antioxidante, su función es evitar el envejecimiento prematuro de la piel; así también mantiene la integridad de las células, por lo que a menudo se incluye en los cosméticos antienvjecimientos más eficaces. La firmeza y elasticidad de la piel se mantiene con la ayuda del colágeno, también contiene cobre. El cobre es de gran importancia para la hematopoyesis, es uno de los elementos que sintetizan los eritrocitos y leucocitos. El cobre también está involucrado en el transporte de hierro, y si no hay suficiente cobre, el hierro se acumulará donde no se necesita (Suarez et al., 2019).

3.4 Causas de la deficiencia de cobre

- **Congénito** (síndrome de Menkes) es una enfermedad que se caracteriza por presentar anomalías del tejido conectivo (cabello rizado).

Una enfermedad asociada con una mutación del gen ATP7A, que es responsable de la producción de adenosina trifosfatasa, que participa en el transporte de cobre desde el enterocito a la sangre.

- **Adquirido**

Causas:

1. Mala alimentación.
2. Ingesta excesiva de zinc (suplementos dietéticos, retenedores de dentaduras postizas, alteración del gusto)
3. Deterioro de la absorción de cobre (resección del estómago, intestino delgado)
4. Etiología poco clara

La anemia asociada con la deficiencia de cobre se encontró en el 20% de los pacientes con un diagnóstico previamente establecido de anemia por deficiencia de B12 y que recibían el tratamiento adecuado. La deficiencia de cobre se puede asociar con la deficiencia de vitamina B12 (Feoktistova & Clark, 2018).

2.5 Propiedad antimicrobiana del cobre

Las bacterias, levaduras y virus mueren rápidamente en superficies metálicas de cobre, y se ha acuñado el término muerte por contacto para este proceso. Si bien el fenómeno ya se conocía en la antigüedad, actualmente está recibiendo una atención renovada. Esto se debe al uso potencial del cobre como material antibacteriano en entornos de atención médica. Se observó que la muerte por contacto tenía lugar a una velocidad de al menos 7 a 8 logaritmos por hora, y generalmente no se recuperaron microorganismos vivos de las superficies de cobre después de una incubación prolongada. La actividad antimicrobiana del cobre y las aleaciones de cobre está ahora bien establecida, y el cobre se ha registrado recientemente en la Agencia de Protección Ambiental de EE. UU. como el primer material antimicrobiano sólido (Grass et al., 2011).

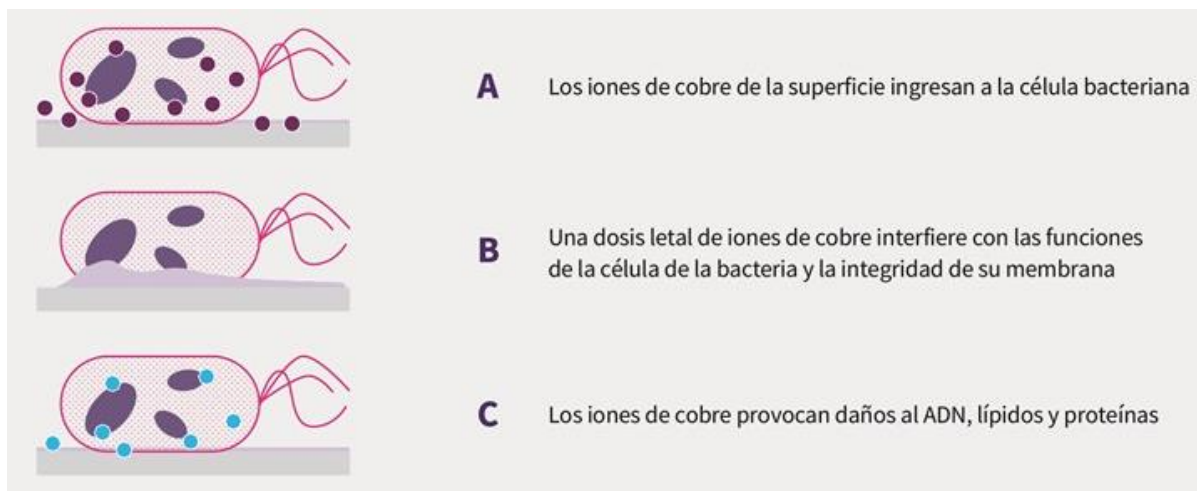


Figura 1: Acción antimicrobiana del cobre.

Fuente: Taracena, R. (2021).

En la figura 1 podemos observar que cuando la bacteria entra en contacto con el cobre, los iones del mismo ingresan a la célula, afecta a su integridad y provoca el derrame de líquidos vitales y daños en su ADN. Para la aplicación y el uso específico de la propiedad antimicrobiana del Cu, se deben establecer las condiciones límite físico-químicas, así como las interacciones entre los organismos objetivo, el estado físico dominante del medio circundante y las propiedades técnicas del material. Para entornos acuosos como el agua potable según los conocimientos actuales, la eficacia antimicrobiana depende de la concentración de iones de cobre. Para la eliminación de los gérmenes o su supresión los iones de cobre deben estar presentes en cantidades suficientes (Améstica, 2015).

2.6 Nanotecnología

La nanotecnología es un área de la ciencia y la tecnología relativamente nueva que se ha desarrollado activamente en las últimas décadas. La nanotecnología incluye la creación y uso de materiales, dispositivos y sistemas técnicos, cuyo funcionamiento está determinado por la nanoestructura, es decir, sus fragmentos ordenados que varían en tamaño de 1 a 100 nanómetros (Foladori, 2016).

El término "nanotecnología" fue acuñado en 1974 por Norio Taniguchi, profesor de ciencia de los materiales en la Universidad de Tokio, quien lo definió como "una tecnología de fabricación que logra una precisión ultra alta y dimensiones ultrapequeñas del orden de 1 nm. El prefijo "nano", que proviene del idioma griego ("nanos" en griego - gnomo), significa una mil millonésima. Un nanómetro (nm) es una mil millonésima parte de un metro.

Según la recomendación de la VII Conferencia Internacional de Nanotecnología (Galera, A. 2015), se distinguen los siguientes tipos de nanomateriales:

- estructuras nanoporosas;
- nanopartículas;
- nanotubos y nanofibras
- nanodispersiones (coloides);
- superficies y películas nanoestructuradas;
- nanocristales y nanoclusters.

2.6.1 Nanotecnología en la industria alimentaria

La nanotecnología se utiliza para lograr cambios importantes en prácticamente todas las industrias, lo que le permite controlar características de un material como: tamaño, forma, morfología, composición química y configuración molecular para mejorar o desarrollar nuevos procesos y propiedades del producto. En la industria alimentaria, se pueden identificar tres categorías principales de aplicación de la nanotecnología y los nanomateriales, a saber, producción agrícola (agroquímicos y piensos), industria alimentaria (ingredientes a nanoescala, aditivos, aditivos alimentarios y alimentos funcionales), materiales en contacto con alimentos (Ojeda et al., 2019).

Según la terminología científica generalmente aceptada, un producto puede denominarse “nanoproducto” si se utilizan nanopartículas, desarrollos nanotecnológicos y herramientas en su crecimiento, producción, procesamiento o envasado. Los desarrolladores de nanoproductos prometen una fabricación y envasado mejorados de productos alimenticios, su sabor mejorado y nuevas propiedades nutricionales, y también se espera la producción de productos " funcionales " (el producto contendrá nutrientes medicinales o adicionales). Los nanoproductos se han relacionado con una mayor productividad y menores precios de los alimentos. En un par de décadas, el uso de nanoproductos será omnipresente (Jaimes et al., 2017).

Los métodos de su uso para los productos alimenticios son fundamentalmente diferentes:

- nano inside (usar directamente en la composición del producto como aditivo o componente funcional);
- nano exterior (el uso de nanomateriales como material de embalaje o como necesidades básicas).

En la última área nombrada, hay perspectivas de innovación: por ejemplo, el uso de nano colorantes, nitrito de nano titanio, óxido de nano titanio y nano plata. Estos materiales amplían las posibilidades de utilizar materiales artificiales, incluso en la dirección de mejorar la calidad de los productos alimenticios envasados.

Con los distintos métodos de aplicación se han obtenido resultados intermedios de la aplicación de esta nueva tecnología:

- El "nanoenvasado" de alimentos es inofensivo y útil para los alimentos y, por tanto, para la salud humana;
- El uso de nanopartículas en productos alimenticios permitirá asimilar y digerir rápidamente los alimentos, lo que tendrá un efecto beneficioso sobre la salud humana;
- Cambiar la composición de los alimentos consumidos por una persona con la ayuda de nanopartículas le permitirá controlar el contenido de sustancias nocivas y beneficiosas que contiene.

2.6.2 Aspectos legales y aspectos sanitarios e higiénicos.

Actualmente no existen documentos reglamentarios que regulen el uso de la nanotecnología en las industrias alimentaria y cosmética, así también no existen leyes que establezcan requisitos para pruebas específicas para nanopartículas, e incluso no se proporciona normas que regulen y se declare el uso de esta tecnología en el etiquetado de nanoproductos, incluidos los productos alimenticios. Sin embargo organizaciones gubernamentales y no gubernamentales de diferentes países se han sumado activamente a la discusión de que se incluya normas que regulen el uso de esta tecnología (Fúnez et al., 2016).

En la Federación de Rusia, las recomendaciones metodológicas “Control de nanomateriales en productos alimenticios” fueron desarrolladas y aprobadas en junio de 2011 por el Médico Sanitario Jefe del Estado de la Federación de Rusia, G.G. Onishchenko. Dicen que para los productos alimenticios producidos mediante nanotecnología y que contengan nanopartículas o nanomateriales, se recomienda poner información en la etiqueta “fabricado con nanotecnología (nanomateriales) "o" contiene nanomateriales”. Aclarando que, esto no significa que las recomendaciones se implementarán. Por otro lado algunos expertos aseguran que no es necesario crear una normativa para la regularización de la nanotecnología ya que la legislación Europea es suficiente para cubrir las preocupaciones con los nanoproductos (Noormans, 2010).

2.6.3 Iones metálicos antibacterianos

La investigación moderna ha demostrado que los iones metálicos tienen un buen efecto de inhibición y eliminación de bacterias y no dañan el cuerpo humano. Los iones de metales tienen un efecto bactericida, antiséptico y antifúngico y, por lo tanto, sirven como un medio eficaz de desinfección en relación con los microorganismos patógenos que son los agentes causantes de diversas infecciones. Los iones metálicos más eficaces son las nanopartículas de cobre, plata y oro, las nanopartículas de cobre tienen la actividad antibacteriana más alta, mientras que las nanopartículas de oro tienen la más baja.(Cáceres, 2018).

Los iones de plata, debido a sus características físicas, son fácilmente absorbidos por la membrana celular de la bacteria, penetrando en la misma y alterando sus funciones vitales, sin embargo, también lo incapacita de su función de división, es decir, es privada de la posibilidad de reproducción si es expuesta a un ambiente en el que están presentes iones de plata. También vale la pena señalar el papel de la plata en el cuerpo humano como un oligoelemento importante, ya que es necesario para el funcionamiento saludable de los sistemas y órganos, y se distingue por sus propiedades inmuno correctivas (Gómez, 2013).

2.6.3.1 Efecto antibacteriano de nanopartículas metálicas sobre cepas bacterianas resistentes a antibióticos

En el año 2017 la OMS dio a conocer que la gama de antibióticos actuales es insuficiente para combatir las especies de bacterias sobre todo las gram negativas, por lo cual se necesita con urgencia la innovación y creación de antibióticos más eficaces, motivando así la investigación y desarrollo de nuevas alternativas.

Los microorganismos han mutado y han logrado desarrollar resistencia a los medicamentos antibacterianos/ antibióticos modernos, por lo cual se requiere la búsqueda de nuevos métodos alternativos de tratamiento para estas bacterias las cuales son causantes de infecciones graves y representan un peligro para la salud pública. La penicilina y otros antibióticos a veces son inútiles en comparación con los iones de plata en relación con algunas cepas. Por lo tanto, los iones de plata tienen una amplia gama de acciones útiles para nosotros, desde bactericidas (eliminar microbios) hasta bacteriostáticos lo cual evita su reproducción (Pumacayo et al., 2021).

El mecanismo de acción antibacteriano de las nanopartículas depende tanto del tipo de microorganismos que se ven afectados, como del tipo de nanopartículas, su concentración,

tamaño y también del método de su preparación. Los científicos esperan que sus resultados ayuden a crear fármacos basados en nanopartículas de plata para combatir las llamadas "superbacterias" y así eliminar bacterias resistentes a los antibióticos convencionales que en los últimos años se han convertido en una verdadera amenaza para la salud pública a escala mundial (Cedano., 2018).

2.6.3.2 Nanopartículas ionizadas de Cobre (características, propiedad antimicrobiana)

Los iones de cobre son considerados nanopartículas ya que tienen un tamaño promedio de 100 ± 25 nanómetros (Pacheco, 2013). Los iones metálicos se han utilizado durante mucho tiempo como agentes antimicrobianos altamente eficaces y se utilizan en muchos productos comerciales comunes, incluidos vendajes, filtros de agua, pinturas, etc. Los potenciadores muestran excelentes propiedades antimicrobianas e inmunomoduladoras, y las bacterias parecen encontrar muy difícil desarrollar resistencia contra ellos (Ramirez, 2016).

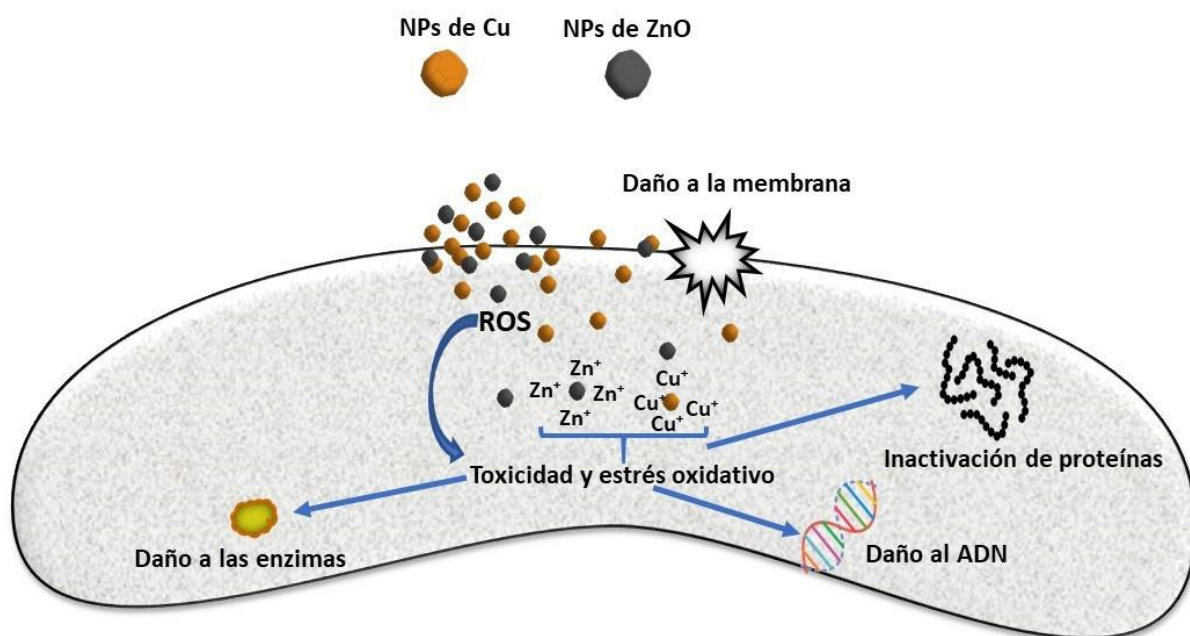


Figura 2: Acción de nanopartículas de cobre.

Fuente: Hermida & Pariona (2018).

En la figura 2 se ilustra la actividad de las nanopartículas de cobre, según el estudio de Hermida y Pariona (2018) la acción de los iones se focaliza en un daño a la membrana y provoca un estrés oxidativo dentro la membrana celular, así como un daño en las enzimas, inactivación de proteínas y daño en el ADN. Uno de los desarrolladores del tejido InCopper explican su acción de forma similar, "los iones de cobre tienen propiedades antibacterianas y antivirales, las cuales les permiten penetrar en la membrana celular, se desencadenan la

producción de estrés oxidativo (ROS), lo que finalmente daña el ADN y las proteínas, cambiando el metabolismo de las bacterias dañinas hasta destruirlas". Los iones de cobre son tanto antibacterianos como antivirales, capaces de matar más del 99,9% de las bacterias en solo dos horas. El cobre es incluso más eficaz que la plata, que necesita humedad para activar sus propiedades antimicrobianas (Jaimes et al., 2017).

El producto de nanopartículas ionizadas tiene una ventaja sobre los alimentos convencionales. Debido a la superficie especial en combinación con su pequeño tamaño (una millonésima de metro), la nanopartícula es absorbida más rápidamente por el cuerpo, lo que tiene un efecto beneficioso sobre el estado funcional del sistema digestivo. El uso de tales nanopartículas en la composición de preparaciones de vitaminas y suplementos minerales "obligará" a todos los órganos a trabajar más rápido, lo que finalmente conducirá al rejuvenecimiento de todo el organismo (Jaimes et al., 2017).

2.6.4 Métodos de obtención de nanomateriales

Existen métodos químicos y físicos para la obtención de nanomateriales metálicos. Los nanomateriales obtenidos por métodos químicos casi siempre no tienen la mejor "pureza" de los compuestos químicos iniciales. Esto hace que sea problemático usarlos en industrias con ciertos requisitos para la pureza de los materiales, incluido el complejo agroindustrial. Por lo tanto, las más aceptables para este tipo de industrias son las nanotecnologías basadas en el uso de fenómenos físicos.

Los métodos físicos para la obtención de nanomateriales metálicos son propiedad de una pequeña parte de empresas manufactureras, con la ayuda de nanotecnologías explosivas de erosión. Hasta la fecha, sobre la base de metales como Au, Ag, Cu, Co, Mn, Mg, Zn, Mo, Fe, se han obtenido especificaciones técnicas y se ha establecido su producción.

2.6.4.1 Deposición química de vapor (CVD)

Es un proceso químico que se utiliza para obtener materiales sólidos, de alta calidad y alto rendimiento. Aquí, uno o más precursores volátiles se transportan a través de la fase de vapor a la cámara de reacción, donde se descomponen sobre un sustrato calentado (Borja & Oviedo, 2020).

2.6.4.2 Tecnología NECON con iones



Figura 3: Equipos con tecnología de iones metálicos

Fuente: NECON GmbH (2019).

La empresa NECON es un fabricante de equipos y proveedor global en el campo del tratamiento de agua y desinfección libre de químicos como ilustra la figura 3 los equipos NEC-9000 y NEC-4000 son expendidos en el mercado actualmente. El objetivo de esta empresa es proporcionar una alternativa de desinfección segura, respetuosa con la salud de los consumidores y más duradera, eliminando el uso de productos químicos peligrosos. El "sistema NECON" patentado tiene como principio la desinfección electrofísica. En repetidas ocasiones, NECON ha sido galardonado con I + D, así como con proyectos de desarrollo cofinanciados por instituciones gubernamentales (Gebhardt,2018).

En el año 2018 la Universidad de Piura (Perú) recomendó el proceso NECON para el tratamiento de agua potable, así como agua de proceso en lavado de frutas y cualquier otra aplicación que requiera la eliminación de bacterias, hongos. El laboratorio de la universidad está oficialmente acreditado para certificaciones nacionales; como resultado, el uso de desinfección de agua NECON está aprobado para su uso en todos los suministros de bebida del país, con vigencia inmediata. Así también, en el mismo año la dirección de la escuela de formación profesional SENATI en Talara confirma el uso del tratamiento de agua NECON

durante más de un año "con excelentes resultados" en la provisión de agua potable para los estudiantes de formación profesional (Gebhardt,2018).

NECON brinda una amplia gama de equipos para su aplicación en la desinfección iónica, haciendo énfasis en que su sistema funciona de forma automática.

2.7 Métodos de conservación de jugos de frutas

2.7.1 Pasteurización

La forma más sencilla y clásica de conservar los zumos es calentarlos a temperaturas inferiores a 100 ° C. Durante la pasteurización, además de suprimir el crecimiento y desarrollo de microorganismos, se produce la inactivación de complejos proteicos de enzimas, principalmente fenolasa. La temperatura óptima de pasteurización es de 90 ° C, ya que cuando se sobrepasa se intensifican las reacciones de formación de melanoïdes, dando lugar a la aparición de un sabor específico y una disminución de la calidad del jugo. En escala industrial la pasteurización del jugo se realiza en varios tipos de intercambiadores de calor: campanas cónicas, intercambiadores de calor de placas o tubulares (Gutierrez, 2018).

Se debe tomar en cuenta que la concentración de iones de hidrógeno (pH) es de particular importancia. A pH bajo, se altera el metabolismo normal de los microorganismos, lo que reduce su resistencia al calor.

2.7.2 Refrigeración

Se basa en el hecho de que a bajas temperaturas el desarrollo de microorganismos se detiene y la actividad de los procesos enzimáticos disminuye, por lo tanto, puede usarse para el almacenamiento a corto plazo de jugos semiacabados o para consumo de hogar.(Gramajo, 2019).

2.7.3 Tecnología HPP

Es un método moderno y costoso de conservación de alimentos mediante alta presión, por lo que se reduce el número de microorganismos. Esta tecnología se utiliza a escala industrial en muchos países, incluida Polonia. Sus principales ventajas son, entre otras, la prolongación de la vida útil, la conservación del valor nutricional, la frescura y el sabor, la eliminación de patógenos y la garantía de la seguridad del consumidor. Se utiliza como una

alternativa natural a los métodos tradicionales de conservación de alimentos a escala industrial (Gramajo, 2019).

2.7.4 Conservantes usados en bebidas cítricas

La conservación de zumo de naranja y otros alimentos se puede lograr mediante baja temperatura, pero solo por un corto período de tiempo. Para prolongar su vida útil, conservantes químicos de alimentos, tales como benzoato de sodio, sorbato de potasio y sus mezclas, se han utilizado durante mucho tiempo. Sin embargo, el consumo excesivo de estos conservantes químicos puede ser peligroso para la salud humana (Yang et al., 2017).

El benzoato de sodio es una sal de ácido benzoico que se encuentra con fórmula química $C_7H_5NaO_2$, y es una sal blanca, inodoro en cristalino, y se encuentra en forma de polvo o grano. Este compuesto se disuelve fácilmente en agua, pero apenas se disuelve en etanol. Su peso molecular es 114.11 y su solubilidad se mejora al aumentar la temperatura del agua. El porcentaje de este compuesto es seco y la cantidad de ácido benzoico es 84,7% y se especifica en productos alimenticios por E-211. El benzoato de sodio fue el primer conservante permitido por la FDA para su uso en productos alimenticios. La actividad antimicrobiana del benzoato está relacionada con el pH, por lo que la mayor parte de su actividad ocurre a pH bajo. Es antimicrobiano y la actividad se debe a la molécula intacta. Estos compuestos son ineficaces en pH neutro. El pH del benzoato es equivalente a 4,2 (Shahmohammadi et al., 2016).

En productos alimenticios como zumos de frutas, el benzoato en concentraciones de hasta el 1% provoca un sabor indeseable, este sabor se llama pepperoni o picante. El benzoato de sodio es utilizado por vía oral (comer y beber alimentos y bebidas) y a través de la piel (uso de benzoato en cosméticos, sanitarios y farmacéuticos) del cuerpo del consumidor. El comité conjunto de la organización mundial de la salud y organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación sobre aditivos alimentarios (JECFA) informó un límite en la cantidad de benzoato de sodio, que fue de 0-5 mg / kg (15, 16). En Europa, esta cantidad es del 0,015 al 0,5% y en América e Irán esta cantidad es 0.1%. El benzoato de sodio se utiliza principalmente como conservante en margarina, aderezos para ensaladas, adobos, sidra, refrescos, encurtidos, ensalada de frutas, obleas, productos de panadería, mermeladas, jaleas, jugos, galletas, tortas y pasta de tomate. También hay informes sobre el uso de esta sustancia en vino, cerveza y aceitunas. El benzoato de sodio es detectable en los alimentos en el

laboratorio mediante un espectrofotómetro a una longitud de onda de 224 nm (Shahmohammadi et al., 2016).

2.8 Efectos nocivos de conservantes en la salud

Los conservantes son los compuestos que se utilizan para prevenir y retrasar el deterioro microbiano de los alimentos. Se define al conservante como una sustancia que cuando se agrega a los alimentos es capaz de inhibir, retardar o detener el proceso de fermentación, acidificación u otra descomposición de los alimentos. Algunos de los aditivos alimentarios y conservantes de uso común son silicato de aluminio, compuestos de aminoácidos, carbonatos de amonio, nitrato de sodio, azúcar blanco, sal, bromato de potasio, sorbato de potasio y benzoato de sodio. (Mirza et al., 2017).

La creciente demanda de productos alimenticios frescos listos para consumir ha generado desafíos para los distribuidores de alimentos con respecto a la seguridad y la calidad de sus alimentos. Los conservantes artificiales resuelven algunos de estos desafíos al preservar la frescura para períodos de tiempo más largos, pero estos conservantes también pueden causar efectos secundarios negativos. Nitrito de sodio es un conservante utilizado en fiambres, jamones, salchichas, salchichas y tocino para prevenir el botulismo cumple la importante función de controlar las bacterias que causan el botulismo, pero el nitrito de sodio puede reaccionar con proteínas, o durante la cocción a altas temperaturas, para formar N-nitrosaminas cancerígenas. Los alimentos que contenían benzoato están estrictamente abandonados para los pacientes con asma porque empeoran la afección. También se ha informado que los benzoatos causan rinitis, urticaria crónica y enrojecimiento en algunos casos con vitamina C o ácido ascórbico. Aunque la cantidad de benceno es baja, es un factor de riesgo para causar cáncer. También se informa que los benzoatos pueden causar daño cerebral. Los sorbatos pueden causar urticaria y dermatitis de contacto en algunos casos. (Samal et al., 2017)

2.9 Jugo natural de naranja

Como otras frutas, las naranjas son alimentos perecederos. Por lo tanto, para alargar la vida útil del jugo, es necesario emplear un método de conservación como refrigeración de esta forma logramos ralentizar la actividad enzimática y microbiana. La conservación de un jugo natural varía entre los dos y tres días en refrigeración desde el momento en que se exprime.

Según la norma INEN 2 337 la bebida debe tener en su composición un mínimo de 10% m/m de jugo puro de fruta. La bebida de naranja es un producto alimenticio líquido que se elabora exprimiendo el líquido de las naranjas frescas . Es rico en vitaminas (especialmente ácido ascórbico). Además, el término "jugo de naranja" se utiliza para denominar así a la bebida popular la cual se elabora en casa y en su composición tiene agua y azúcar, este término también se emplea en el comercio cuando se trata de "Jugo de naranja elaborado a partir de concentrado".

2.10 GENERALIDADES DE LA NARANJA

2.10.1 Origen

La naranja dulce (*Citrus sinensis*) se considera uno de los árboles frutales más antiguos del mundo. La primera descripción de una naranja se encuentra en las obras del antiguo filósofo y naturalista griego Teofrasto, ya en 350 años antes de Cristo. Los antiguos griegos lo conocieron durante la campaña de Alejandro Magno a la India, donde, se cree, se trajeron los frutos de China. Según la mayoría de los investigadores, China es el lugar de nacimiento de la naranja. Los frutos del naranjo también llegaron a Europa desde China, fueron traídos por los navegantes portugueses a finales del siglo XVI. La naranja es una forma híbrida, obtenida en la antigüedad al cruzar especies de cítricos como la mandarina (*Citrus reticulata*) y el pomelo (*Citrus maxima*). (Ibanez et al., 2015)

2.10.2 Características de la planta de naranja

El naranjo es de hoja perenne, con una copa compacta y densa; las ramas y los brotes jóvenes tienen espinas. Los tamaños dependen en gran medida de la variedad, las formas altas pueden alcanzar los 12 metros, injertadas de 4-6 metros. El sistema radicular es superficial, tiene una serie de características que hay que tener en cuenta a la hora de cultivarlo. Entonces, a diferencia de otros árboles frutales, no hay pelos de raíz en las raíces de una naranja, a través del cual generalmente se absorben la humedad y los nutrientes. En cambio, en las puntas de las raíces hay casos con colonias de hongos del suelo que existen en simbiosis con la planta. (Ancillo et al., 2014)

2.10.3 Requerimientos Agroclimáticos.

Los rangos de temperatura para un buen desarrollo de la planta van de 13 °C y 30 °C, la óptima es de 23 °C, la temperatura no debe ser baja ni muy elevada debido a que afectaría al desarrollo de las plantas. Requieren de alturas superiores a los 500 msnm, con precipitaciones de 1200 a 1500 mm por año. (Vera et al., 2012)

2.10.4 Particularidades de la naranja

Debido a la presencia de un complejo de vitaminas y otras sustancias biológicamente activas en las naranjas, estos cítricos se recomiendan para la prevención y el tratamiento de la hipovitaminosis, enfermedades del hígado, corazón y vasos sanguíneos, trastornos metabólicos. Las pectinas que se encuentran en las naranjas ayudan al proceso de digestión.

2.10.5 Variedades de naranjas

Algunas de las variedades de naranjas más conocidas en el mundo tenemos: Navelina, valencia seedless, parent washington, salusti, temprana, midnight, delta seedless, lane late, newhall, valencia late, valencia frost, lue ging gong, fukumoto, el amanecer. (Garavello et al., 2019).

Las variedades que se cultivan en Ecuador son la washington, thompson. naranja agria, lima pomelo y de las valencia tardía común y delta, siendo la de mayor aceptabilidad la valencia común gracias a su alto contenido de azúcares. (Campelo, 2020).

2.10.6 Producción de Naranja

Ecuador tiene una superficie dedicada al cultivo de naranja de 16 120 ha, de las cuales solo son cosechadas 14 234 ha las mismas que producen 146 159 t dando un rendimiento de 10,27 t/ha. (MAG, 2020)

2.10.7 Producción de naranja en la provincia de El Oro

La superficie de suelo dedicado al cultivo de naranja en la provincia de El Oro es de 93 ha, las cuales producen 410 toneladas con un rendimiento por hectárea de 4,4 t/ha. (MAG, 2020).

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

3.1 Localización

La investigación experimental de conservación de jugo natural de naranja con iones de cobre se la llevó a cabo en el laboratorio de Electroanalítica y Bioenergía en la Facultad de ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala, ubicada en la ciudad de Machala provincia de El Oro como se observa en la Figura 4.



Figura 4: Imagen de ubicación de la Universidad Técnica de Machala.

Fuente: Google Maps, 2021.

3.2 Proceso de elaboración del jugo de naranja

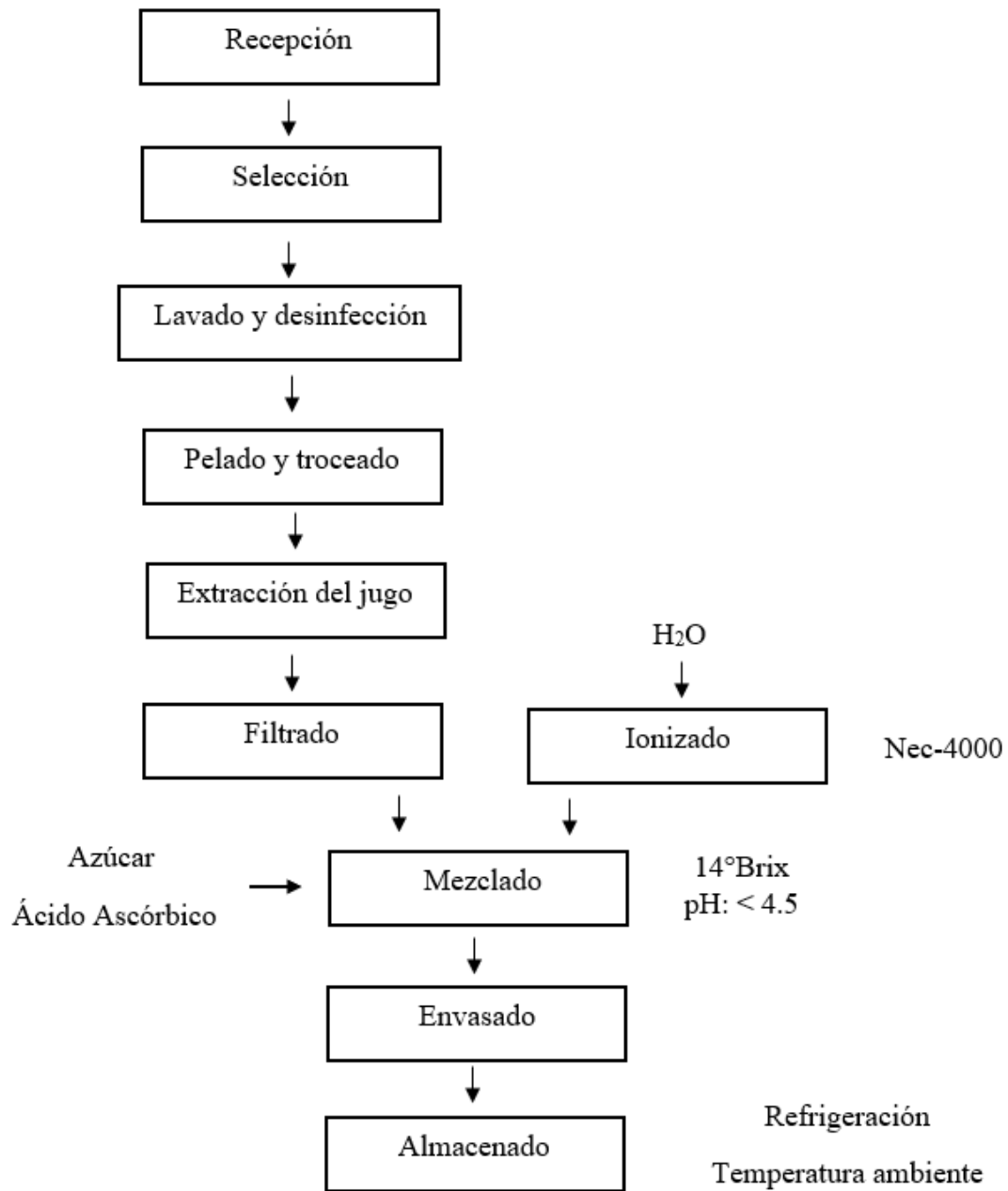


Figura 5: Diagrama de flujo del proceso

Fuente: Los autores

3.3 DESCRIPCIÓN DEL DIAGRAMA DE FLUJO

3.3.1 Recepción: Se receipta la materia prima

3.3.2 Selección: Se seleccionan las naranjas que se encuentren en buen estado, se descarta la fruta verde y muy madura o que presente daños físicos.

En la figura 6 se muestran las naranjas óptimas para la elaboración del nanojugo.



Figura 6: Selección de las naranjas.

Fuente: Los autores

3.3.3 Lavado y desinfección: Para la desinfección de nuestras naranjas empleamos un sanitizante STAR- BAC, preparamos una solución al 0.1% se realiza con la finalidad de eliminar bacterias superficiales y suciedad de la fruta.

En la figura 7 observamos el proceso de lavado y desinfección de las naranjas.



Figura 7: Lavado y desinfección de la fruta.

Fuente: Los autores

3.3.4 Pelado y troceado: Se procedió a pelar y cortar la fruta a la mitad para facilitar el manejo y la extracción del jugo.

En la figura 8 apreciamos el pelado y troceado de las naranjas



Figura 8: Pelado y troceado

Fuente: Los autores

3.3.5 Extracción del jugo: En esta operación utilizamos un extractor eléctrico para exprimir las naranjas.

En la figura 9 mostramos el extractor eléctrico usado en proceso.



Figura 9: Extractor eléctrico

Fuente: Catálogo Umco

3.3.6 Filtrado: El jugo pasa por un filtro con la finalidad de separar el líquido de las semillas y otras partes sólidas.

3.3.7 Ionizado: Para esta operación utilizamos el equipo NEC- 4000 el cual debe estar calibrado para liberar el flujo con una concentración de 8 ppm de Cu en agua potable, la cual se corrobora con el medidor de Cu.

3.3.8 Mezclado: En esta operación se mezcla el zumo de naranja con el agua tratada en la operación anterior, se realizaron los respectivos cálculos de concentración para obtener las muestras de 4 ppm y 2 ppm.

3.3.9 Envasado: se coloca el jugo en envases de vidrio, los cuales previamente deben ser lavados y esterilizados, al llenar los envases se deja un espacio al cual se lo conoce como espacio de cabeza.

En la figura 10 ilustramos el jugo de naranja natural envasado en botellas de vidrio con capacidad de 50 mililitros.



Figura 10: Jugo envasado

Fuente: Los autores

3.3.10 Almacenado: se realizan dos tipos de almacenamiento, el primero a temperatura ambiente y el segundo a una temperatura de 4°C todos durante un tiempo de 25 días.

En la figura 11 se observa el producto envasado y puesto en refrigeración a 4°C.



Figura 11: Jugo en refrigeración

Fuente: Los autores

En la figura 12 se observa las muestras de 2 y 4 ppm envasadas y colocadas al ambiente (sin refrigeración).



Figura 12: Jugo a temperatura ambiente

Fuente: Los autores

A continuación la tabla 1 presenta las formulaciones según la concentración de nanopartículas de cobre y el tipo de almacenamiento.

Tratamiento	Concentraciones	Tipo de almacenamiento
2A	2ppm	Refrigeración (4°C)
2B	2ppm	Temperatura ambiente
4A	4ppm	Refrigeración (4°C)
4B	4ppm	Temperatura ambiente

Tabla 1. Formulaciones

Fuente: Los autores

3.5 NEC-4000

Para introducir los iones cobre en nuestro producto, utilizaremos los sistemas de NECON, en la figura 13 se observa el equipo Nec-4000 el cual consiste en una unidad electrónica controlada por microprocesador de última generación y los electrodos de desinfección. El agua a tratar pasa a través de una celda de tratamiento especialmente diseñada que contiene los electrodos. Una corriente continua baja y controlada activa los electrodos, lo que los impulsa a descargar iones de cobre (Cu).



Figura 13: Equipo Nec- 4000

Fuente: NECON GmbH (2019).

El equipo NEC-4000 nos brinda la facilidad de regular la concentración de iones, aprovechando las bondades del equipo, se plantea el uso de un diseño factorial 2^k , considerando variables independientes a la concentración de iones de cobre (2 - 4 ppm) y al tiempo de exposición controlada de la muestra (jugo de naranja) a la corriente continua, tal como se muestra en la tabla 1. Se plantea como variables dependientes la calidad microbiológica, las propiedades físico-químicas.

3.6 Fotómetro medidor de Cu

Para la medición de las concentraciones de cobre en nuestro producto se empleó un fotómetro de NECON, el cual es un kit de medición manual, nos brinda una lectura rápida de la concentración de cobre presente en una solución, es un instrumento de medición fotométrica.

La técnica consiste en colocar una muestra de la solución tratada (con iones de Cu) en la celda de vidrio, posteriormente se coloca una de las tabletas reactivo que incluye el kit, se disuelve en la solución, dependiendo de la concentración de Cu el color varía de un rosa pálido a un fucsia. Una vez disuelta la tableta en su totalidad se la coloca en el fotómetro y el equipo arroja los resultados en concentraciones de ppm.

3.7 DETERMINACIÓN DEL pH

Para la determinación del pH se utilizó un medidor de pH de mesa Boeco modelo BT-675, este procedimiento se realizó para todos los tratamientos, con la finalidad de observar si con la aplicación de las nanopartículas de cobre existía un cambio en el pH del jugo.

3.7.1 Preparación de la muestra

Para la preparación de la muestra se tomó 25 ml del nanojugo la cual debe estar a una temperatura de 25 °C y se colocó en una celda de vidrio, se procedió a introducir el electrodo de vidrio del equipo y se esperó el resultado arrojado en la pantalla digital del equipo.

3.8 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES

El método usado para la determinación de sólidos solubles es el descrito en NTE INEN 380, se aplicó este método con el fin de mantener esta propiedad físico-química acorde a la norma NTE INEN 2337.

3.8.1 Preparación de la muestra

Para la preparación de la muestra se tomó 0.1 ml del nanojugo la cual debe estar a una temperatura de 25 °C y se colocó en el prima del equipo, se cerró la tapa y se esperó el resultado observando a través del lente la línea horizonte.

3.9 EVALUACIÓN DE CALIDAD MICROBIOLÓGICA

Se evaluó el efecto que tiene el cobre sobre coliformes, coliformes fecales, mohos y levaduras, se utilizó MC-MEDIA PAD la cual está diseñada para realizar pruebas prácticas y rápidas de organismos indicadores en productos alimenticios y bebidas.

Constan de unas almohadillas que poseen un medio de cultivo y sustratos cromogénicos para realizar una detección específica que permite resultados más rápidos, las mismas cumplen con los estándares de las normas internacionales (AOAC-PTM, Microval) y son certificada por la norma ISO 11133.

Como se ilustra en las figuras 14 y 15, para coliformes y coliformes fecales se utilizó MC-MEDIA PAD COLIFORMES & E. COLI. y para mohos y levaduras las MC-MEDIA PAD MOHOS & LEVADURAS

MC-MEDIA PAD COLIFORMES & E. COLI



Figura 14: Mc- media pad para coliformes y E. Coli.

Fuente: Los Autores.

MC-MEDIA PAD MOHOS & LEVADURAS



Figura 15: Mc- media pad para Mohos y levaduras.

Fuente: Los Autores.

3.9.1 Preparación de la muestra

Para la evaluación microbiológica con una pipeta volumétrica previamente esterilizada se tomó 1 ml del nanojugo la cual debe estar a una temperatura de 25 °C y se procedió a seguir el proceso dictado en las instrucciones de las placas:

1. Abrir la bolsa de aluminio y retirar el MC-Media Pad. Si es necesario, escriba información en la película de portada.
2. Levante la película protectora transparente y se pipetea 1 ml de solución de muestra en la almohadilla de prueba.
3. Cierre la película de la cubierta y presione ligeramente los bordes de la película para sellar.
4. Incube la placa de prueba a 35 ± 1 ° C durante 24 ± 2 horas.
5. Vuelva a sellar las bolsas abiertas y almacénese a 2-15 ° C hasta por 4 semanas.

3.10 Procesamiento estadístico de los datos

Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente a través del paquete estadístico SPSS Statistics versión 22.0 , empleando un análisis de varianza multifactorial para determinar cuál de los factores es o no determinante frente a los cambios en la calidad microbiológica y fisicoquímica.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de añadir las nanopartículas de cobre al jugo, se procedió a realizar análisis microbiológicos tanto para coliformes totales, coliformes fecales, mohos y levaduras, los cuales se muestran a continuación:

En la figura 16 se observa que al mantener el jugo de 2 ppm de iones cobre a temperatura ambiente existe un crecimiento exponencial de coliformes, mientras que al tenerlo en refrigeración su crecimiento va disminuyendo por las bajas temperaturas, sin embargo su concentración de iones es baja para poder erradicar estos microorganismos. En la muestra de jugo con una concentración de 4 ppm observamos que a temperatura de refrigeración no existe crecimiento de coliformes totales mientras que a temperatura ambiente con el paso de los días se observa un leve crecimiento de estos microorganismos patógenos, debido a que la concentración de 4 ppm es suficiente para generar un ambiente desfavorable para su crecimiento y desarrollo.

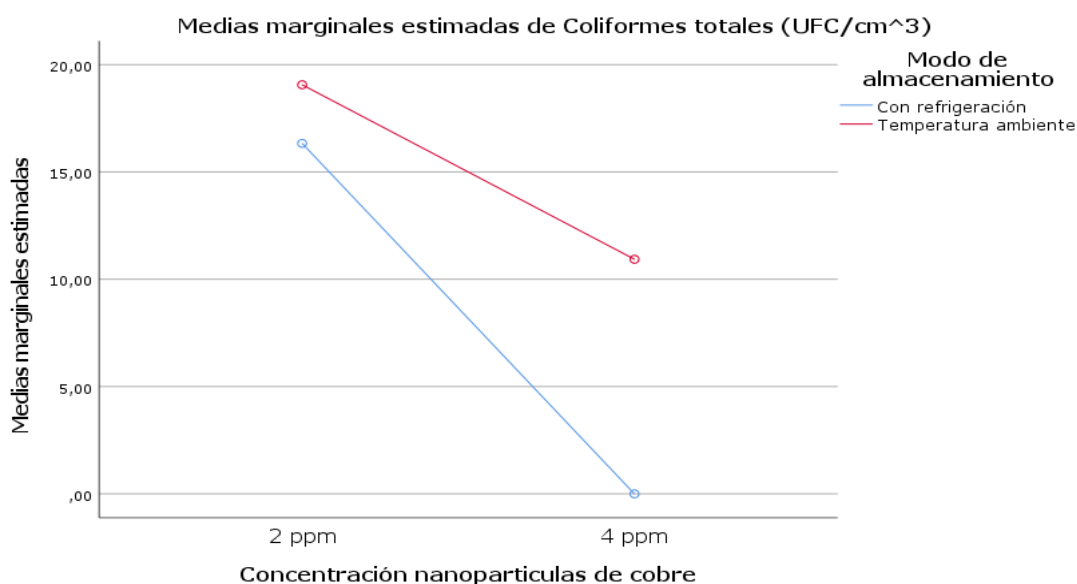


Figura 16 : Medias marginales estimadas para coliformes totales.

Fuente: Los Autores.

En la figura 17 se observa que la temperatura de almacenamiento influye directamente en el crecimiento de coliformes totales, empezando con 2.5 UFC/cm³ en ambos casos pero teniendo un mayor crecimiento a temperatura ambiente llegando hasta 31.67 UFC/cm³, mientras que con refrigeración se obtuvo un crecimiento de 16.5 UFC/cm³ en el día 25.

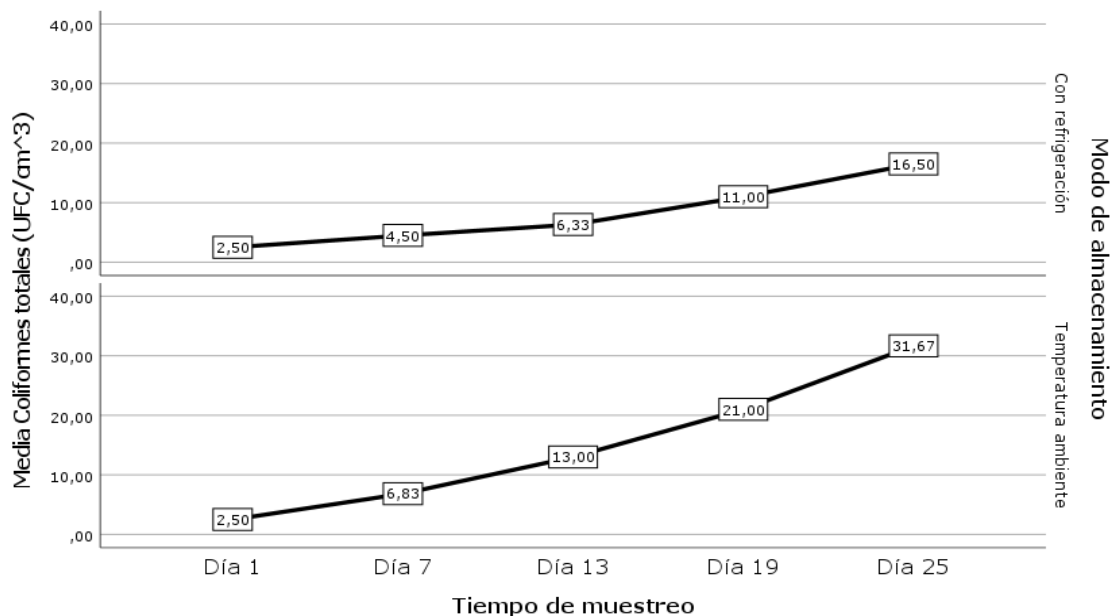


Figura 17: Comparación de media de coliformes totales según la temperatura de almacenamiento.

Fuente: Los Autores.

En la figura 18 se representa la media de coliformes totales según su concentración de nanopartículas de cobre, para la concentración de 2 ppm se puede apreciar que no es suficiente para impedir el crecimiento de estos microorganismos, mientras que en la muestra con una concentración de 4 ppm se observa que la misma representa un nivel adecuado para el control de coliformes totales, así como lo indica la investigación de *Hermida & Pariona (2018)* a mayor concentración de iones de cobre, menor crecimiento microbiano ya que se crea un ambiente desfavorable para el crecimiento de los mismos.

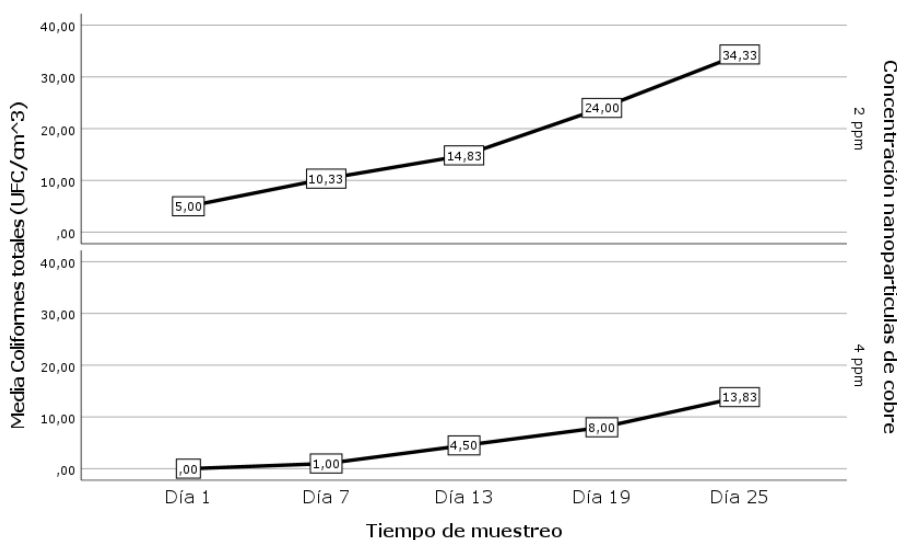


Figura 18: Comparación de media de coliformes totales según la concentración de Cu*Fuente: Los Autores.*

En la tabla 2 se detalla que se obtuvo diferencia significativa en cuanto a concentración de cobre y tipo de almacenamiento, debido a que en la concentración menor de iones cobre se observó crecimiento bacteriano de coliformes fecales, por otro lado a una concentración mayor con un valor de 4 ppm se redujo el crecimiento bacteriano, Así mismo existe diferencia significativa en el tipo de almacenamiento ya que a temperatura ambiente se presencié un crecimiento exponencial de coliformes totales, mientras que a temperatura de 4°C su crecimiento se redujo y en el caso de de la concentración de 4 ppm no existió crecimiento bacteriano.

Pruebas de efectos inter-sujetosVariable dependiente: Coliformes totales (UFC/cm³)

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	3197,383 ^a	3	1065,794	12,369	,000
Intersección	8050,417	1	8050,417	93,431	,000
Cobre * Almacenamiento	252,150	1	252,150	2,926	,093
Cobre	2244,817	1	2244,817	26,053	,000
Almacenamiento	700,417	1	700,417	8,129	,006
Error	4825,200	56	86,164		
Total	16073,000	60			
Total corregido	8022,583	59			

a. R al cuadrado = ,399 (R al cuadrado ajustada = ,366)

Tabla 2: Prueba de efectos entre parámetros*Fuente: Los Autores.*

En el tratamiento 4A el cual es de 4 ppm a temperatura de 4°C los resultados fueron de ausencia de coliformes totales durante todo el periodo de tiempo que se conservó el jugo de naranja, obteniendo así un tratamiento efectivo.

Los resultados en cuanto a coliformes fecales y de mohos y levaduras durante los 25 días de análisis fueron de ausencia en todos los tratamientos realizados.

Con los resultados microbiológicos podemos concluir que el efecto antimicrobiano de los iones cobre sobre mohos y levaduras es efectivo ya que al aplicar los tratamientos y con el paso del tiempo no se encontró presencia de los mismos.

En cuanto a las propiedades físico-químicas que se evaluó el pH, sólidos solubles, obteniendo los siguientes resultados:

Se puede observar en la figura 19 el comportamiento del pH según el tipo de almacenamiento, la concentración de nanopartículas de cobre no influyó ya que los niveles de pH no presentaron cambios significativos durante el tiempo de conservación, manteniéndose así dentro de normativa.

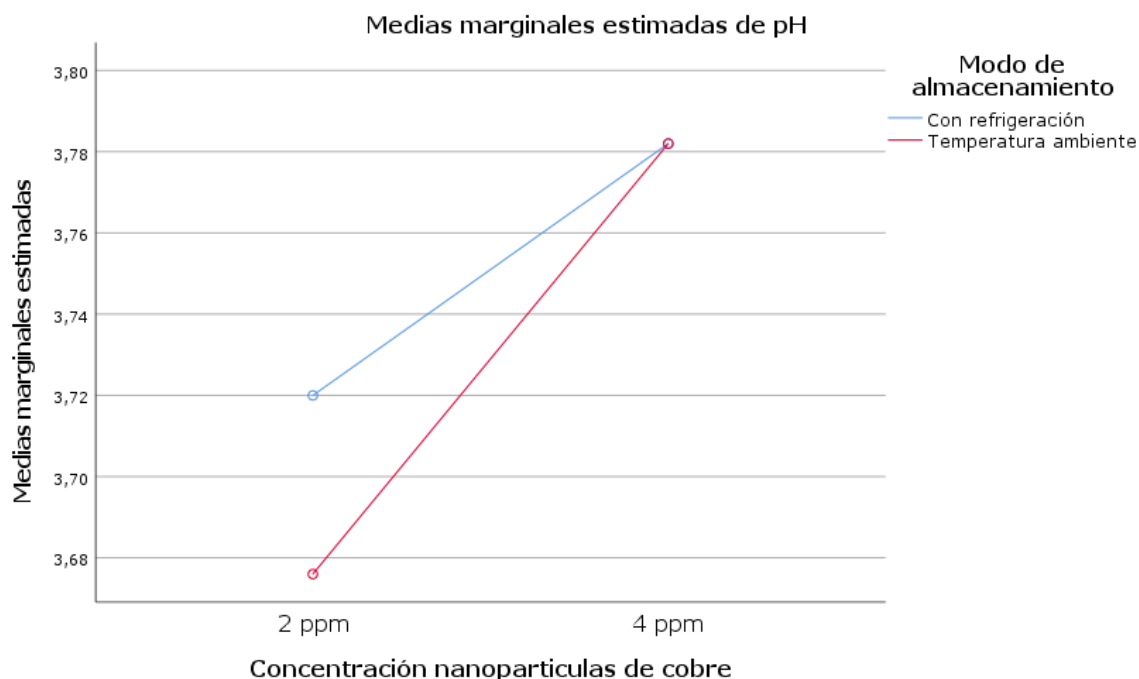


Figura 19: Medias marginales estimadas de pH

Fuente: Los Autores.

En la figura 20 se observa que el uso de las nanopartículas ionizadas de cobre no influyen sobre el pH del jugo, lo cual también describe Cruz (2017) en su investigación afirmando así que la nanotecnología tiene como objetivo principal conservar las características fisicoquímicas del alimento, de esta forma los alimentos que entran en contacto directo con nanopartículas metálicas ya sea como ingrediente o como parte del material de empaque, no modifique sus características organolépticas y conserve por más tiempo.

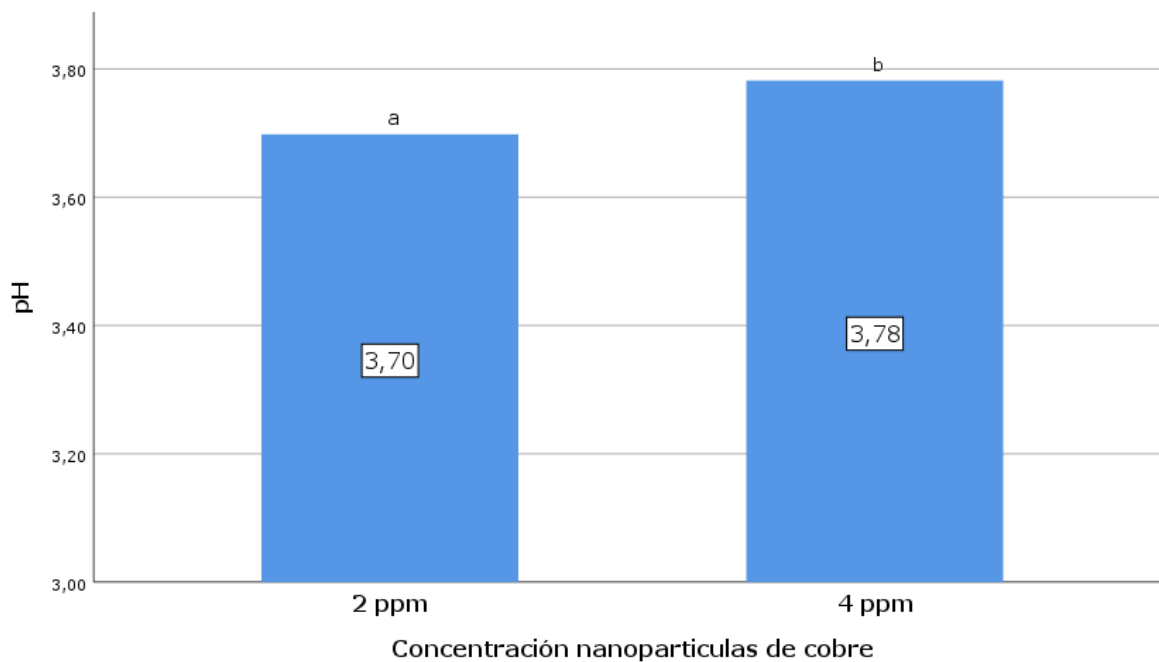


Figura 20: Valores de pH según la concentración de nanopartículas de Cu
Fuente: Los Autores.

En la tabla 3 podemos observar que la concentración de cobre y el tiempo de conservación no provocaron cambios en los valores de °Brix, por lo cual no tienen influencia sobre el mismo.

Concentraciones	°Brix			
	Sin refrigeración		En refrigeración	
	2ppm	4ppm	2ppm	4ppm
Día 1	14	14	14	14
Día 7	14	14	14	14
Día 13	14	14	14	14
Día 19	14	14	14	14
Día 25	14	14	14	14

Tabla 3: Sólidos Solubles
Fuente: Los Autores.

CONCLUSIONES

- Se aplicaron nanopartículas ionizadas de cobre en jugo de naranja, donde se evaluó el efecto de las nanopartículas para la conservación del jugo, obteniendo como resultado luego de los 25 días de análisis para la muestra con 2 ppm de concentración de nanopartículas de cobre sin refrigeración se obtuvo una media marginal de coliformes totales de 5 UFC/cm³ en el día 1 y un valor de 34,33 UFC/cm³ en el día 25, en la muestra de 4 ppm de nanopartículas de cobre sin refrigeración en el día 1 la media marginal para coliformes totales se obtuvo un valor de 0 y en el día 25 de 13,83 UFC/cm³. En el tratamiento de 4ppm de nanopartículas de cobre a temperatura de 4°C no existió crecimiento bacteriano a lo largo del periodo de conservación
- Se obtuvo una diferencia significativa para la temperatura de almacenamiento y para concentración de nanopartículas de cobre ya que sus valores de p value fueron de 0,06 y 0.00 respectivamente.
- La aplicación de nanopartículas de cobre en jugo de naranja en concentraciones de 4ppm en refrigeración durante un tiempo de estudio de 25 días, logró un efecto antimicrobiano en las muestras dado que no hubo crecimiento de coliformes totales, coliformes fecales ni de mohos y levaduras.
- Se analizó la influencia de las nanopartículas de cobre sobre las propiedades físico-químicas, observándose que ninguna de las concentraciones evaluadas en el estudio, modificaron las propiedades fisicoquímicas del producto.
- Se concluye que la aplicación de las nanopartículas de cobre puede considerarse como un tratamiento nanotecnológico alternativo de conservación para el jugo de naranja.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar la cuantificación de la vitamina C mediante la técnica de HPLC, ya que los resultados por métodos de titulación se ven afectados por la presencia de cobre.
- La nanotecnología se usa ampliamente en la industria alimentaria, sin embargo, como con cualquier material nuevo en contacto con alimentos, se debe evaluar la liberación potencial de nanopartículas en los productos alimenticios y la seguridad de estos materiales para la salud humana.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Sánchez-Venegas, J., Pillaca, M., Landauro, C. V., Ramirez, P., Lovera, D., Bernaldo, J., ... & De la Cruz, F. (2016). Actividad inhibitoria del crecimiento bacteriano por cobre nanoestructurado obtenido de minerales de la región Marañón: comparación con cobre comercial. *Revista peruana de biología*, 23(3), 305-310.
2. Escobedo Paredes, C. R., Rodríguez Soto, J. C., Contreras Quiñones, M., Aspajo Villalaz, C., Calderón Peña, A., León Alcántara, E., ... & Valverde Alva, M. (2020). Citotoxicidad y genotoxicidad de nanopartículas de cobre sobre *Allium cepa* L.(Amaryllidaceae). *Arnaldoa*, 27(1), 181-190.
3. Prado, V., Vidal, R., & Durán, C. (2012). Aplicación de la capacidad bactericida del cobre en la práctica médica. *Revista médica de Chile*, 140(10), 1325-1332.
4. García, P. A., Román, C. A., & Fernández, J. M. D. (2017). Materiales e innovación en arquitectura sanitaria: cobre, barrera antibacteriana para espacios sanitarios.
5. Montalvo Quirós, S. (2019). Diseño, síntesis y evaluación de nuevos nanosistemas para su aplicación en biomedicina.
6. Ramírez Castillo, E. F. (2017). Toxicología de alimentos.
7. Velásquez Calva, J. J., & Quishpe Saibor, J. S. (2019). Análisis deontológico de la empresa Culligan Water Projects SA. Observatorio de la Economía Latinoamericana, (mayo).
8. Rivera, V. M. R. (2008). Bases de la Alimentación Humana. Netbiblo.
9. Grass, G., Rensing, C. y Solioz, M. (2011). Cobre metálico como superficie antimicrobiana. *Microbiología aplicada y ambiental*, 77 (5), 1541-1547.
10. Quispe, S. M., & Mamani, E. Q. (2017). Importancia del cobre en el organismo. *Revista de Investigación Apuntes Científicos Estudiantiles de Nutrición Humana*, 1(1).
11. Unger, M., & Barbará, M. C. (2008). Importancia fisiológica de los microminerales en el metabolismo óseo. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 9(10), 1-17.
12. Jonapá-Hernández, F., Ruiz-Lau, N., Ruiz-Valdivieso, V. M., & Gutiérrez-Miceli, F. A. (2020). Síntesis de fitonanopartículas de cobre, una opción más amigable con el medio ambiente.
13. Suarez-Villa, M., Carrero, C., Granadillo, V., Lastre-Amell, G., Orostegui, M. A., & Delgado, F. (2019). Niveles de cobre y zinc en diferentes etapas de la leche materna y la influencia del estado nutricional de madres lactantes. *Revista chilena de nutrición*, 46(5), 511-517.
14. Feoktistova Victorava, L., & Clark Feoktistova, Y. (2018). El metabolismo del cobre. Sus consecuencias para la salud humana. *MediSur*, 16(4), 579-587.
15. Samal, D., Gouda, S. y Patra, JK (2017). Conservantes alimentarios y sus usos: un breve informe. *Revista asiática de biología*, 1-4.

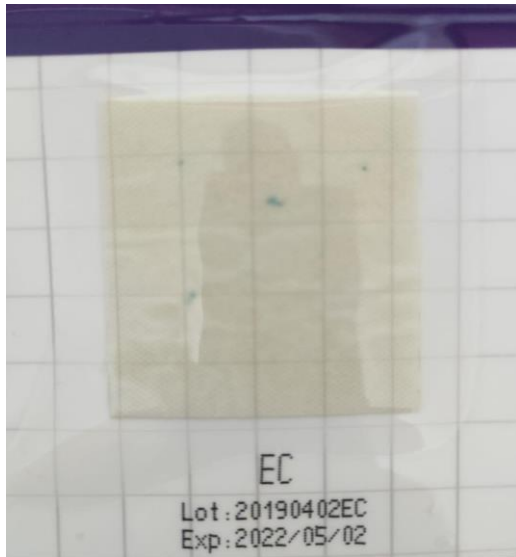
16. Gazdik, Z., Zitka, O., Petrlova, J., Adam, V., Zehnalek, J., Horna, A., ... y Kizek, R. (2008). Determinación de vitamina C (ácido ascórbico) mediante cromatografía líquida de alta resolución junto con detección electroquímica. *Sensores*, 8 (11), 7097-7112.
17. Cáceres Barrientos, J. R. (2018). Uso de iones de plata y ozono en el tratamiento de agua para consumo humano.
18. Améstica, L. (2015). La revolución del cobre.
19. Ojeda, G. A., Arias Gorman, A. M., & Sgroppo, S. C. (2019). Nanotecnología y su aplicación en alimentos. *Mundo nano. Revista interdisciplinaria en nanociencias y nanotecnología*, 12(23), 0-0.
20. Ibanez, V., García Usach, A., Carbonell Caballero, J., Alonso, R., Terol, J., Dopazo, J., & Talón, M. (2015). El origen de las especies cultivadas de cítricos. *Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos*, (426), 74-79.
21. Jaimes, J., Rios, I., & Severiche, C. (2017). Nanotecnología y sus aplicaciones en la industria de alimentos-Nanotechnology and its applications in the food industry. *Alimentos Hoy*, 25(41), 51-76.
22. Foladori, G. (2016). Políticas públicas en nanotecnología en América Latina. *Problemas del desarrollo*.
23. Gramajo, M. G. P. (2019). Aplicación de los métodos de conservación de alimentos. *Revista Ingeniería y Ciencia*, 1(15).
24. Yang, W., Wu, Z., Huang, ZY y Miao, X. (2017). Conservación de zumo de naranja mediante propóleo. *Revista de ciencia y tecnología de los alimentos*, 54 (11), 3375-3383.
25. Garavello, M. F., Beltran, V. M., & Kornowski, M. V. (2019). *Catálogo de variedades de naranjas*. Ediciones INTA.
26. Shahmohammadi, M., Javadi, M. y Nassiri-Asl, M. (2016). Una descripción general de los efectos del benzoato de sodio como conservante en productos alimenticios. *Biotecnología y Ciencias de la Salud*.
27. RAMÍREZ LÓPEZ, S. A. N. T. A. (2016). Síntesis y caracterización de nanopartículas de Cobre-paladio por el método de microemulsiones.
28. Vera, C., Allan, L. (2012). Obtención de bebidas congeladas.
29. Ancillo, G., Medina, A (2014). Los cítricos. Jardín Botánico de la Universidad de València
30. Campelo, G (2020). Situación actual de los productores de naranja (*Citrus sinensis*) en el Ecuador
31. Cedano Cuadros, N. A. (2018). Evaluación de las propiedades antibacterianas de nanopartículas de cobre sintetizadas a partir de CuSO₄ y extracto de Eucalipto.
32. Gutierrez Morote, R. R. (2018). Control de calidad durante el proceso de fabricación de leche entera evaporada en envase de hojalata.

33. Gebhardt, K. (2018). Publications. NECON 100% Chemical-free Water Treatment. <https://www.necon.de/en/necon/publications.html>
34. Fúnez, A. Á., Duaso, A. I. H., & Gómez, P. M. (2016). Nanotecnología en la industria alimentaria ii: Evaluación del riesgo y legislación/nanotechnology in food industry ii: Risk assessment and legislation. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 10(2), 18.
35. Noormans, A. G. (2010). Impact of Nanotechnology in Food Production Impacto de la Nanotecnología en la Producción de Alimentos. FACULTAD DE INGENIERÍAS FUNDACIÓN UNIVERSITARIA LUIS AMIGÓ, 28.
36. Juez, D. B. (2021). Determinación de metodología para el desarrollo de juntas dinámicas de alta presión: aplicación y validación en intensificadores de tecnología HPP (Doctoral dissertation, Universidad de Burgos).
37. NTE INEN 1334-1:2011 Rotulado de productos alimenticios de consumo humano. Parte 1. Requisitos
38. NTE INEN 1334-2:2011 Rotulado de productos alimenticios de consumo humano. Parte 2. Rotulado Nutricional. Requisitos
39. NTE INEN 1334-3:2011 Rotulado de productos alimenticios de consumo humano. Parte 3. Requisitos para declaraciones nutricionales y declaraciones saludables
40. RTE INEN 022 “ROTULADO DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS PROCESADOS, ENVASADOS Y EMPAQUETADOS”,
41. NTE INEN 2337. (2008). Jugos, pulpas, concentrados. néctares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos. Primera Edición. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2337.pdf
42. Galera, A. (2015). El impacto de la nanotecnología sobre la seguridad y la salud laboral. *ORPjournal*, (2), 31-58.
43. Lugo, N. T. (2017). El zinc y el cobre: micronutrientes esenciales para la salud humana. *Acta Médica del Centro*, 11(2), 79-89.
44. Borja, J. M. B., & Oviedo, B. S. R. (2020). Nanomateriales: métodos de síntesis. *Polo del Conocimiento: Revista científico-profesional*, 5(8), 426-445.
45. NECON GmbH | Natural water purification and disinfection. (2019). NECON. Recuperado 7 de febrero de 2022, de <https://www.necon.de/>
46. MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA. (2020). SISTEMA DE INFORMACIÓN PÚBLICA AGROPECUARIA. Recuperado el 7 de Febrero de 2022, de <http://sipa.agricultura.gob.ec/>
47. Taracena, R. (2021, 1 junio). Recubrimientos antimicrobianos: lo que necesita saber. *Products Finishing México*. <https://www.pf-mex.com/articulos/recubrimientos-antimicrobianos-lo-que-necesita-saber>

48. Cruz-Monterrosa, R. G. (2017). Nanotecnología en la industria alimentaria. Nanopartículas usadas en la conservación de la carne. *Agro Productividad*, 10(10).
49. Echeverry-Chica, J., Naranjo-Díaz, A., & Araque-Marín, P. (2020). Nanopartículas de plata funcionalizadas in situ con D-limoneno: efecto en la actividad antibacteriana. *Revista Ion*, 33(1), 79-92.
50. Gómez, G. L. (2013). Nanopartículas de plata: tecnología para su obtención, caracterización y actividad biológica. *Investigación en discapacidad*, 2(1), 18-22.
51. Betancur Henao, C. P., Hernández Montes, V., & Buitrago Sierra, R. (2016). Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. *Revista cubana de investigaciones biomédicas*, 35(4), 387-402.
52. Pumacayo, J. L. Z., Anaya, A. M. O., Erazo, R. E., Rodríguez, F. B., Manga, E. O. N., Sanchez, O. A. C., & Fajardo, J. J. M. (2021). Estudio de la interacción química y bactericida de las nanopartículas de óxido de zinc frente a *Staphylococcus aureus*. *Revista del Instituto de investigación de la Facultad de minas, metalurgia y ciencias geográficas*, 24(48), 175-180.
53. Sánchez, C. E. H. (2017). Actividad antimicrobiana de nanopartículas de Cobre soportadas en una matriz de quitosano.
54. OMS. (2017, 27 febrero). *La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos*. Organización Mundial de la Salud. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
55. Pacheco, J. M. G. (2013). Síntesis de nanopartículas de cobre mediante novedosa ruta química (Doctoral dissertation, CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES AVANZADOS).

ANEXOS

Análisis microbiológicos con refrigeración



Análisis microbiológicos de coliformes totales y fecales

Día: 1

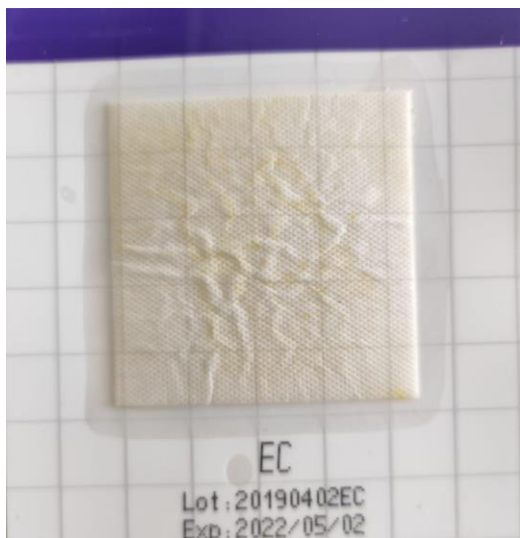
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de mohos y levaduras

Día: 1

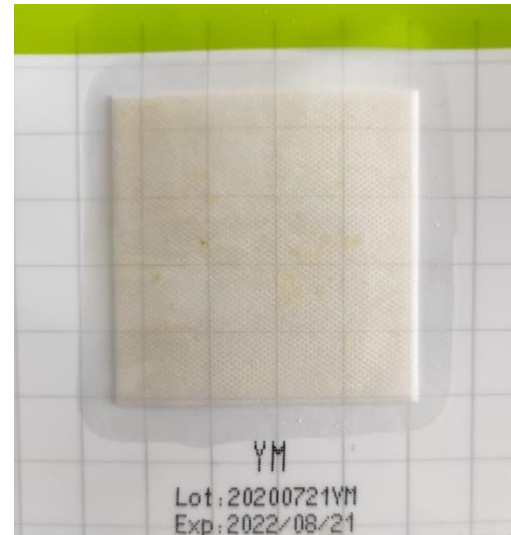
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de coliformes totales y fecales

Día: 1

Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de mohos y levaduras

Día: 1

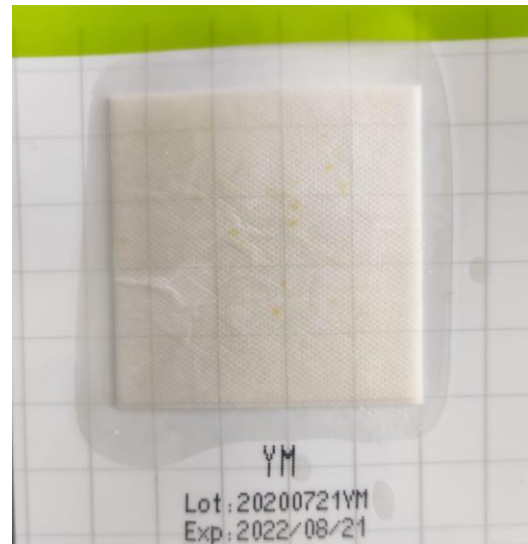
Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de
coliformes totales y fecales

Día: 7

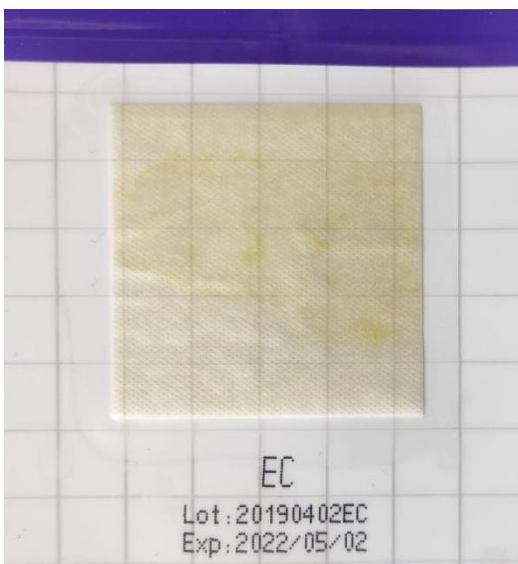
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de
mohos y levaduras

Día: 7

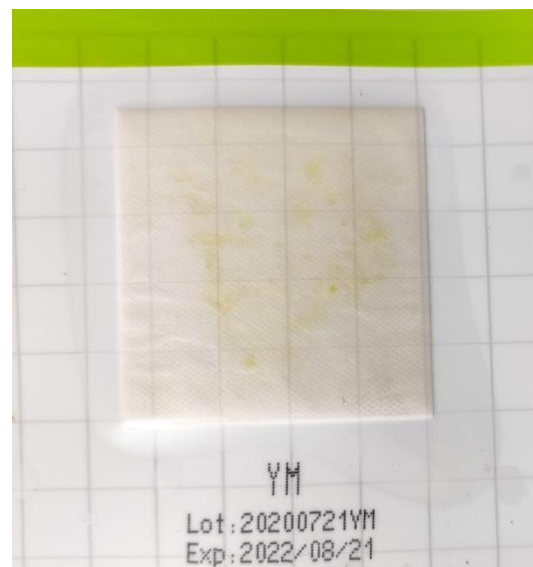
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de
coliformes totales y fecales

Día: 7

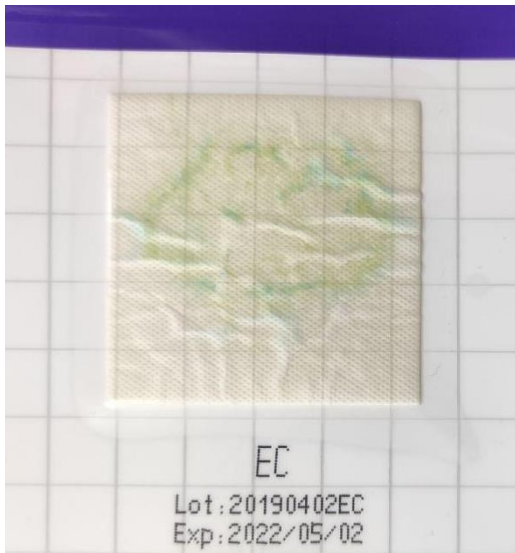
Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de
mohos y levaduras

Día: 7

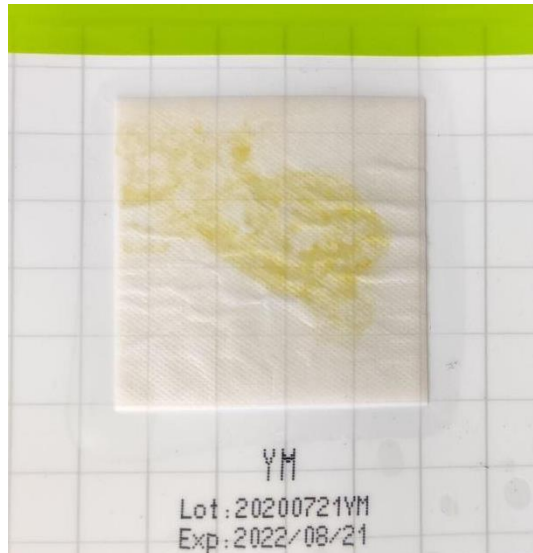
Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de coliformes totales y fecales

Día: 13

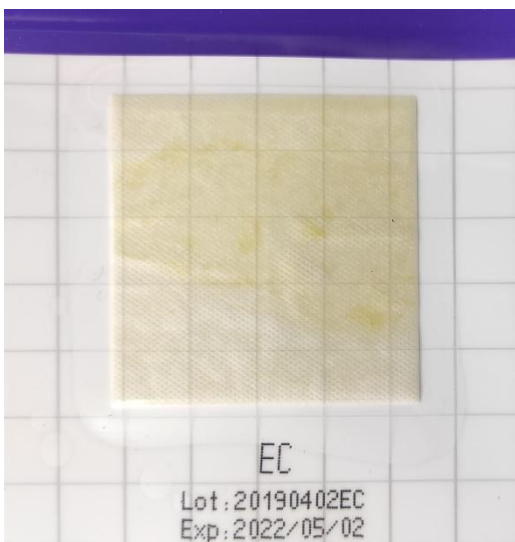
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de mohos y levaduras

Día: 13

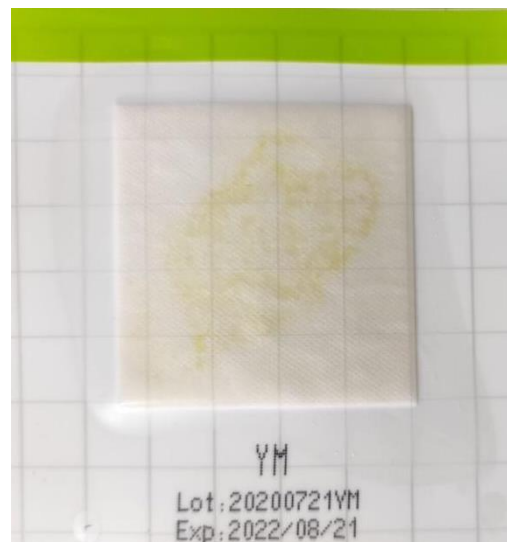
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de coliformes totales y fecales

Día: 13

Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de mohos y levaduras

Día: 13

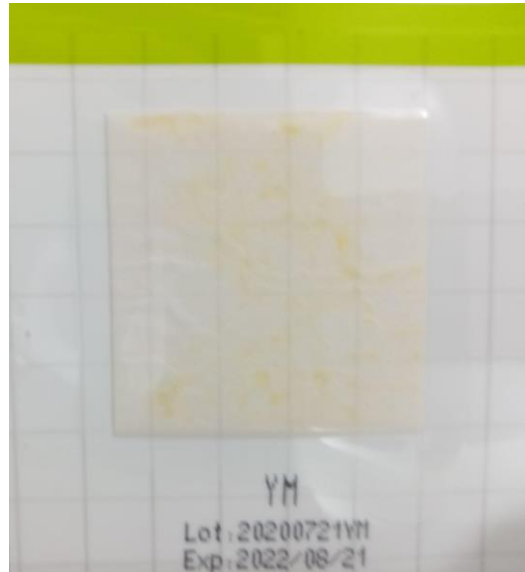
Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de
coliformes totales y fecales

Día: 19

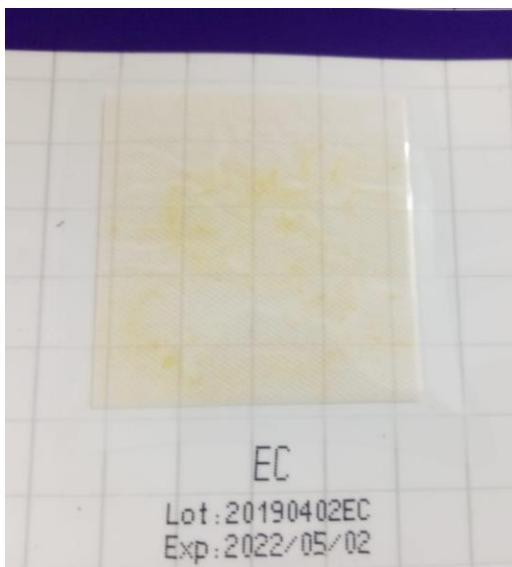
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de
mohos y levaduras

Día: 19

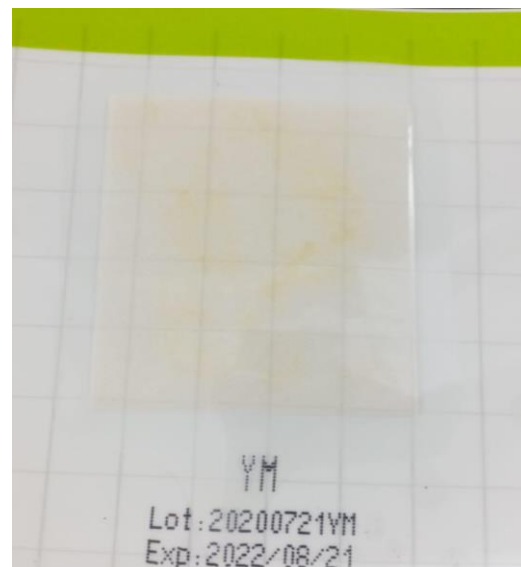
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de
coliformes totales y fecales

Día: 19

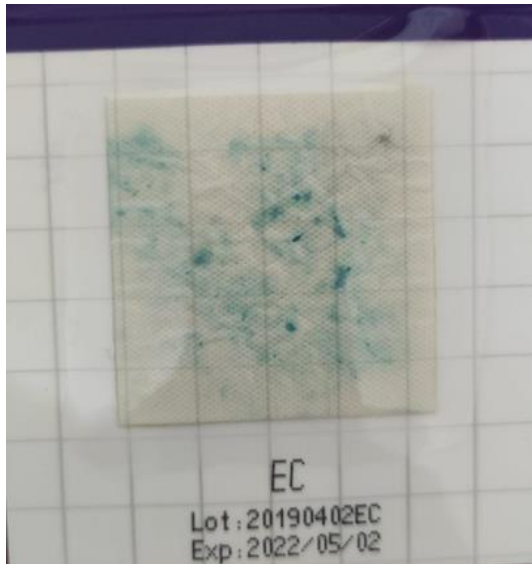
Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de
mohos y levaduras

Día: 19

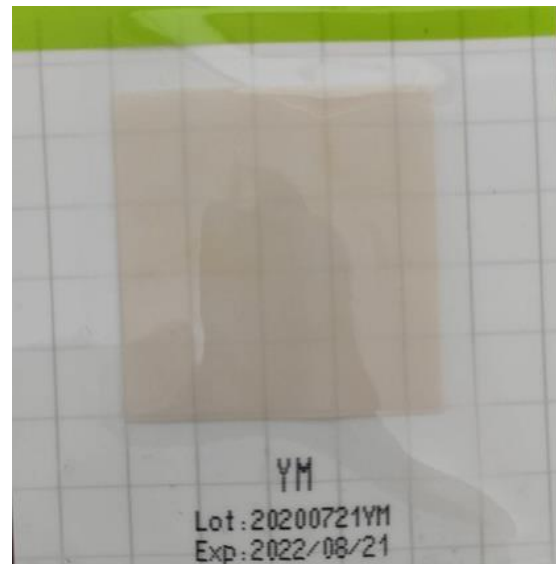
Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de
coliformes totales y fecales

Día: 25

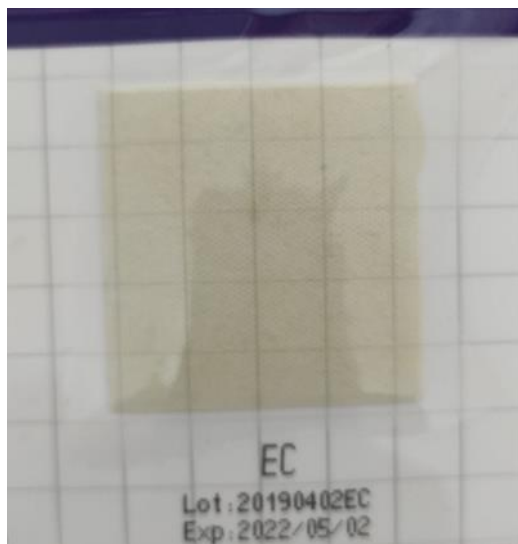
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de
mohos y levaduras

Día: 25

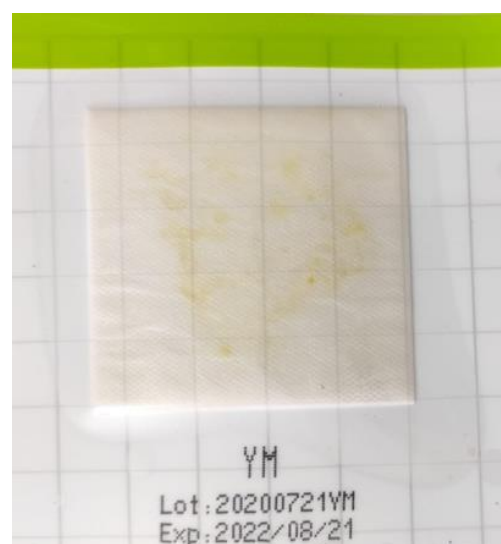
Concentración: 2ppm



Análisis microbiológicos de
coliformes totales y fecales

Día: 25

Concentración: 4ppm



Análisis microbiológicos de
mohos y levaduras

Día: 25

Concentración: 4ppm