



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA

AGROINDUSTRIAL

POSGRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

AGROALIMENTARIA

**ESTABILIZACIÓN DE JUGO DE TUNA (*Opuntia* spp.)
MEDIANTE SINERGIA OZONO-ALTAS PRESIONES
HIDROSTÁTICAS**

TESIS

**Que como requisito parcial para
obtener el grado de:**

DOCTORA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

Presenta:

LAURA ANGELICA MONTECINOS PEDRO

**Bajo la supervisión de: JOSÉ JOEL ENRIQUE CORRALES
GARCÍA, DR.**



Chapingo, Estado de México, junio de 2025

**ESTABILIZACIÓN DE JUGO DE TUNA (*Opuntia* spp.) MEDIANTE
SINERGIA OZONO-ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS**

Tesis realizada por **LAURA ANGELICA MONTECINOS PEDRO** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS

DIRECTOR:



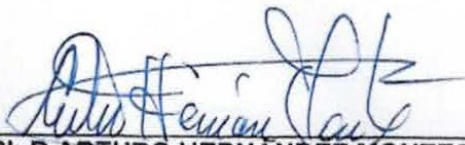
DR. JOSÉ JOEL ENRIQUE CORRALES GARCÍA

ASESORA:



DRA. PATRICIA LANDA SALGADO

ASESOR:



Ph.D ARTURO HERNÁNDEZ MONTES

ASESORA:



Ph.D MARTHA ELVA RAMÍREZ GUZMÁN

LECTOR EXTERNO:



DRA. BEATRIZ QUIROZ GONZÁLEZ

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
DEDICATORIAS	15
AGRADECIMIENTOS	16
DATOS BIOGRÁFICOS	17
RESUMEN GENERAL	18
GENERAL ABSTRACT	19
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	20
1.1. Objetivo general.....	22
1.2. Objetivos específicos	22
1.3. Hipótesis	23
1.4. Organización de la tesis.....	23
1.5. Literatura citada	26
2. REVISIÓN DE LITERATURA	27
2.1. Generalidades del fruto de tuna.....	27
2.2. Clima y distribución geográfica de la tuna	28
2.3. Importancia económica de la tuna	29
2.4. Aprovechamiento y limitaciones de la tuna	31
2.5. Métodos no térmicos: para la conservación de alimentos	32
2.6. Alta presión hidrostática.....	34
2.7. Altas presiones hidrostáticas sobre los alimentos	35

2.8.	Altas presiones hidrostáticas sobre los microorganismos.....	37
2.9.	Altas presiones hidrostáticas en jugos.....	38
2.10.	Ozonización.....	39
2.11.	El efecto del ozono sobre los microorganismos	40
2.12.	El efecto del ozono en jugos.....	41
2.13.	Normatividad de los métodos no térmicos.....	41
2.14.	Regulación del uso de alta presión hidrostática y ozono en la industria alimentaria	42
2.15.	Literatura citada.....	45
3.	ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS EN LA ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA Y NUTRACÉUTICA DEL JUGO DE DIFERENTES TUNAS	
	55	
3.1.	Resumen	55
3.2.	Introducción	57
3.3.	Materiales y Métodos.....	59
3.3.1.	Preparación del jugo	59
3.3.2.	Reactivos	60
3.3.3.	Material biológico	60
3.3.4.	Preparación del inóculo.....	61
3.3.5.	Inoculación y aplicación de las altas presiones hidrostáticas a la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle.....	61
3.3.6.	Efecto de diferentes presiones hidrostáticas en la población de <i>L. innocua</i> y <i>S. cerevisiae</i> inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle	62

3.3.7. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la población de <i>L. innocua</i> inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante diferentes periodos de frigoconservación	62
3.3.8. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante diferentes periodos de frigoconservación.....	63
3.3.9. Evaluación microbiológica.....	63
3.3.10. Análisis fisicoquímicos	64
3.3.11. Análisis de potencial nutracéutico.....	64
3.3.12. Evaluación sensorial	66
3.3.13. Análisis estadístico	66
3.4. Resultados y discusión	68
3.4.1. Efecto de diferentes presiones hidrostáticas en la población de <i>Listeria innocua</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle no refrigerada	68
3.4.2. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la población de <i>L. innocua</i> inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle y almacenado a 4.5 ± 0.5 °C durante 45 días	70
3.4.3. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación	72
3.4.4. Efecto la alta presión hidrostática sobre las propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación.....	73

3.4.5. Efecto la alta presión hidrostática sobre los compuestos nutracéuticos de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación.....	82
3.4.6. Evaluación sensorial	85
3.5. Conclusiones	85
3.6. Agradecimientos	86
3.7. Literatura citada	87
4. EFECTO DEL OZONO EN LA CALIDAD DEL JUGO DE TUNA MEZCLADO CON JUGO DE XOCONOSTLE	92
4.1. Resumen	92
4.2. Introducción	94
4.3. Materiales y Métodos.....	97
4.3.1. Material vegetal	97
4.3.2. Extracción del jugo	97
4.3.3. Material biológico	98
4.3.4. Aplicación de tratamiento de ozono	99
4.3.5. Efecto de diferentes tiempos de exposición de ozono en la población de <i>Listeria innocua</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle no refrigerada.....	99
4.3.6. Efecto del ozono sobre la población de <i>Listeria innocua</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante frigoconservación	99

4.3.7. Efecto del ozono sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante frigoconservación	100
4.3.8. Evaluación microbiana	100
4.3.9. Evaluación fisicoquímica	101
4.3.10. Análisis de potencial nutracéutico	101
4.3.11. Análisis estadístico	103
4.4. Resultados y discusión	105
4.4.1. Efecto de diferentes tiempos de exposición de ozono en la población de <i>L. innocua</i> y <i>S. cerevisiae</i> inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle	105
4.4.2. Efecto del ozono sobre la población de <i>L. innocua</i> y <i>S. cerevisiae</i> inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante diferentes periodos de frigoconservación	107
4.4.3. Efecto del ozono sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante diferentes periodos de frigoconservación	108
4.4.4. Efecto del ozono sobre las propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación	108
4.4.5. Efecto del ozono en los parámetros del color de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación	109
4.4.6. Efecto del ozono en los compuestos nutracéuticos de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación..	113
4.5. Conclusiones	114

4.6.	Agradecimientos	115
4.7.	Literatura citada	116
5.	EFFECTO SINÉRGICO DE OZONO-ALTA PRESIÓN HIDROSTÁTICA EN JUGO DE TUNA MEZCLADO CON JUGO DE XOCONOSTLE	121
5.1.	Resumen	121
5.2.	Introducción	123
5.3.	Materiales y Métodos.....	125
5.3.1.	Preparación del jugo	125
5.3.2.	Reactivos	126
5.3.3.	Material biológico	127
5.3.4.	Preparación del inóculo.....	127
5.3.5.	Inoculación y aplicación del ozono y las altas presiones hidrostáticas a la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle	127
5.3.6.	Efecto de la combinación de diferentes tiempos de exposición de ozono y presiones hidrostáticas en la población de <i>L. innocua</i> inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle	128
5.3.7.	Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la población de <i>L. innocua</i> inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante diferentes periodos de frigoconservación	128
5.3.8.	Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante diferentes periodos de frigoconservación	129

5.3.9.	Evaluación microbiológica	129
5.3.10.	Análisis fisicoquímicos	130
5.3.11.	Análisis de potencial nutracéutico	130
5.3.12.	Evaluación sensorial	131
5.3.13.	Análisis estadístico	132
5.4.	Resultados y discusión	134
5.4.1.	Efecto de la combinación de diferentes tiempos de exposición de ozono y presiones hidrostáticas en la población de <i>L. innocua</i> inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle	134
5.4.2.	Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la población de <i>L. innocua</i> inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C)	134
5.4.3.	Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación	136
5.4.4.	Efecto de la combinación de ozono y alta presión hidrostática sobre las propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación.....	137
5.4.5.	Efecto la combinación del ozono y la alta presión hidrostática sobre los compuestos nutracéuticos de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación.....	144
5.4.6.	Evaluación sensorial	146
5.5.	Conclusiones	146
5.6.	Agradecimientos	147

5.7.	Literatura citada	148
6.	CONCLUSIONES	153
6.1.	Altas Presiones Hidrostáticas (HHP)	153
6.2.	Ozonización (O ₃)	153
6.3.	Combinación de Ozono+HHP	154
6.4.	Consideraciones finales.....	154

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle durante diferentes tiempos de almacenamiento en frigoconservación con y sin tratamiento de alta presión hidrostática (406 MPa, 5 min).....	70
Cuadro 2. Propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle durante diferentes tiempos de almacenamiento en frigoconservación con 5 y 12 min de exposición de ozono y sin tratamiento de ozono.	109
Cuadro 3. Propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle tratado con la combinación de ozono+HHP (1 min de O ₃ + 230 MPa- 5 min de HHP) durante diferentes tiempos de almacenamiento en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C).....	138

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A) Fruto de tuna dulce (<i>Opuntia</i> spp.), B) tuna ácida “xoconostle” (<i>Opuntia joconostle</i>).....	27
Figura 2. Principales estados productores de tuna y xoconostle en 2023. Fuente: (SIAP y SIACON, 2024). Elaboración propia.	30
Figura 3. Diagrama presión hidrostática y presión unidireccional. A. El Principio de Pascal que rige el proceso de presión hidrostática. B. La presión unidireccional por la presión.	35
Figura 4. Efecto de diferentes presiones hidrostáticas aplicadas durante 5 min sobre la población de <i>Listeria innocua</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle.....	70
Figura 5. Efecto de la alta presión hidrostática (406 MPa durante 5 min) sobre la población de <i>Listeria innocua</i> en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) durante 45 d.	71
Figura 6. Efecto de la alta presión hidrostática (406 MPa durante 5 min) sobre la microbiota nativa en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) durante 45 d.	72
Figura 7. Parámetros de color de la MJTX tratado con 406 MPa durante 5 min de HHP y sin tratamiento almacenados en diferentes periodos de frigoconservación. A) Luminosidad, B) Cromo, C) Ángulo Hue y D) Diferencia de color (ΔE).	79
Figura 8. Curvas GAM de parámetros de color para la MJTX tratada con HHP y sin tratar durante 45 d de frigoconservación.	81
Figura 9. <i>Boxplots</i> de L^* , C, H° y ΔE con letras de Tukey para la MJTZ tratada y sin tratar.	82
Figura 10. Efecto del almacenamiento en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) sobre los compuestos nutraceuticos en la mezcla de jugo de tuna con jugo de	

xoconostle tratados y sin tratar previamente con alta presión hidrostática (406 MPa durante 5 min).	84
Figura 11. Efecto de diferentes tiempos de exposición de ozono sobre la población de <i>L. innocua</i> y <i>S. cerevisiae</i> inoculados en jugo de tuna mezclado con jugo de xoconostle. (tasa de inyección del ozonizador $1.2 \text{ g O}_3 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$).	106
Figura 12. Población de <i>Listeria innocua</i> (A) y <i>S. cerevisiae</i> (B) en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 35 días.	107
Figura 13. Microbiota nativa (mesófilos aerobios, hongos y levaduras) en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle con y sin tratamiento de ozono (5 min) almacenado en frigoconservación ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 35 días.	108
Figura 14. Cambios de los parámetros de color de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle durante su almacenamiento en refrigeración ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$) con y sin tratamiento de ozono(5 y 12 min). A) Luminosidad, B) Ángulo Hue, C) Cromo y D) Diferencia de color (ΔE).	110
Figura 15. Curvas GAM de parámetros de color para la MJTX tratada con 5 y 12 min de exposición de ozono y sin tratar almacenados durante 35 d de frigoconservación.	112
Figura 16. <i>Boxplots</i> de L^* , C, H° y ΔE con letras de Tukey para la MJTZ tratada con 5 y 12 min de exposición de ozono y sin tratar (testigo).	113
Figura 17. Efecto de 5 y 12 min de exposición de ozono y tiempo de almacenamiento en frigoconservación ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$) sobre compuestos nutraceuticos en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle.	114
Figura 18. Población de <i>Listeria innocua</i> en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle después de la aplicación de ozono+HHP.	134
Figura 19. Población de <i>Listeria innocua</i> en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$) durante 45 d después de aplicar 1 min de O_3 + 230 MPa durante 5 min de HHP.	135

Figura 20. Efecto de la combinación de ozono y HHP (1 min de O ₃ + 230 MPa durante 5 min de HHP) sobre la microbiota nativa (mesófilos aerobios, levaduras y mohos) en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) durante 45 d.	136
Figura 21. Cambios de los parámetros de color de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle tratado con 1 min de O ₃ + 230 MPa-5 min de HHP y almacenado en diferentes periodos de frigoconservación. A) Luminosidad, B) Ángulo Hue, C) Croma y D) Diferencia de color (ΔE).	139
Figura 22. Curvas GAM de parámetros de color para la MJTX tratada con ozono+ HHP y sin tratar almacenados en refrigeración durante 45 d.....	141
Figura 23. Box-plots de L*, C, H ° y ΔE con letras de Tukey para la MJTZ tratada con la combinación de 1 min de ozono y 230 MPa durante 5 min de HHP y sin tratar (testigo).....	143
Figura 24. Efecto de la combinación de 1 min de O ₃ + 230 MPa/5 min de HHP y tiempo de almacenamiento en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) sobre compuestos nutraceuticos en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle.	144

DEDICATORIAS

A Dios, a la vida, a mis padres y hermanos, a Cristina Basilio

Nicolás, a Audelia Pedro Basilio, a Elí, a mí.

El hombre en la arena. Theodore Roosevelt

AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCYT por la beca 738112 que me permitió realizar mis estudios doctorales.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Posgrado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por brindarme la invaluable oportunidad de concluir exitosamente un logro significativo en mi trayectoria académica, sin duda no podría haber sido alcanzada sin su respaldo, su excelencia académica y los recursos proporcionados por esta distinguida institución.

A mi Comité Asesor: al Dr. José Joel Enrique Corrales García, la Dra. Patricia Landa Salgado, el Dr. Arturo Hernández Montes y a la Dra. Martha Elva Ramírez García, les extiendo mi profundo agradecimiento por su guía durante mi investigación.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, al Dr. Alberto Tecante Coronel y a la I.A. Mariana Ramírez Gilly por permitirme usar el equipo de altas presiones hidrostáticas para realizar la fase experimental de mi investigación.

A la Dra. Diana Guerra, por el uso de las instalaciones y equipo del Laboratorio de Productos Naturales de Preparatoria Agrícola de la UACH y al Dr. Ramón Marcos Soto Hernández por permitirme realizar la estancia doctoral.

A la Dra. Beatriz Quiroz González, por sus consejos y observaciones durante esta investigación. A todas las personas que me apoyaron durante estos años para culminar esta investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre: Laura Angelica Montecinos Pedro
Fecha de nacimiento: 24 de marzo 1988
Lugar de nacimiento: Coyoacán, Ciudad de México
CURP: MOPL880324MDFNDR05
Profesión: Ingeniera Agroindustrial
Cédula profesional
Licenciatura: 087712360
Maestría: 13647785

Desarrollo académico

Preparatoria: Preparatoria Agrícola Chapingo.
Licenciatura: Ingeniería Agroindustrial, Universidad Autónoma Chapingo.
Maestría: Maestría en Recursos Genéticos y Productividad-Fisiología Vegetal, Colegio de Posgraduados

RESUMEN GENERAL

Estabilización del jugo de tuna (*Opuntia* spp.) mediante sinergia ozono-altas presiones hidrostáticas

La tuna y el xoconostle tienen un elevado valor nutricional, sin embargo, su vida útil resulta breve por elevado contenido de agua y azúcares lo que provoca alta susceptibilidad microbiana, además, de la termolabilidad de sus compuestos a la conservación con tratamientos térmicos. Este estudio examinó el efecto de la alta presión hidrostática (HHP; 120 a 510 MPa/5 min), la ozonización (O_3 ; 3 a 13 min) y su combinación (1 min de O_3 + 230 MPa/5 min HHP) sobre la estabilidad microbiológica, fisicoquímica (pH, sólidos solubles totales, acidez titulable y color) y nutracéutica (fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante) en una mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle (MJTX; 9:1; pH 4.3; 11.3 °Brix). La MJTX se inoculó con *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae*, se aplicaron los diferentes tratamientos y se almacenaron las muestras a 4.5 ± 0.5 °C durante 45 d. La aplicación de 256 MPa/5 min inactivó la población de *S. cerevisiae*, mientras que a 406 MPa/5 min de HHP inactivó *L. innocua* y no presentó recuperación durante 45 d. Este tratamiento inactivó la microbiota nativa y mantuvo estables los parámetros fisicoquímicos y nutracéuticos durante 35 d de frigoconservación. La ozonización de 5 y 12 min inactivó *L. innocua* y *S. cerevisiae* respectivamente y no presentaron recuperación durante 35 d. Sin embargo, 5 y 12 min degradaron color y compuestos bioactivos. La combinación de O_3 + HHP redujo $4.43 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ la población de *L. innocua* y, sin embargo, no presentó recuperación durante 45 d de frigoconservación. Además, mantuvo estable el pH, sólidos solubles, pero redujo acidez, parámetros de color y compuestos bioactivos. Estos resultados demuestran que el uso de tecnologías no térmicas prolonga la vida útil del jugo tuna-xoconostle y garantiza su inocuidad y valor funcional; por lo que representan una alternativa viable al procesamiento térmico.

Palabras clave: jugo de tuna, procesamiento no térmico, altas presiones hidrostáticas, ozono.

GENERAL ABSTRACT

Stabilization of prickly pear (*Opuntia* spp.) through ozone-high hydrostatic pressure synergy

Prickly pear and xoconostle have high nutritional value; however, their shelf life is limited due to their elevated water and sugar content, making them highly susceptible to microbial contamination. Additionally, thermal treatments negatively affect the thermolabile compounds present in these fruits. This study evaluated the effects of high hydrostatic pressure (HHP; 120 to 510 MPa/5 min), ozonation (O_3 ; 3 to 13 min), and their combination (1 min O_3 + 230 MPa/5 min HHP) on the microbiological, physicochemical (pH, total soluble solids, titratable acidity, and color), and nutraceutical stability (total phenolics, flavonoids, and antioxidant activity) of a mixed juice of prickly pear and xoconostle (9:1; pH 4.3; 11.3 °Brix). The mixed juice (MJTX) was inoculated with *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae*, subjected to different treatments, and stored at 4.5 ± 0.5 °C for up to 45 days. The application of 256 MPa/5 min inactivated the *S. cerevisiae* population, whereas 406 MPa/5 min of HHP inactivated *L. innocua*, with no microbial recovery observed over 45 days. This treatment inactivated the native microbiota and maintained the physicochemical and nutraceutical parameters stable for 35 days under refrigerated conditions. Ozonation for 5 and 12 minutes eliminated *L. innocua* and *S. cerevisiae*, respectively, without microbial recovery over 35 days. However, these ozonation times degraded color parameters and bioactive compounds. The combination of O_3 and HHP reduced the *L. innocua* population by $4.43 \text{ Log}_{10} \text{ CFU mL}^{-1}$, with no microbial recovery during 45 days of refrigerated storage. Furthermore, this combination maintained stable pH and soluble solids, although it reduced acidity, color parameters, and bioactive compounds. These results demonstrate that the use of no-thermal technologies extends the shelf life of prickly pear-xoconostle juice and ensures its safety and functional value; therefore, they represent a viable alternative to thermal processing.

Keywords: prickly pear juice, no-thermal technologies, high hydrostatic pressure, ozone.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La tuna (*Opuntia ficus-indica*) y el xoconostle (*Opuntia joconostle*) son frutos tipo baya, pertenecientes a la familia *Cactaceae*, género *Opuntia*, caracterizados por su piel gruesa y resistente, con pequeñas espinas denominadas gloquidios (Ramírez-Rodríguez et al., 2020). Ambos frutos tienen pulpa jugosa con numerosas semillas y colores variados debido a pigmentos antioxidantes denominados betalaínas (Albano et al., 2015; El-Kharrassi et al., 2016; Stintzing et al., 2005). El xoconostle destaca por su piel comestible, pericarpio grueso y pulpa poco carnosa con más semillas centrales (Arias-Rico et al., 2020). Sensorialmente, la tuna dulce posee sabor predominantemente dulce con ligeros matices ácidos según madurez, mientras que el xoconostle tiene marcada acidez, siendo utilizado ampliamente en la gastronomía tradicional mexicana (Morales et al., 2015; Osorio-Esquivel et al., 2011).

La tuna y el xoconostle tienen gran relevancia económica y cultural en México, así como por su capacidad de adaptación a condiciones climáticas áridas, lo que les confiere un elevado potencial nutracéutico y funcional para la industria alimentaria (Ramírez-Rodríguez et al., 2020; Stintzing et al., 2005). Sin embargo, la tuna presenta desafíos importantes para su procesamiento debido a su composición, debido a que está constituida por un alto contenido de agua, azúcares y baja acidez, condiciones que favorecen procesos fermentativos y deterioro microbiano, limitando así su vida útil y disponibilidad constante en el mercado (Borchani et al., 2019; Corrales-García, 2009). Los jugos de ambos frutos podrían ser de importancia para la industria alimentaria si fuese posible su conservación, así como se puede encontrar distintos jugos de frutas procesados en el mercado.

El consumo de frutas, verduras frescas y productos que logran conservar sus compuestos nutricionales, como el caso de los jugos están en aumento (Packaged Facts, 2020), por esta razón, la industria alimentaria ha desarrollado alternativas para el procesamiento de jugos, tal es el caso de los métodos de conservación no térmicos, estos logran inactivar microorganismos y conservar su

calidad nutricional (Rawson et al. 2011; Vieira et al. 2018b) por ejemplo las altas presiones hidrostáticas (HHP) y el ozono (O₃).

La pasteurización es el procesamiento térmico más usado para extender la vida útil de los alimentos, inactiva microorganismos patógenos para el ser humano y enzimas de deterioro, pero impacta negativamente atributos sensoriales, compuestos nutraceuticos y las características fisicoquímicas, por lo que se recurre al uso de aditivos para mejorar los alimentos (Asokapandian et al., 2018b).

La alta presión hidrostática es el método no térmico más importante en la industria juguera, altera mínimamente las características nutricionales y sensoriales de los alimentos, aunque la principal desventaja es el elevado costo del equipo, puede oscilar entre 0.77 a 3.15 millones de dólares (Dhineshkumar et al., 2016; Picart-Palmade et al., 2019).

El ozono es un gas con alta capacidad oxidativa que, al exponerlo en los alimentos, inactiva enzimas y microorganismos, sin embargo, puede oxidar compuestos bioactivos y afectar la calidad nutraceutica de los alimentos (Fundo et al., 2018a; Sroy et al., 2019).

La combinación de ambos métodos en los jugos de fruta podría generar un efecto sinérgico en el proceso de estabilización; el proceso de estabilización se refiere al hecho de que se produce poco o ningún crecimiento microbiano durante el almacenamiento o el tiempo, mantiene la calidad nutricional durante el procesamiento y limita los cambios enzimáticos y la oxidación durante y después del procesamiento (Picart-Palmade et al., 2019).

En el caso de jugos, la HHP extiende la vida útil microbiológica sin comprometer la textura ni la estabilidad de pigmentos (Quiroz-González et al., 2018), mientras que la ozonización muestra capacidad para eliminar levaduras y bacterias con escaso impacto en pH y sólidos solubles (Jaramillo-Sánchez, García-Loredo, & Alzamora, 2018). Sin embargo, la exposición de largos periodos de exposición resulta costoso en HHP (Barbosa-Cánovas et al., 2020; Bermúdez-Aguirre &

Barbosa-Cánovas, 2011) y, en el caso del ozono, puede reducir la calidad (Asokapandian et al., 2018; García-Mateos et al., 2019). La combinación de alta presión hidrostática y ozono se reportó en jugo de pitaya (*Stenocereus pruinosus*) por García-Mateos et al. (2019) reportaron un efecto sinérgico de ambos métodos no térmicos y consiguiendo la estabilización del jugo de esta cactácea hasta 60 d en almacenamiento refrigerado.

Debido al resultado anterior, se propuso aplicar la combinación de ozono y HHP a la mezcla de jugo de tuna (*Opuntia* spp.) con jugo de xoconostle (*Opuntia joconostle*) (MJTX; 9:1), dado que la pitaya forma parte de los frutos de las cactáceas, lo que sugiere la posibilidad de lograr la estabilización en la MJTX.

1.1. Objetivo general

1. Evaluar el efecto sinérgico de ozono (O₃) y altas presiones hidrostáticas (HHP) en la estabilización microbiológica, sensorial y nutracéutica del jugo de tuna (*Opuntia* spp.) mezclado con jugo de xoconostle (*Opuntia joconostle*).

1.2. Objetivos específicos

1. Cuantificar la población de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* (Log₁₀ UFC mL⁻¹) en la mezcla de jugo de tuna (*Opuntia* spp.) con jugo de xoconostle (*Opuntia joconostle*) (MJTX) después de la aplicación de ozono, HHP y la combinación de ozono+HHP.
2. Determinar el tratamiento de ozono, HHP y su combinación que reduzca en mayor medida la población (Log₁₀ UFC mL⁻¹) de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae*, para garantizar la inocuidad microbiológica de la MJTX.
3. Determinar la vida de anaquel de la MJTX sometida con el tratamiento seleccionado de ozono, HHP y su combinación durante su almacenamiento en refrigeración a 4.5 ± 0.5 °C.
4. Determinar la microbiota nativa de la MJTX sometida al tratamiento seleccionado de ozono, HHP y su combinación durante su almacenamiento a 4.5 ± 0.5 °C.

5. Evaluar el efecto del tratamiento seleccionado de ozono, HHP y su combinación, sobre las características fisicoquímicas y los compuestos nutraceuticos de la MJTX almacenada a 4.5 ± 0.5 °C.
6. Evaluar la preferencia de la MJTX sometida con los tratamientos seleccionados de ozono, HHP y su combinación mediante pruebas sensoriales.

1.3. Hipótesis

La combinación de altas presiones hidrostáticas (HHP) y ozonización puede ser una alternativa efectiva para estabilizar microbiológicamente el jugo de tuna (mezcla de *Opuntia* spp. y *Opuntia joconostle*), manteniendo al mismo tiempo sus propiedades sensoriales y nutraceuticas. Se espera que al aplicar tratamientos combinados de ozono y HHP, se logre una inactivación significativa de microorganismos y enzimas sin necesidad de tiempos de exposición prolongados al ozono ni de presiones extremas. Esta combinación permitiría reducir los costos asociados con las altas presiones hidrostáticas y mitigar los efectos negativos de la oxidación provocada por el ozono en los compuestos bioactivos. Adicionalmente, se plantea que esta combinación de métodos no térmicos preserve las características sensoriales y los compuestos nutraceuticos de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle. Si se confirma esta hipótesis, los productores de tuna podrían agregar valor a su producto, disminuyendo el desperdicio estacional y optimizando su comercialización en el mercado nacional. En consecuencia, se evaluará el efecto individual y combinado del ozono y las altas presiones hidrostáticas en términos de estabilidad microbiológica, sensorial y nutraceutica del jugo de tuna.

1.4. Organización de la tesis

El **Capítulo 1** es una introducción general del tema de investigación realizado, el objetivo general y particulares, así como la hipótesis del problema de estudio.

El **Capítulo 2** aborda la revisión de literatura sobre las generalidades de la tuna, el potencial agroindustrial y nutraceutico de los frutos de tuna dulce (*Opuntia* spp.) y tuna ácida (*Opuntia joconostle*), asimismo sobre los métodos de conservación

no térmicos, como la aplicación de ozono y la HHP, su efecto en los alimentos e importancia en la conservación de alimentos y un acercamiento a la legislación de los métodos no térmicos.

El **Capítulo 3** se evaluó el efecto de la HHP sobre la población de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* inoculados (por separado) en la MJTX, se determinó el nivel de presión (MPa) que redujo mayor población de cada cepa. El nivel de presión elegido se aplicó a la MJTX inoculada con ambas cepas (por separado) y se almacenó durante 45 d en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) para determinar la posible recuperación de las cepas. La microbiota nativa se determinó en la MJTX tratada con HHP y sin inoculación de microorganismos y se comparó con la MJTX sin inocular y sin tratar. De este último experimento se determinó físicoquímicos (pH, acidez titulable y acidez titulable), compuestos nutraceuticos (fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante). Además, se aplicaron pruebas sensoriales discriminativas de magnitud de diferencia y preferencia a la MJTX tratada y sin tratar.

El **Capítulo 4**, se evaluó el efecto del ozono sobre *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* inoculados (por separado) en la MJTX, se determinó el tiempo (min) de exposición de ozono que redujo la mayor población de cada cepa. El tiempo elegido se aplicó a la MJTX inoculada con dichas cepas (por separado) y el testigo (MJTX inoculada y sin aplicación de tiempo de ozono) fueron almacenadas durante 35 d a 4.5 ± 0.5 °C para determinar la posible recuperación de las cepas. Se determinó la microbiota nativa de la MJTX (sin inocular y sin tratamiento) durante 35 d a 4.5 ± 0.5 °C; a este último se evaluó el efecto del ozono sobre el pH, sólidos solubles totales (° Brix), porcentaje de acidez titulable, color y compuestos nutraceuticos de la MJTX.

El **Capítulo 5** se evaluó el efecto de la combinación de 1 min de exposición de ozono seguido de la aplicación de 230 MPa/5 min de HHP sobre la población de *Listeria innocua* inoculada en la MJTX durante 45 d a 4.5 ± 0.5 °C para determinar la posible recuperación de esta cepa. Se aplicó el mismo tratamiento al cual se

evaluó la detección de la microbiota nativa (mesófilos aerobios, hongos y levaduras), determinación de fisicoquímicos y compuestos nutraceuticos.

La aplicación de pruebas sensoriales de magnitud de diferencia y preferencia se realizaron a la MJTX tratada con la combinación de ozono+HHP y sin inoculación de microorganismos y a la MJTX sin tratamiento y sin inoculación.

Finalmente, el **Capítulo 6** se mencionan las conclusiones generales de la investigación.

1.5. Literatura citada

- Asokapandian, Sangamithra, Suganya Periasamy, and Gabriela John Swamy. 2018. Chapter 25 - Ozone for Fruit Juice Preservation. Pp. 511–27 in *Fruit Juices*, edited by G. Rajauria and B. K. Tiwari. San Diego: Academic Press.
- Dhineshkumar, V., D. Ramasamy, and M. Siddharth. 2016. “High Pressure Processing Technology in Dairy Processing: A Review.” *Asian Journal of Dairy and Food Research* 35(2). doi: 10.18805/ajdfr.v35i2.10718.
- Fundo, Joana F., Fátima A. Miller, Andréia Tremarin, Ester Garcia, Teresa R. S. Brandão, and Cristina L. M. Silva. 2018. “Quality Assessment of Cantaloupe Melon Juice under Ozone Processing.” *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 47(April):461–66. doi: 10.1016/j.ifset.2018.04.016.
- García-Mateos, Rosario, Beatriz Quiroz-González, Joel Corrales-García, Ma Carmen Ybarra-Moncada, and Gabriel Leyva-Ruelas. 2019. “Ozone-High Hydrostatic Pressure Synergy for the Stabilization of Refrigerated Pitaya (*Stenocereus Prinosus*) Juice.” *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 56(June):102187. doi: 10.1016/j.ifset.2019.102187.
- Packaged Facts. 2020. *Diet Plants and Food Philosophies in a Age of Pandemic. USA*.
- Picart-Palmade, Laetitia, Charles Cunault, Dominique Chevalier-Lucia, Marie-Pierre Belleville, and Sylvie Marchesseau. 2019. “Potentialities and Limits of Some Non-Thermal Technologies to Improve Sustainability of Food Processing.” *Frontiers in Nutrition* 5. doi: 10.3389/fnut.2018.00130.
- Rawson, A., A. Patras, B. K. Tiwari, F. Noci, T. Koutchma, and N. Brunton. 2011. “Effect of Thermal and Non Thermal Processing Technologies on the Bioactive Content of Exotic Fruits and Their Products: Review of Recent Advances.” *Food Research International* 44(7):1875–87. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.053>.
- Sroy, Sengly, Joana F. Fundo, Fátima A. Miller, Teresa R. S. Brandão, and Cristina L. M. Silva. 2019. “Impact of Ozone Processing on Microbiological, Physicochemical, and Bioactive Characteristics of Refrigerated Stored Cantaloupe Melon Juice.” *Journal of Food Processing and Preservation* 43(12). doi: 10.1111/jfpp.14276.
- Vieira, Fabiana N., Sónia Lourenço, Liliana G. Fidalgo, Sónia A. O. Santos, Armando J. D. Silvestre, Eliana Jerónimo, and Jorge A. Saraiva. 2018a. “Long-Term Effect on Bioactive Components and Antioxidant Activity of Thermal and High-Pressure Pasteurization of Orange Juice.” *Molecules (Basel, Switzerland)* 23(10):2706. doi: 10.3390/molecules23102706.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Generalidades del fruto de tuna

La tuna (tuna dulce) y el xoconostle (tuna ácida) son frutos que pertenecen al género *Opuntia*, de la familia *Cactaceae* (Ramírez-Rodríguez et al., 2020). En particular, la tuna (*Opuntia ficus-indica*) y el xoconostle (*Opuntia joconostle*) (**Figura 1**) se clasifican como bayas carnosas con una epidermis gruesa y resistente, ambos frutos tienen una forma que varía desde ovoide hasta esférica, una piel ligeramente rugosa cubierta por pequeñas y frágiles espinas denominadas gloquidios, que miden alrededor de 3 mm de largo. Las dimensiones de estos frutos generalmente oscilan entre 5 y 10 cm de largo, con un peso que puede alcanzar hasta los 300 gramos (Osorio-Esquivel, Ortiz-Moreno, Álvarez, Dorantes-Álvarez y Giusti, 2011).



Figura 1. A) Fruto de tuna dulce (*Opuntia* spp.), B) tuna ácida “xoconostle” (*Opuntia joconostle*).

Internamente, ambos frutos presentan una pulpa jugosa que contiene numerosas semillas y poseen una diversidad de colores que incluyen tonos verdes, amarillos, naranjas, rojos y púrpuras (Albano et al., 2015; El-Kharrassi et al., 2016). Esta amplia variedad cromática se debe principalmente a la presencia de pigmentos

conocidos como betalainas, compuestos reconocidos por su significativa actividad antioxidante (Stintzing et al., 2005).

El xoconostle, tiene piel suave y comestible, pericarpio grueso, pulpa poco carnosa con un mayor contenido de semillas en el centro (Arias-Rico et al., 2020). En cuanto al perfil sensorial, la tuna dulce se caracteriza por un sabor dulce, el cual puede presentar leves matices ácidos según el grado de madurez y el xoconostle se distingue por su acentuada acidez. Esta cualidad lo hace especialmente adecuado para la preparación de salsas, bebidas y conservas en la cocina tradicional mexicana, ambos frutos han jugado un papel importante en la cultura y economía regional (Morales, Barros, Ramírez-Moreno, Santos-Buelga y Ferreira, 2015; Osorio-Esquivel et al., 2011).

2.2. Clima y distribución geográfica de la tuna

Las especies del género *Opuntia* están intrínsecamente adaptadas a climas áridos y semiáridos en regiones con temperaturas entre 15 y 35 °C, con una precipitación de 250 a 600 mm, debido a sus mecanismos morfológicos y fisiológicos. Los mecanismos morfológicos son la formación de tallos suculentos llamados cladodios, los cuales permiten el almacenamiento de agua y nutrientes (Boutakiout et al., 2018) y los fisiológicos corresponden al metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) el cual es una adaptación fotosintética que permite a las plantas concentrar carbono inorgánico de manera controlada y mejora la eficiencia del uso del agua (Niechayev et al., 2019).

A diferencia de las plantas con fotosíntesis C3 y C4, que absorben CO₂ principalmente durante el día, las plantas CAM trasladan parcial o totalmente esta absorción a la noche, cuando la diferencia de presión de vapor de agua entre el aire y las hojas es menor, lo que reduce la pérdida de agua (Elejo et al., 2018), estas adaptaciones son fundamentales para su supervivencia e incluso para crecer en condiciones desérticas, incluyendo tierras no aptas para la agricultura (Jacobsen, Sørensen, Pedersen and Weiner, 2015).

México es considerado centro de origen y diversidad genética del género *Opuntia*, en estados como Puebla, Zacatecas, Guanajuato, Estado de México y

San Luis Potosí, estos frutos poseen una alta relevancia tanto a nivel de producción como de consumo (Valero-Galván et al., 2021).

La adaptabilidad de este género ha facilitado su cultivo en diversas regiones semiáridas de América Latina, Norteamérica, el Mediterráneo, África del Norte, Medio Oriente y Australia, esta amplia distribución refleja su potencial económico y su importancia para la seguridad alimentaria en ambientes áridos (El-Kharrassi et al., 2016).

Estas condiciones, junto con un manejo adecuado del riego y del suelo, favorecen el desarrollo y la productividad de estos cultivos, consolidándolos como una alternativa agrícola viable en zonas con climas extremos (Cota-Sánchez, 2016b).

2.3. Importancia económica de la tuna

La tuna es un fruto de relevancia económica debido a que es generador de empleos en regiones áridas, donde el cultivo de otras especies agrícolas suele ser complicado (Timpanaro et al., 2015). En el año 2023, México reportó una superficie sembrada de 41,250 hectáreas y una superficie cosechada de 40,008 hectáreas. Durante este periodo, la producción anual de tuna ascendió a 426,549 toneladas, lo que generó un valor económico total de 1,620,181 pesos (SIAP y SIACON, 2024).

Los principales estados productores de tuna en México son Aguascalientes, Baja California Sur, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas. Destaca el Estado de México como el mayor productor nacional, seguido por Puebla y Zacatecas (**Figura 2**).

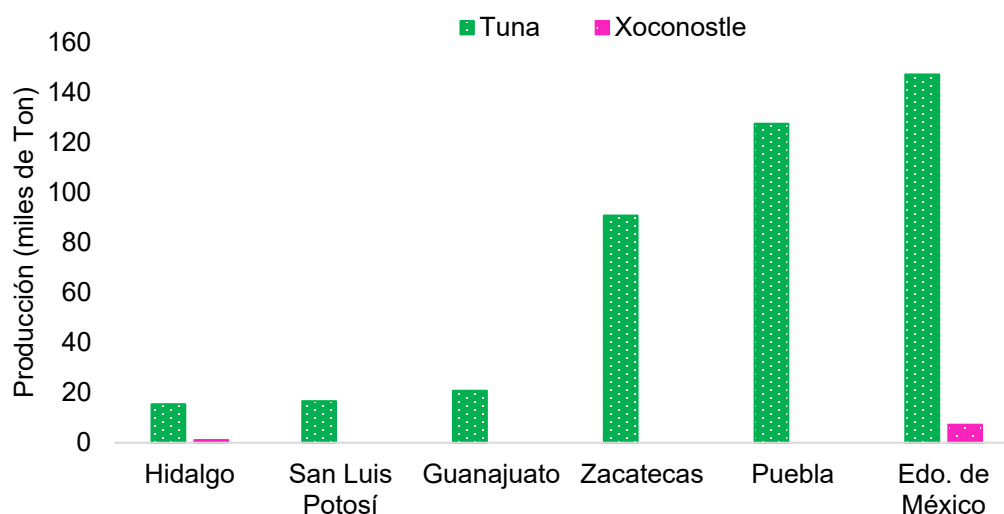


Figura 2. Principales estados productores de tuna y xoconostle en 2023. Fuente: (SIAP y SIACON, 2024). Elaboración propia.

Además, este fruto presenta una alta demanda en los mercados norteamericanos, particularmente entre las comunidades de connacionales radicados en esos territorios (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2023).

Las variedades de tuna dulce con mayor comercialización en México incluyen alfajayucan, blanca cristalina, blanca burrón, roja, amarilla y la tuna ácida llamada xoconostle (SIAP y SIACON, 2024).

La temporada de cosecha de la tuna en México abarca desde abril hasta noviembre, siendo los meses entre julio y octubre aquellos que registran el pico más alto en la producción (SADER, 2023).

En México, los productores de tuna afrontan desafíos técnicos de manejo para su comercialización, a causa de intermediarios en la venta de ésta, lo que genera un descenso en el precio y pérdida para el productor, asimismo favorece el aumento del precio (Corrales-García y Flores-Valdez, 2003) al consumidor; del mismo modo, la saturación o estacionalidad de la producción entre julio a septiembre origina una pérdida de fruta por la sobreproducción promoviendo aún más el descenso de su precio, aunado a que la tuna es perecedera, es importante hacer uso del procesamiento para promover su aprovechamiento mediante su

industrialización e incrementar su vida de anaquel (Corrales-García y Flores-Valdez, 2000).

Asimismo, el cultivo de tuna favorece prácticas agrícolas sostenibles en zonas áridas, contribuyendo a la recuperación de tierras degradadas y a la diversificación de la producción, de esta manera la integración de estos cultivos en sistemas agroforestales y la revalorización de sus subproductos promueven una economía circular que aporta beneficios ambientales y socioeconómicos (Cota-Sánchez, 2016b).

2.4. Aprovechamiento y limitaciones de la tuna

La tuna se consume principalmente fresca debido a su sabor dulce y textura jugosa; no obstante, también se procesa como jugos, néctares, mermeladas, jaleas, gomitas, laminillas, confitados, almíbares y jarabes. Dichos productos aportan energía de rápida asimilación y compuestos bioactivos. Además, la tuna se emplea para elaborar bebidas alcohólicas como vino (fermentación del fruto), aguardiente (destilado del vino) y licor (mezcla de alcohol etílico y pulpa sin cáscara) (Corrales-García, 2009; Ramírez-Rodríguez et al., 2020). Adicionalmente, su procesamiento genera subproductos valiosos como los pigmentos naturales (betalaínas) extraídos de tunas rojas y amarillas (Stintzing et al., 2005).

A pesar de sus beneficios y usos potenciales, la composición química de la tuna limita su aprovechamiento. En particular, su alto contenido de agua (que le da un excelente atributo de succulencia y jugosidad), alta concentración de azúcares (que le dan un excelente sabor dulce) y baja acidez favorecen procesos de fermentación y ataques microbiológicos por bacterias, hongos y levaduras, afectando negativamente su conservación y reduciendo su vida útil.

En contraste, el xoconostle, caracterizado por su acentuada acidez, se utiliza principalmente para la elaboración de salsas, condimentos, bebidas y conservas tradicionales, ampliando las opciones gastronómicas y culturales (Morales et al., 2015). La transformación de estos frutos en diferentes formatos procesados no solo facilita su consumo durante todo el año, sino que también permite

aprovechar y concentrar sus propiedades funcionales, abriendo oportunidades para el desarrollo de productos de alto valor agregado en la industria alimentaria (Albano et al., 2015).

Los productos y subproductos derivados de la tuna en la industria alimentaria presentan el desafío de preservar las características sensoriales originales del fruto, específicamente en términos de sabor, color y aroma, lo anterior, se debe principalmente a que durante los procesos térmicos convencionales, como la pasteurización, se pierden diversos compuestos volátiles responsables del sabor y aroma típicos y delicados de la tuna, debido a su bajo peso molecular y su sensibilidad térmica (termolábiles) (Corrales-García, 2009); además, causan la degradación de compuestos bioactivos como las betalainas, fenoles y vitamina C, lo cual compromete no solo las propiedades organolépticas del alimento, sino también sus propiedades funcionales y su valor nutricional (Borchani et al., 2019; Cruz-Bravo et al., 2019).

2.5. Métodos no térmicos: para la conservación de alimentos

Las limitaciones inherentes al procesamiento de los frutos de tuna han promovido la búsqueda de métodos alternativos que permitan preservar la calidad final del producto y mitigar los efectos negativos derivados de tratamientos térmicos convencionales. En este contexto, se ha explorado el uso de tecnologías no térmicas o tratamientos suaves como alternativas viables para lograr estos objetivos.

La percepción que tienen los consumidores respecto a los alimentos procesados está estrechamente relacionada con el método utilizado para su conservación, ya que diversos estudios han indicado que los consumidores tienden a asociar los tratamientos térmicos intensivos con una considerable pérdida de nutrientes, alteración de sabores y la adición de aditivos artificiales, lo cual genera desconfianza sobre la calidad nutricional del producto (Devia et al., 2021). Por otro lado, los métodos de conservación no térmicos suelen ser vistos por los consumidores como técnicas más naturales y capaces de mantener una mayor calidad nutricional (Hernández-Torres et al., 2022).

Los métodos no térmicos comprenden tecnologías como el procesamiento por alta presión hidrostática (HPP por sus siglas en inglés), la ultrasonificación (US) y el plasma frío, las cuales operan a temperaturas ambiente o ligeramente elevadas (Borchani et al., 2019; Gómez-Maqueo, Welti-Chanes and Cano, 2020). Los métodos no térmicos aplicados al procesamiento de jugos incluyen técnicas como las altas presiones hidrostáticas (Quiroz-González et al., 2018), los impulsos sónicos o ultrasonidos (Ferrario et al., 2013) y la ozonización (Asokapandian, Periasamy and Swamy, 2018; Jaramillo-Sánchez, García-Loredo and Alzamora, 2018; Sroy et al., 2019).

Estos métodos permiten una inactivación eficiente de microorganismos, alcanzan reducciones microbianas de 5 log UFC y desactivan enzimas sin aplicar calor intenso. En consecuencia, extienden la vida útil de los alimentos, conservan vitaminas, pigmentos, textura, compuestos bioactivos y atributos sensoriales, en comparación con los tratamientos térmicos tradicionales (Alves-Filho et al., 2018; Pérez-Andrés et al., 2018). Por ello, estas tecnologías representan una alternativa prometedora para obtener productos similares a los frescos, con alta calidad nutricional y propiedades nutraceuticas potenciadas (Gómez-Maqueo et al., 2020).

Adicionalmente, la reducción o eliminación del uso intensivo de calor se traduce en un menor consumo energético y reduce el impacto ambiental, aspectos que son valorados en la producción sostenible de alimentos (Pereira & Vicente, 2010).

Lo anterior, responde a la demanda de alimentos saludables y funcionales que ofrezcan beneficios adicionales, como la prevención de enfermedades; los consumidores prefieren productos con un perfil nutricional superior y que, a pesar de estar procesados, conservan características similares a los frescos, lo que mejora su percepción global de su salud e influye positivamente en la intención de compra de este tipo de alimentos (Devia et al., 2021).

Por otra parte, la combinación de estas tecnologías no térmicas ha mostrado resultados prometedores en cuanto a la estabilización microbiológica y nutraceutica de diversos jugos, como la aplicación conjunta de ozono con

ultrasonido en jugo de acaí, la combinación de ozono con altas presiones hidrostáticas en jugo de pitahaya y la combinación de ultrasonido con radiación UV en jugo de mango (Flávia et al., 2018; García-Mateos et al., 2019; Wang et al., 2020). Estas estrategias combinadas permiten aprovechar las ventajas individuales de cada técnica, optimizando así la conservación de los jugos procesados.

2.6. Alta presión hidrostática

La presión hidrostática fue definida por Pascal en 1663 en su estudio sobre el equilibrio de los líquidos, se refiere a la presión ejercida sobre fluidos o sólidos sumergidos en un fluido (Menéndez et al., 2011).

El proceso de presión hidrostática se basa en el Principio de Pascal o Ley Isostática, que establece que la presión se transmite de manera instantánea y uniforme en todas las direcciones dentro de un fluido o sólido, sin depender del tamaño, la geometría del objeto ni la relación tiempo/volumen, esto lo diferencia de los tratamientos térmicos, ya que los tiempos de proceso suelen ser más cortos (Domínguez-Ramírez, 2013).

La presión isostática, se transmite de manera uniforme, garantizando un tratamiento homogéneo y minimizando la degradación de compuestos sensibles al calor (Waghmare, 2024) a diferencia de la presión unidireccional, que concentra la fuerza en una sola dirección, lo que provoca una deformación del cuerpo sin control (**Figura 3**)(Domínguez-Ramírez, 2013; Menéndez et al., 2011).

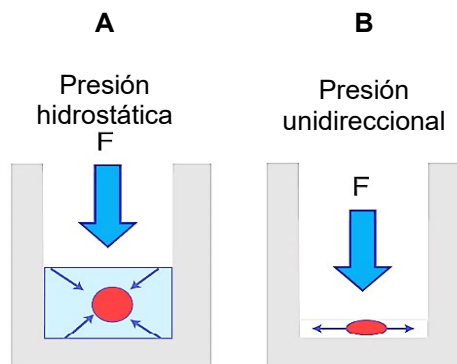


Figura 3. Diagrama presión hidrostática y presión unidireccional. A. El Principio de Pascal que rige el proceso de presión hidrostática. B. La presión unidireccional por la presión.

2.7. Altas presiones hidrostáticas sobre los alimentos

La alta presión hidrostática, o presión fría, consiste en aplicar presiones elevadas de entre 100 a 1,000 MPa a los alimentos transmitidas por agua a temperatura ambiente (Demazeau & Rivalain, 2011; Simonin, Duraton and de Lamballerie, 2012). Este método, inactiva microorganismos al destruir sus esporas (más de 500 MPa) y dañar las bacterias, afectando su membrana celular, proteínas y vacuolas, además de inactivar las enzimas que causan el deterioro de los alimentos (entre 300 y 400 MPa) y al mismo tiempo, no afecta las moléculas pequeñas como aminoácidos o vitaminas, ya que la alta presión no altera los enlaces covalentes, esto ayuda a preservar las propiedades de sabor, olor y color de los alimentos tratados, prolongando su vida útil (Rios-Corripio et al., 2020).

Al aplicar las HHP a los alimentos, es importante considerar la temperatura a la que se inicia el proceso de presurización, ya que, al aplicarse presión, la temperatura aumenta entre 1 y 3 °C por cada 100 MPa, esto puede ser problemático para productos muy sensibles al calor, ya que se genera un calentamiento pasivo por compresión adiabática y un enfriamiento pasivo por descompresión adiabática, ambos inevitables. Por ello, es esencial conocer los niveles de presión y el tiempo de presurización adecuados para evitar el deterioro de los alimentos, mientras se garantiza la inactivación de microorganismos, como es el caso de las fresas, ya que pueden desintegrarse bajo mínima presión (Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2011; Yamamoto, 2017).

Los alimentos ácidos son ideales para el procesamiento a alta presión, ya que pueden prolongar su vida útil de 2 a 3 veces más que los alimentos pasteurizados; sin embargo, este método tiene limitaciones, ya que los alimentos deben contener agua para soportar la compresión, y los ricos en proteínas pueden deteriorarse debido a la desnaturalización causada por la presión, lo que altera su textura (Chawla, Patil and Singh, 2011). Los alimentos con baja acidez también presentan dificultades para eliminar enzimas y esporas, ya que requieren presiones muy altas (600 a 800 MPa), lo que podría afectar la calidad del producto (Dhineshkumar, Ramasamy and Siddharth, 2016).

La HPP mantiene estables parámetros como el color, pH, sólidos solubles totales y acidez (Szczepańska et al., 2020). Además, retiene mejor compuestos bioactivos como la vitamina C y los polifenoles en comparación con los tratamientos térmicos (Zhang et al., 2021). Asimismo, la HPP afecta de manera mínima los macronutrientes, como carbohidratos, proteínas y grasas, debido a la ausencia de reacciones de oxidación inducidas por calor, aunque pueden ocurrir ligeros cambios en la actividad enzimática residual, lo que puede influir en la estabilidad del alimento, por ejemplo, reduciendo la actividad de la polifenol oxidasa y minimizando el pardeamiento (Fernández-Jalao, Sánchez-Moreno and De Anchos, 2019).

Las HHP han mostrado un efecto mínimo en la degradación de la clorofila, como se observa en estudios con brócoli, judías verdes y espinacas (Oey et al., 2008). En Aloe vera, aplicar 500 MPa durante 5 min puede preservar los compuestos nutricionales y antioxidantes, sin afectar su calidad fisicoquímica durante hasta 60 d, además de inactivar la microbiota nativa (Vega-Gálvez et al., 2012).

El uso de HHP puede aumentar el contenido de carotenoides en pulpas de aguacate, papaya y mango (Hernández-Brenes et al., 2013), en jugo de mora se mantuvo la capacidad antioxidante, antocianinas, fenoles totales, color, las características reológicas como de viscosidad y la estabilidad microbiológica durante 28 d almacenadas a 4 °C (Zou et al., 2016).

2.8. Altas presiones hidrostáticas sobre los microorganismos

El efecto de las HHP sobre los microorganismos se debe a que causan daño a los enlaces no covalentes sensibles como los enlaces hidrógeno, iónicos e hidrofóbicos y que generalmente están presentes en moléculas grandes como las proteínas, polisacáridos, lípidos y ácidos nucleicos, de esta manera causa la inactivación de los microorganismos al romper la membrana celular alterando las estructura intracelulares lo que causa daño irreversible e inactivación de bacterias, hongos, levaduras y mohos (Gouvea et al., 2023; Roobab et al., 2018).

Los microorganismos reaccionan de manera diferente a la presión según su clasificación, los mohos y las levaduras son más sensibles a la presurización (Yildiz et al., 2019); en cambio las bacterias Gram negativas tienen una sensibilidad media, mientras que las Gram positivas son más resistentes, especialmente sus células vegetativas y esporas, que requieren mayor presión para inactivarlas; sin embargo, esto depende del tipo de alimento y el medio en el que se encuentren (Bello et al., 2014).

Las bacterias Gram positivas, como las familias *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus* y *Clostridium* son más resistentes a las HHP debido a que su membrana celular externa es más gruesa en comparación con las Gram negativas; además, el tamaño y forma también influyen en su resistencia, las de forma cocoide y pequeña son más resistentes que las de forma de varilla y grandes (Patterson et al., 2012).

La presurización acelera la cinética de inactivación de los microorganismos en comparación con la del tratamiento térmico y elimina el riesgo de diversos patógenos transmitidos por los alimentos como *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Listeria* dentro de los productos alimenticios envasados sin aditivos (Agregán et al., 2021; Dhineshkumar et al., 2016).

Se ha reportado que la acción antimicrobiana de la HPP puede lograr reducciones de 5 a 6 Log₁₀ UFC al aplicar presiones entre 300 y 600 MPa durante 1 a 5 min, dependiendo la resistencia del microorganismo, el pH y la composición del alimento (Gouvea et al., 2020; Pokhrel et al., 2022).

Particularmente, *Listeria monocytogenes* es una bacteria psicotrópica Grampositiva que puede causar listeriosis en los humanos, esta bacteria tiene la capacidad de crecer en condiciones de refrigeración y resistir altas temperaturas, humedad y atmósferas modificadas, lo que le permite adaptarse fácilmente a diferentes estreses ambientales (Costa et al., 2018).

El consumo de una dosis inferior a 1,000 organismos de esta bacteria puede provocar intoxicación alimentaria en personas vulnerables o hasta la muerte, por ello su inactivación es crucial para garantizar la inocuidad alimentaria (Bruschi et al., 2017). Debido a la resistencia de esta bacteria, se utiliza como microorganismo indicador para validar los procesos de procesamiento de alimentos que buscan eliminarla (Bahrami et al., 2020; Koutchma, 2020).

2.9. Altas presiones hidrostáticas en jugos

En líquidos, la HHP se distribuye de manera uniforme, asegurando una reducción microbiana homogénea (Pokhrel et al., 2019, 2022).

El efecto de la HHP sobre las bacterias enteropatógenas en jugos ha sido muy estudiado, por ejemplo, en jugo de kiwi (*Actinidia deliciosa*) y jugo de piña (*Ananas comosus*) se probó que, al aplicar 300 MPa durante 5 min en un rango de temperatura de 0 a 10 °C, se logró inactivar *Escherichia coli* y *Listeria innocua* (Buzrul et al., 2008).

En jugos de pitaya al aplicar presiones de 400 a 600 MPa lograron reducir significativamente poblaciones de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* (Quiroz-González et al., 2018). La aplicación de HHP en puré de melón con y sin ácido ascórbico obtuvo una inactivación total de *Salmonella entérica* al aplicar 500 MPa a 8 °C, pero *Listeria innocua* en puré de melón sin ácido ascórbico presentó mayor resistencia que *Salmonella entérica* (Mukhopadhyay et al., 2016).

El efecto del procesamiento con HPP en el jugo de zanahoria (*Daucus carota*), se logró una reducción de 4 Log₁₀ UFC en la población microbiana nativa tras aplicar 500 y 600 MPa durante 1 min a 20 °C (Patterson et al., 2012).

Sin embargo, el uso excesivo de niveles elevados de presión puede provocar efectos no deseados en las características del jugo; tal es el caso del jugo del cactus *Opuntia dillenii*, donde al aplicar una presión de 800 MPa se obtuvo una reducción de 6 Log₁₀ UFC, pero acompañada de modificaciones leves en sus propiedades sensoriales (Moussa-Ayoub et al., 2017).

El jugo de manzana (*Malus domestica*) sin acidificar mostró una reducción significativa de bacterias mesófilas aerobias al aplicar 500 y 600 MPa durante 1 min, y esta reducción se mantuvo constante durante el almacenamiento a 4 °C, logrando una estabilización microbiológica; pero, no logró inactivar la enzima polifenol oxidasa (PO), lo que causó que el jugo se oscureciera durante el almacenamiento en refrigeración (McKay et al., 2011).

El principal objetivo del tratamiento con HHP en alimentos es asegurar su estabilidad microbiológica; sin embargo, este método presenta aspectos negativos relacionados con la calidad sensorial y nutracéutica (Calderón-Santoyo et al., 2019). En este sentido, estudios realizados en jugo de mango Keitt muestran que la aplicación de HHP preserva únicamente seis de doce compuestos aromáticos presentes en el jugo fresco; además, las evaluaciones sensoriales indicaron una preferencia significativamente mayor hacia el jugo no tratado (Zhang et al., 2019).

La aplicación de HHP en vino tinto presentó un efecto negativo, debido a que los niveles de fenoles, antocianinas, flavonoides y taninos fueron afectados significativamente al aplicar de 250 a 650 MPa durante 15 a 120 min a temperatura ambiente (Tao et al., 2012).

2.10. Ozonización

La ozonización consiste en la aspersión directa de ozono gaseoso (O₃) sobre el producto a tratar, lo que promueve reacciones químicas a través de radicales libres, principalmente el hidroxilo, este proceso causa la inactivación enzimática y ruptura de membranas celulares de los microorganismos, provocando su muerte sin dejar residuos tóxicos, ya que el ozono se descompone rápidamente

en oxígeno diatómico (O_2) (Marque & Santelli, 2018; Cullen, Valdramidis and O'Donnell, 2010).

El O_3 es un alótropo del oxígeno con alta capacidad oxidante, la cual puede generarse a partir del oxígeno (O_2) mediante descargas eléctricas o procesos fotolíticos, o producirse in situ con generadores que utilizan oxígeno concentrado (Pandiselvam, Subhashini and Shahir, 2019).

En la industria alimentaria, el O_3 se aplica tanto en forma gaseosa para desinfectar superficies y espacios cerrados, como en solución acuosa, debido a su alta solubilidad a bajas temperaturas, empleándose para el lavado y descontaminación de líquidos alimenticios (Asokapandian et al., 2018b).

El O_3 posee gran efectividad antimicrobiana y se descompone rápidamente en oxígeno, su elevada reactividad puede ocasionar oxidaciones indeseadas en compuestos sensibles, afectando características nutracéuticas y sensoriales, debido a ello es importante controlar las condiciones como la concentración de O_3 , el tiempo de exposición, el pH y la temperatura (Marque & Santelli, 2018a; Öztekin, 2019a).

La aplicación de O_3 es considerada un proceso no térmico sustentable, que puede aplicarse en jugos de frutos tradicionales y de frutos regionales y exóticos como los del género *Opuntia* (Asokapandian et al., 2018; Pandiselvam et al., 2019).

2.11. El efecto del ozono sobre los microorganismos

El efecto antimicrobiano del O_3 se fundamenta en su capacidad para oxidar componentes esenciales de la célula lo que provoca daños irreversibles provocando la inactivación de bacterias, hongos, levaduras y mohos (Choi et al., 2012a).

La aplicación de O_3 mediante columnas de burbujas en líquidos ha demostrado que puede lograr reducciones de hasta 5 Log₁₀ UFC en microorganismos patógenos, como *Listeria monocytogenes* y *Listeria innocua*, dependiendo de la concentración y las condiciones de pH (Patil et al., 2010a).

La eficacia de la inactivación de microorganismos depende de la dosis de O₃, el tiempo de exposición y la composición del alimento; en sistemas con pH bajo, la respuesta adaptativa de los microorganismos puede requerir tiempos de tratamiento prolongados (Supian et al., 2022a).

2.12. El efecto del ozono en jugos

La aplicación de O₃ influye sobre diversos parámetros fisicoquímicos en alimentos. En el caso del jugo de Kinnow (*Citrus reticulata*), Iqbal et al. (2023) reportan un incremento en flavonoides y actividad antioxidante, mientras que el pH y la acidez permanecieron constantes. Estos resultados sugieren que, bajo condiciones controladas, el tratamiento con O₃ puede potenciar compuestos bioactivos y mejorar la estabilidad del producto.

Por otro lado, Sroy et al. (2019) mencionan cambios leves en color, luminosidad y viscosidad del jugo de durazno, aunque sin modificaciones significativas en sólidos solubles totales (°Brix) y acidez. Sin embargo, otros estudios (Choi et al., 2012a; Patil et al., 2009a, 2011) señalan que el O₃ reduce eficazmente poblaciones microbianas, como *E. coli*, *Salmonella* y *S. cerevisiae* en jugos de naranja y manzana, pero provoca pérdidas significativas de ácido ascórbico y antocianinas, además de afectar negativamente el color.

2.13. Normatividad de los métodos no térmicos

A nivel global, diversas instituciones y agencias gubernamentales han establecido regulaciones para el uso de métodos no térmicos en alimentos, tal es el caso de la Administración de Alimentos y Medicamentos (*Food and Drug Administration*, FDA por sus siglas en inglés) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (*United States Department of Agriculture*, USDA por sus siglas en inglés), que reconocen la alta presión hidrostática (HHP) y el ozono (O₃) como tecnologías seguras para el procesamiento alimentario.

La FDA aprobó el O₃ como aditivo secundario (Food and Drug Administration & Department of Health and Human Services (HHS), 2001), mientras que el USDA acepta la validación de procesos de HHP mediante planes de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (*Hazard Analysis and Critical Control Points*, HACCP

por sus siglas en inglés). No obstante, ambas agencias requieren evidencia científica sobre la eficacia microbiológica de dichos métodos, especialmente una reducción mínima de 5 Log₁₀ UFC para *E. coli* (United States Department of Agriculture (USDA) & Food Safety and Inspection Service (FSIS), 2024).

En Europa, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (*European Food Safety Authority*, *EFSA* por sus siglas en inglés), junto con la Comisión Europea, también evalúa y regula los métodos no térmicos para garantizar su seguridad e inocuidad (Commission Regulation European Union, 2011; EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) et al., 2022).

Las instituciones gubernamentales en América Latina, Asia y Oceanía adoptan las directrices internacionales y las ajustan según sus contextos regulatorios específicos. En México y Brasil, la regulación se basa principalmente en recomendaciones emitidas por la *FDA* y la *EFSA*, las cuales autorizan el uso de HHP y O₃ previa validación científica del cumplimiento de estándares microbiológicos y ausencia de residuos tóxicos, en concordancia con las directrices del *Codex Alimentarius* para sistemas integrados de gestión de inocuidad alimentaria (Codex Alimentarius, 2012).

2.14. Regulación del uso de alta presión hidrostática y ozono en la industria alimentaria

La *FDA* y el *USDA* aprobaron el procesamiento por altas presiones hidrostáticas (HHP) como alternativa a la pasteurización tradicional de alimentos (Wang et al., 2016). Por recomendación de la *FDA*, el Comité Asesor Nacional sobre Criterios Microbiológicos en Alimentos (*NACMCF*) ha establecido lineamientos específicos para el procesamiento de jugos, los cuales consideran como organismos de referencia a aquellos con mayor resistencia a la acidez y a los tratamientos térmicos, como *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*. De acuerdo con estos lineamientos, los procesos de conservación deben garantizar, como mínimo, una reducción de 5 ciclos logarítmicos (Log₁₀ UFC) en la carga microbiana. Asimismo, se establece como objetivo de inocuidad alimentaria (*FSO*, *Food Safety Objective*) que, en el momento del consumo, la concentración

máxima permisible de patógenos entéricos no supere 1 UFC por cada 10 litros de jugo. Estas directrices buscan asegurar un nivel apropiado de protección para la salud pública, conforme a los estándares internacionales en materia de inocuidad jugo (Calderón-Santoyo et al., 2019; NACMCF, 1991, 2006).

Previamente en 2004, dicho comité estableció la pasteurización como cualquier tratamiento o combinación de tratamientos aplicados a los alimentos para reducir de manera significativa el microorganismo más resistente y relevante desde el punto de vista sanitario. Dicho proceso asegura la inocuidad del alimento durante las etapas posteriores de distribución y almacenamiento (NACMCF, 2006; Standards for Safe Food, 2003).

Posteriormente, las limitaciones para crear regulaciones de los tratamientos no térmicos generó una Iniciativa de Armonización Global (*Global Harmonization Initiative, GHI*) implementada por la División Internacional del Instituto de Tecnólogos en Alimentos (*International Division of the Institute of Food Technologists*) y la Federación Europea de Ciencia y Tecnología de Alimentos (*European Federation of Food Science and Technology, EFFoST*) para establecer un sistema de regulación a nivel mundial y poder dar recomendaciones para que se implementen en los países que lo requieran (Barbosa-Cánovas & Bermúdez-Aguirre, 2010).

Luego, la *FDA* ha permitido que la HHP se utilice para alcanzar una reducción microbiológica equivalente a la pasteurización térmica (FDA, 2017).

Más recientemente los parámetros operativos se sitúan en el rango de 400 a 600 MPa durante 1 a 5 min, y su validación se realiza a través de estudios científicos que demuestran reducciones de al menos 5 Log₁₀ UFC en patógenos críticos (USDA & FSIS, 2024).

En la Unión Europea, la *EFSA* ha emitido opiniones científicas que respaldan el uso de altas presiones hidrostáticas (HHP) en alimentos, asegurando que no alteran su composición. Por otra parte, el O₃ está regulado como sustancia activa bajo el Reglamento (UE) 528/2012 para productos biocidas, condicionado a la

aplicación de buenas prácticas de manufactura y que cumplan con los criterios microbiológicos establecidos en el Reglamento (CE) 2073/2005 y validación del proceso para garantizar la inocuidad sin modificar la naturaleza del alimento (EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) et al., 2022).

De manera similar, la *FDA* autoriza el uso de O_3 como agente antimicrobiano para desinfectar superficies, agua de lavado y equipos en la industria alimentaria. Esta aprobación se fundamenta en su rápida conversión a oxígeno, evitando residuos tóxicos, y su clasificación como sustancia *GRAS* que es un acrónimo de “*Generally Recognized As Safe*” (Generalmente Reconocido Como Seguro), la cual incluye sustancias consideradas inocuas según evidencia científica y consenso de expertos (FDA, 2001).

La regulación europea sobre la aplicación de O_3 , según el Reglamento (UE) 528/2012, establece límites específicos para asegurar la eficacia antimicrobiana sin afectar negativamente la calidad del alimento (*Commission Implementing Regulation European Union, 2023; Commission European, 2011*).

La normativa internacional promueve la incorporación de métodos como la alta presión hidrostática (HHP) y el O_3 en sistemas de gestión de inocuidad alimentaria, requiriendo evidencia científica sólida y documentación precisa sobre las condiciones de procesamiento mediante validaciones internas. Estos tratamientos constituyen alternativas viables a los procesos térmicos tradicionales, atendiendo la creciente demanda de alimentos con características similares a las frescas (Xue, Macleod and Blaxland, 2023).

2.15. Literatura citada

- Agregán, R., Munekata, P. E. S., Zhang, W., Zhang, J., Pérez-Santaescolástica, C., & Lorenzo, J. M. (2021). High-pressure processing in inactivation of *Salmonella* spp. in food products. *Trends in Food Science & Technology*, 107, 31–37. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.11.025>
- Albano, C., Negro, C., Tommasi, N., Gerardi, C., Mita, G., Miceli, A., de Bellis, L., & Blando, F. (2015). Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. *Antioxidants*, 4(2), 269–280. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX4020269>
- Alves-Filho, E. G., Silva, L. M. A., de Brito, E. S., Wurlitzer, N. J., Fernandes, F. A. N., Rabelo, M. C., Fonteles, T. V., & Rodrigues, S. (2018). Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC–MS coupled to chemometrics. *Food Chemistry*, 265(February), 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.038>
- Arias-Rico, J., Del Socorro Cruz-Cansino, N., Cámara-Hurtado, M., López-Froilán, R., Pérez-Rodríguez, M. L., De Cortes Sánchez-Mata, M., Jaramillo-Morales, O. A., Barrera-Gálvez, R., & Ramírez-Moreno, E. (2020). Study of xonostle (*Opuntia* spp.) powder as source of dietary fiber and antioxidants. *Foods*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/FOODS9040403>
- Asokapandian, S., Periasamy, S., & Swamy, G. J. (2018). Ozone for Fruit Juice Preservation. *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, 511–527. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00025-4>
- Bahrami, A., Moaddabdoost Baboli, Z., Schimmel, K., Jafari, S. M., & Williams, L. (2020). Efficiency of novel processing technologies for the control of *Listeria monocytogenes* in food products. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 61–78. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.12.009>
- Barbosa-Cánovas, G., y Bermúdez-Aguirre, D. (2010). Procesamiento no térmico de alimentos. *Scientia Agropecuaria*. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2010.01.08>
- Bello, E., Martínez, G., Ceberio, B., Rodrigo, D., & López, A. (2014). High Pressure Treatment in Foods. *Foods*, 3(3). <https://doi.org/10.3390/foods3030476>
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2011). An Update on High Hydrostatic Pressure, from the Laboratory to Industrial Applications. *Food Engineering Reviews*, 3(1), 44–61. <https://doi.org/10.1007/s12393-010-9030-4>
- Borchani, M., Masmoudi, M., Ben Amira, A., Abbès, F., Yaich, H., Besbes, S., Blecker, C., Garvin, A., Ibarz, A., & Attia, H. (2019). Effect of enzymatic treatment and concentration method on chemical, rheological,

- microstructure and thermal properties of prickly pear syrup. LWT, 113, 108314. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108314>
- Boutakiout, A., Elothmani, D., Hanine, H., Mahrouz, M., Le Meurlay, D., Hmid, I., & Ennahli, S. (2018). Effects of different harvesting seasons on antioxidant activity and phenolic content of prickly pear cladode juice. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17(4), 471–480. <https://doi.org/10.1016/J.JSSAS.2016.11.005>
- Bruschi, C., Komora, N., Castro, S. M., Saraiva, J., Ferreira, V. B., & Teixeira, P. (2017). High hydrostatic pressure effects on *Listeria monocytogenes* and *L. innocua*: Evidence for variability in inactivation behaviour and in resistance to pediocin bacHA-6111-2. Food Microbiology, 64, 226–231. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2017.01.011>
- Buzrul, S., Alpas, H., Largeteau, A., & Demazeau, G. (2008). Inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in kiwifruit and pineapple juices by high hydrostatic pressure. International Journal of Food Microbiology, 124(3), 275–278. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2008.03.015>
- Calderón-Santoyo, M., López-Quintana, G. D., Ramírez-de-León, J. A., Jiménez-Sánchez, D. E., y Ragazzo-Sánchez, J. A. (2019). Efecto de la alta presión hidrostática sobre la inactivación de *Escherichia coli* O157:H7 y el perfil aromático en néctar de mango. Revista Bio Ciencias, 6.
- Chawla, R., Patil, G. R., & Singh, A. K. (2011). High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review. Journal of Food Science and Technology, 48(3), 260–268. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0180-4>
- Choi, M. R., Liu, Q., Lee, S. Y., Jin, J. H., Ryu, S., & Kang, D. H. (2012). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in apple juice with gaseous ozone. Food Microbiology, 32(1), 191–195. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2012.03.002>
- Codex Alimentarius Commission. (2012). Guidelines on the Application General Principles of Food Hygiene to the Control of Viruses in Food. International Food Standards, FAO/WHO, Art. CXG 79-2012. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/all-standards/en/>
- Commission Implementing Regulation European Union. (2023). Approving ozone generated from oxygen as an active substance for use in biocidal products of product-types 2, 4, 5 and 11 in accordance with Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the Council. Official Journal of the European Union, 2023/1078. http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/1078/oj
- Commission Regulation European Union. (2011). No 10/2011: On plastic materials and articles intended to come into contact with food. Official Journal of the European Union, 1–89. <http://data.europa.eu/eli/reg/2011/10/oj>

- Corrales-García, J. J. E. (2009). Industrialization of cactus pads and fruit in Mexico: challenges and perspectives. *Acta Horticulturae*, 811 VI International Congress on Cactus Pear and Cochineal, 103–112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.811.10>
- Corrales-García, J. J. E., y Flores-Valdez, C. A. (2000). Tendencias actuales y futuras en el procesamiento del nopal y la tuna (Rita Schwentesius Rindermann, Ed.; 1 era.). Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/b1e730d1-ff7d-4d4e-b22f-08be3ec7ef71/full>
- Corrales-García, J. J. E., y Flores-Valdez, C. A. (2003). Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización. (Flores Valdez C. A., Ed.; 1era.). Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM-Programa Nopal. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/5ca298ca-9c49-4995-a51e-b41950a5676f>
- Costa, A., Lourenco, A., Civera, T., & Brito, L. (2018). *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* strains from dairy plants behave similarly in biofilm sanitizer testing. *LWT*, 92, 477–483. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.073>
- Cota-Sánchez, J. H. (2016). Nutritional Composition of the Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica*) Fruit. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, 691–712. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00028-3>
- Cruz-Bravo, R. K., Guzmán-Maldonado, S. H., Araiza-Herrera, H. A., & Zegbe, J. A. (2019). Storage alters physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant capacity of cactus pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 150(August 2018), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.01.001>
- Cullen P.J., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Patil, S., Bourke, P., & O'Donnell, C. P. (2010). Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science & Engineering*, 32(3), 166–179. <https://doi.org/10.1080/01919511003785361>
- Demazeau, G., & Rivalain, N. (2011). The development of high hydrostatic pressure processes as an alternative to other pathogen reduction methods. *Journal of Applied Microbiology*, 110(6), 1359–1369. <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2672.2011.05000.x>
- Devia, G., Forli, S., Vidal, L., Curutchet, M. R., & Ares, G. (2021). References to home-made and natural foods on the labels of ultra-processed products increase healthfulness perception and purchase intention: Insights for policy making. *Food Quality and Preference*, 88, 104110. <https://doi.org/10.1016/J.FOODQUAL.2020.104110>
- Dhineshkumar, V., Ramasamy, D., & Siddharth, M. (2016). High pressure processing technology in dairy processing: A review. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 35(2). <https://doi.org/10.18805/ajdfr.v35i2.10718>

- Domínguez-Ramírez, L. L. (2013). Presión hidrostática ultra alta, usos y perspectivas en las ciencias biológicas y de la salud. *Vertientes. Revista Especializada En Ciencias de La Salud*, 16(2).
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), Koutsoumanis, K., Alvarez-Ordóñez, A., Bolton, D., Bover-Cid, S., Chemaly, M., Davies, R., De Cesare, A., Herman, L., Hilbert, F., Lindqvist, R., Nauta, M., Peixe, L., Ru, G., Simmons, M., Skandamis, P., Suffredini, E., Castle, L., Crotta, M., ... Allende, A. (2022). The efficacy and safety of high-pressure processing of food. *EFSA Journal* 2022, 20(3, 7128), 195. <https://doi.org/https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7128>
- Elejo, C., Amoo, S. O., & Kudanga, T. (2018). *Opuntia* (Cactaceae) plant compounds, biological activities and prospects - A comprehensive review. *Food Research International*, 112(February), 328–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.047>
- El-Kharrassi, Y., Mazri, M. A., Benyahia, H., Benaouda, H., Nasser, B., & El Mzouri, E. H. (2016). Fruit and juice characteristics of 30 accessions of two cactus pear species (*Opuntia ficus indica* and *Opuntia megacantha*) from different regions of Morocco. *LWT*, 65, 610–617. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2015.08.044>
- Fernández-Jalao, I., Sánchez-Moreno, C., & De Ancos, B. (2019). Effect of high-pressure processing on flavonoids, hydroxycinnamic acids, dihydrochalcones and antioxidant activity of apple ‘Golden Delicious’ from different geographical origin. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 51, 20–31. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2018.06.002>
- Ferrario, M., Alzamora, S. M., & Guerrero, S. (2013). Inactivation kinetics of some microorganisms in apple, melon, orange and strawberry juices by high intensity light pulses. *Journal of Food Engineering*, 118(3), 302–311. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2013.04.007>
- Flávia, A., Oliveira, A., Mar, J. M., Santos, S. F., Joel, L., Júnior, S., Kluczkowski, A. M., Bakry, A. M., Araújo, J. De, Cássia, R. De, Nunomura, S., Sanches, E. A., & Campelo, P. H. (2018). Non-thermal combined treatments in the processing of açai (*Euterpe oleracea*) juice. *Food Chemistry*, 265(April), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.081>
- Food and Drug Administration (FDA). (2017). Draft Guidance for Industry: Hazard Analysis and Risk-Based Preventive Controls for Human Food. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/draft-guidance-industry-hazard-analysis-and-risk-based-preventive-controls-human-food>
- Food and Drug Administration (FDA), & Department of Health and Human Services (HHS). (2001). Secondary Direct Food Additives Permitted in Food for Human Consumption. Federal Register: The Daily Journal of the United States Government, Art. 66(123), 33829–33830. <https://www.federalregister.gov/documents/2001/06/26/01->

15963/secondary-direct-food-additives-permitted-in-food-for-human-consumption

- García-Mateos, R., Quiroz-González, B., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, M. C., & Leyva-Ruelas, G. (2019). Ozone-high hydrostatic pressure synergy for the stabilization of refrigerated pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 56(June), 102187. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102187>
- Gómez-Maqueo, A., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P. (2020). Release mechanisms of bioactive compounds in fruits submitted to high hydrostatic pressure: A dynamic microstructural analysis based on prickly pear cells. *Food Research International*, 130, 108909. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108909>
- Gouvea, F. S., Koutchma, T., Ferreira, E. H. R., Walter, E. H. M., & Rosenthal, A. (2023). Resistance of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* in high and low-acidity juices processed by high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 395, 110189. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2023.110189>
- Gouvea, F. S., Padilla-Zakour, O. I., Worobo, R. W., Xavier, B. M., Walter, E. H. M., & Rosenthal, A. (2020). Effect of high-pressure processing on bacterial inactivation in açai juices with varying pH and soluble solids content. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102490. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2020.102490>
- Hernández-Brenes, C., Ramos-Parra, P. A., Jacobo-Velázquez, D. A., Villarreal-Lara, R., & Díaz-De la Garza, R. I. (2013). High Hydrostatic Pressure Processing as a Strategy to Increase Carotenoid Contents of Tropical Fruits. In *Tropical and Subtropical Fruits: Flavors, Color, and Health Benefits* (Vol. 1129, pp. 29–42). American Chemical Society. <https://doi.org/doi:10.1021/bk-2013-1129.ch002>
- Hernández-Torres, C. J., Reyes-Acosta, Y. K., Chávez-González, M. L., Dávila-Medina, M. D., Kumar Verma, D., Martínez-Hernández, J. L., Narro-Céspedes, R. I., & Aguilar, C. N. (2022). Recent trends and technological development in plasma as an emerging and promising technology for food biosystems. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(4), 1957-1980. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.12.023>
- Iqbal, A., Nadeem, M., Ainee, A., Qureshi, T. M., Khalid, W., Malik, F., Rehman, S.-U., Rehman, A., Khalid, M. Z., Ahmad, N., Nawaz, A., & Ahmed, I. A. M. (2023). Quality evaluation of ozone-processed Kinnow (*Citrus reticulata* Blanco) juice at ambient temperature. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 2420–2432. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2249266>
- Jacobsen, S.-E., Sørensen, M., Pedersen, S. M., & Weiner, J. (2015). Using our agrobiodiversity: plant-based solutions to feed the world. *Agronomy for*

- Sustainable Development, 35(4), 1217–1235.
<https://doi.org/10.1007/s13593-015-0325-y>
- Jaramillo-Sánchez, G. M., García Loredó, A. B., Gómez, P. L., & Alzamora, S. M. (2018). Ozone Processing of Peach Juice: Impact on Physicochemical Parameters, Color, and Viscosity. *Ozone: Science & Engineering*, 40(4), 305–312. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1417111>
- Koutchma, T. (2020, October 12). Control of *Listeria monocytogenes* using novel processing strategies. *Processing Technology*.
- Marque, S. R. A., & Santelli, M. (2018). Ozone, chemical reactivity, and biological functions. *Tetrahedron*, 74, 6221–6261.
<https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.09.023>
- McKay, A. M., Linton, M., Stirling, J., Mackle, A., & Patterson, M. F. (2011). A comparative study of changes in the microbiota of apple juice treated by high hydrostatic pressure (HHP) or high pressure homogenisation (HPH). *Food Microbiology*, 28(8). <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.06.013>
- Menéndez, J. M., Aguado, F., Valiente, R., & Recio, J. M. (2011). *Materia a alta presión: Fundamentos y aplicaciones*. Servicio de Publicaciones, Universidad de Oviedo y Universidad de Cantabria.
- Morales, P., Barros, L., Ramírez-Moreno, E., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Xoconostle fruit (*Opuntia matudae* Scheinvar cv. Rosa) by-products as potential functional ingredients. *Food Chemistry*, 185, 289–297. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.04.012>
- Moussa-Ayoub, T. E., Jäger, H., Knorr, D., El-Samahy, S. K., Kroh, L. W., & Rohn, S. (2017). Impact of pulsed electric fields, high hydrostatic pressure, and thermal pasteurization on selected characteristics of *Opuntia dillenii* cactus juice. *LWT - Food Science and Technology*, 79, 534–542.
<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.10.061>
- Mukhopadhyay, S., Sokorai, K., Ukuku, D., Fan, X., Juneja, V., Sites, J., & Cassidy, J. (2016). Inactivation of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in cantaloupe puree by high hydrostatic pressure with/without added ascorbic acid. *International Journal of Food Microbiology*, 235. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.07.007>
- NACMCF. (1991). Recommendations by The National Advisory Committee on microbiological criteria for foods: Control/reduction of *Listeria monocytogenes* in food processing. In *International Journal of Food Microbiology* (Vol. 14, Issue 3).
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-1605\(91\)90115-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0168-1605(91)90115-6)
- NACMCF. (2006). Requisite Scientific Parameters for Establishing the Equivalence of Alternative Methods of Pasteurization†. *Journal of Food Protection*, 69(5). <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.5.1190>
- Niechayev, N. A., Pereira, P. N., & Cushman, J. C. (2019). Understanding trait diversity associated with crassulacean acid metabolism (CAM). *Current*

- Oey, I., Lille, M., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2008). Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit- and vegetable-based food products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(6). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.04.001>
- Osorio-Esquivel, O., Alicia-Ortiz-Moreno, Álvarez, V. B., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, 44(7), 2160–2168. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.02.011>
- Öztekin, S. (2019). Application of ozone as a postharvest treatment. In M. W. S. Kalyan Barman, Swati Sharma (Ed.), *Emerging postharvest treatment of fruits and vegetables*. (p. 413). Apple Academic Press Inc. & CRC Press.
- Pandiselvam, R., Subhashini, S., Banuu, E. P., Kothakota, P. A., Ramesh, S. V., & Shahir, S. (2019). Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering*, 41(1), 17–34. <https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1490636>
- Patil, S., Bourke, P., Frias, J. M., Tiwari, B. K., & Cullen, P. J. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* in orange juice using ozone. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), 551–557. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.05.011>
- Patil, S., Valdramidis, V. P., Cullen, P. J., Frias, J. M., & Bourke, P. (2010). Ozone inactivation of acid stressed *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in orange juice using a bubble column. *Food Control*, 21(12), 1723–1730. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2010.04.031>
- Patil, S., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., & Bourke, P. (2011). Quantitative assessment of the shelf life of ozonated apple juice. *European Food Research and Technology*, 232(3), 469–477. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1416-2>
- Patterson, M. F., McKay, A. M., Connolly, M., & Linton, M. (2012). The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and safety of carrot juice during refrigerated storage. *Food Microbiology*, 30(1). <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.09.013>
- Pereira, R. N., & Vicente, A. A. (2010). Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing. *Food Research International*, 43(7), 1936–1943. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2009.09.013>
- Pérez-Andrés, J. M., Charoux, C. M. G., Cullen, P. J., & Tiwari, B. K. (2018). Chemical Modifications of Lipids and Proteins by Nonthermal Food Processing Technologies. *Journal Agric. Food Chemical*, 66, 5041–50544. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b06055>
- Pokhrel, P. R., Boulet, C., Yildiz, S., Sablani, S., Tang, J., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2022). Effect of high hydrostatic pressure on microbial inactivation and

- quality changes in carrot-orange juice blends at varying pH. *LWT*, 159, 113219. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113219>
- Pokhrel, P. R., Toniazzi, T., Boulet, C., Oner, M. E., Sablani, S. S., Tang, J., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2019). Inactivation of *Listeria innocua* and *Escherichia coli* in carrot juice by combining high pressure processing, nisin, and mild thermal treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 54, 93–102. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.03.007>
- Quiroz-González, B., Rodríguez-Martínez, V., García-Mateos, M. del R., Torres, J. A., & Welti-Chanes, J. (2018). High hydrostatic pressure inactivation and recovery study of *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 169–173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.003>
- Ramírez-Rodríguez, Y., Martínez-Huélamo, M., Pedraza-Chaverri, J., Ramírez, V., Martínez-Tagüña, N., & Trujillo, J. (2020). Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands *Cactaceae* Fruits: Recent findings and research opportunities. *Food Chemistry*, 312, 126073. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.126073>
- Rios-Corripio, G., Welti-Chanes, J., Rodríguez-Martínez, V., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2020). Influence of high hydrostatic pressure processing on physicochemical characteristics of a fermented pomegranate (*Punica granatum* L.) beverage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102249. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2019.102249>
- Roobab, U., Aadil, R. M., Madni, G. M., & Bekhit, A. E. D. (2018). The Impact of Nonthermal Technologies on the Microbiological Quality of Juices: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 437–457. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12336>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). Arranca temporada de tuna con abasto garantizado y crecimiento en valor de producción. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/arranca-temporada-de-tuna-con-abasto-garantizado-y-crecimiento-en-valor-de-produccion?idiom=es>
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera y SIACON Sistema de información Agroalimentaria de Consulta. (2024). SIACON, Sistema de información Agroalimentaria de Consulta (27 junio de 2024). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>
- Simonin, H., Duranton, F., & de Lamballerie, M. (2012). New Insights into the High-Pressure Processing of Meat and Meat Products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(3). <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00184.x>
- Sroy, S., Fundo, J. F., Miller, F. A., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2019). Impact of ozone processing on microbiological, physicochemical, and

- bioactive characteristics of refrigerated stored Cantaloupe melon juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), e14276. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.14276>
- Standards for Safe Food. (2003). Scientific criteria to ensure safe food (Inc. Grove/Atlantic, Ed.).
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C., Bunch, R., & Felker, P. (2005). Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 442–451. <https://doi.org/10.1021/jf048751y>
- Supian, N. A. M., Shah, N. N. A. K., Shamsudin, R., & Sulaiman, A. (2022). Inactivation kinetics of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium NCTC 12023 in Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) fruit juice by aqueous ozone treatment. *Food Research*, 6(2), 231 – 240. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(2\).204](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(2).204)
- Szczepańska, J., Barba, F. J., Skąpska, S., & Marszałek, K. (2020). High pressure processing of carrot juice: Effect of static and multi-pulsed pressure on the polyphenolic profile, oxidoreductases activity and colour. *Food Chemistry*, 307, 125549. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125549>
- Tao, Y., Sun, D.-W., Górecki, A., Błaszczak, W., Lamparski, G., Amarowicz, R., Fornal, J., & Jeliński, T. (2012). Effects of high hydrostatic pressure processing on the physicochemical and sensorial properties of a red wine. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.09.005>
- Timpanaro, G., Urso, A., Spampinato, D., & Foti, V. T. (2015). Cactus pear market in Italy: Competitiveness and perspectives. *Acta Horticulturae*, 1067, 407–415. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1067.56>
- United States Department of Agriculture (USDA), & Food Safety and Inspection Service (FSIS). (2024). Directive 7120.1: Safe and Suitable Ingredients Used in the Production of Meat, Poultry, and Egg Products. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service, Revision 59(Processed Products). <https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-directives/7120.1>
- Valero-Galván, J., González-Fernández, R., Sigala-Hernández, A., Núñez-Gastélum, J. A., Ruiz-May, E., Rodrigo-García, J., Larqué-Saavedra, A., & Martínez-Ruiz, N. del R. (2021). Sensory attributes, physicochemical and antioxidant characteristics, and protein profile of wild prickly pear fruits (*O. macrocentra* Engelm., *O. phaeacantha* Engelm., and *O. engelmannii* Salm-Dyck ex Engelm.) and commercial prickly pear fruits (*O. ficus-indica* (L.) Mill.). *Food Research International*, 140, 109909. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109909>
- Vega-Gálvez, A., Giovagnoli, C., Pérez-Won, M., Reyes, J. E., Vergara, J., Miranda, M., Uribe, E., & Di Scala, K. (2012). Application of high hydrostatic

- pressure to aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel: Microbial inactivation and evaluation of quality parameters. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 13. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.07.013>
- Waghmare, R. (2024). High pressure processing of fruit beverages: A recent trend. *Food and Humanity*, 2, 100232. <https://doi.org/10.1016/J.FOOHUM.2024.100232>
- Wang, C. Y., Huang, H. W., Hsu, C. P., & Yang, B. B. (2016). Recent Advances in Food Processing Using High Hydrostatic Pressure Technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(4), 527–540. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.745479>
- Wang, J., Liu, Q., Xie, B., & Sun, Z. (2020). Effect of ultrasound combined with ultraviolet treatment on microbial inactivation and quality properties of mango juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105000. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2020.105000>
- Xue, W., Macleod, J., & Blaxland, J. (2023). The Use of Ozone Technology to Control Microorganism Growth, Enhance Food Safety and Extend Shelf Life: A Promising Food Decontamination Technology. *Foods*, 12(4), 814. <https://doi.org/10.3390/foods12040814>
- Yamamoto, K. (2017). Food processing by high hydrostatic pressure. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(4), 672–679. <https://doi.org/10.1080/09168451.2017.1281723>
- Yildiz, S., Pokhrel, P. R., Unluturk, S., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2019). Identification of equivalent processing conditions for pasteurization of strawberry juice by high pressure, ultrasound, and pulsed electric fields processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 57, 102195. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2019.102195>
- Zhang, W., Dong, P., Lao, F., Liu, J., Liao, X., & Wu, J. (2019). Characterization of the major aroma-active compounds in Keitt mango juice: Comparison among fresh, pasteurization and high hydrostatic pressure processing juices. *Food Chemistry*, 289, 215–222. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.03.064>
- Zhang, W., Liang, L., Pan, X., Lao, F., Liao, X., & Wu, J. (2021). Alterations of phenolic compounds in red raspberry juice induced by high-hydrostatic-pressure and high-temperature short-time processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67, 102569. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2020.102569>
- Zou, H., Lin, T., Bi, X., Zhao, L., Wang, Y., & Liao, X. (2016). Comparison of High Hydrostatic Pressure, High-Pressure Carbon Dioxide and High-Temperature Short-Time Processing on Quality of Mulberry Juice. *Food and Bioprocess Technology*, 9(2), 217–231. <https://doi.org/10.1007/s11947-015-1606-9>

3. ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS EN LA ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA Y NUTRACÉUTICA DEL JUGO DE DIFERENTES TUNAS

3.1. Resumen

La tuna posee gran relevancia económica en México; sin embargo, su conservación es limitada por alta susceptibilidad microbiana y deterioro durante tratamientos térmicos. Este estudio evaluó el efecto de la HHP sobre la mezcla de jugo de tuna dulce y jugo de xoconostle (MJTX; 9:1; pH4.3; 11.3 °Brix). Se aplicaron tratamientos de 120 a 510 MPa/5 min a muestras de la MJTX inoculadas con *L. innocua* y *S. cerevisiae*. El tratamiento de 406 MPa/5 min inactivó ambas cepas en la MJTX no refrigerada, además, previno la recuperación microbiana durante 45 d de almacenamiento (4.5 ± 0.5 °C) y mantuvo la microbiota nativa de la MJTX refrigerada en niveles indetectables. Este tratamiento, no generó cambios significativos en pH, sólidos solubles totales, acidez titulable (Tukey, $\alpha = 0.05$), ni en los parámetros de color tras 35 d de almacenamiento. Asimismo, el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante (FRAP) en la MJTX tratada resultaron similares a los del jugo sin tratar durante 35 d. Estos resultados indican que la HHP asegura la inocuidad microbiológica sin comprometer la calidad fisicoquímica y potencial nutracéutico, lo cual la HHP representa una alternativa/opción viable para conservación de jugos de tuna. Este estudio evaluó el efecto de la HHP sobre la mezcla de jugo de tuna dulce y jugo de xoconostle (9:1; pH 4.3; 11.3 °Brix), analizando la estabilidad microbiológica, las características fisicoquímicas (pH, sólidos solubles totales, acidez titulable y color) y los compuestos nutracéuticos (fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante) de la MJTX.

Palabras clave: calidad, jugo, tuna, xoconostle, presión hidrostática.

HIGH HYDROSTATIC PRESSURES IN THE MICROBIOLOGICAL AND NUTRACEUTICAL STABILITY OF JUICE FROM DIFFERENT PRICKLY PEARS

Abstract

Prickly pear has great economic relevance in Mexico; however, its preservation is limited by high microbial susceptibility and deterioration during thermal treatments. This study evaluated the effect of HHP on the mixture of sweet prickly pear juice and xoconostle juice (MJTX; 9:1; pH 4.3; 11.3 °Brix). Treatments from 120 to 510 MPa/5 min were applied to MJTX samples inoculated with *L. innocua* and *S. cerevisiae*. The 406 MPa/5 min treatment inactivated both strains in non-refrigerated MJTX, moreover, it prevented microbial recovery during 45 d of storage (4.5 ± 0.5 °C) and maintained the native microbiota of refrigerated MJTX at undetectable levels. This treatment did not generate significant changes in pH, total soluble solids, titratable acidity (Tukey, $\alpha = 0.05$), nor in color parameters after 35 d of storage. Likewise, the total phenol, flavonoid content, and antioxidant activity (FRAP) in treated MJTX were like those of untreated juice during 35 d. These results indicate that HHP ensures microbiological safety without compromising physicochemical quality and nutraceutical potential, which HHP represents a viable alternative/option for preservation of prickly pear juices. This study evaluated the effect of HHP on the mixture of sweet prickly pear juice and xoconostle juice (9:1; pH 4.3; 11.3 °Brix), analyzing the microbiological stability, the physicochemical characteristics (pH, total soluble solids, titratable acidity, and color) and the nutraceutical compounds (total phenols, flavonoids, and antioxidant activity) of the MJTX.

Keywords: quality, juice, prickly pear, xoconostle, hydrostatic pressure.

3.2. Introducción

La tuna es un fruto de gran importancia económica y cultural tanto en México como en otros países. En México, en 2023 se reportaron 41,250 hectáreas sembradas de tuna y una producción anual de poco más de 426 mil toneladas, lo que generó un valor superior a 1600 millones de pesos. Estos datos son evidencia de su importancia en el mercado interno y la alta demanda en mercados norteamericanos, particularmente entre comunidades mexicanas residentes en ese país (SIAP y SIACON, 2024).

La conservación de la tuna enfrenta serias complicaciones debido a su elevado contenido de agua y azúcares. Estas características confieren alta succulencia y dulzor, lo que promueve el ataque de microorganismos y propicia procesos de fermentación y descomposición (Corrales-García, 2009).

El empleo de tratamientos térmicos tradicionales ha mostrado resultados positivos en diversos jugos de frutas; sin embargo, en el jugo de tuna su aplicación se ve limitada. La pasteurización afecta los compuestos volátiles responsables del aroma y el sabor de la tuna debido a la termolabilidad de los mismos, lo que provoca la pérdida compuestos bioactivos y disminuye la calidad sensorial y el valor nutricional del producto, lo que plantea un reto considerable para la conservación del jugo de tuna (Borchani et al., 2019; Cruz-Bravo et al., 2019). Dichas limitaciones han estimulado la búsqueda de métodos alternativos que preserven las propiedades del fruto.

Los tratamientos no térmicos son una alternativa para conservar alimentos sin comprometer su calidad, ya que evitan la exposición al calor y reducen la degradación de compuestos sensibles (Usaga & Worobo, 2018). Diversos frutos han sido evaluados mediante estas tecnologías, con resultados que evidencian la preservación de sus propiedades nutricionales (Cheng et al., 2020). No obstante, en el caso específico del xoconostle, la evidencia científica sobre la aplicación de tratamientos no térmicos, como las altas presiones hidroestáticas (HHP) es limitada, lo que resalta la necesidad de profundizar en esta área de investigación. El tratamiento de HHP inactiva microorganismos y enzimas a

temperaturas cercanas al ambiente, sin afectar los enlaces covalentes de compuestos bioactivos como carotenoides y polifenoles, lo que asegura la estabilidad del producto final (Domínguez-Ramírez, 2013; Oey et al., 2008). Este tratamiento podría garantizar la conservación de las propiedades del sabor y aroma de la tuna en comparación con los tratamientos térmicos tradicionales, por ello el uso de la HHP representa una alternativa para la conservación de la tuna y su valorización/aprovechamiento en la industria alimentaria.

La tuna dulce presenta una baja acidez (pH 5.6), lo que limita la eficacia de la inactivación microbiológica mediante altas presiones hidrostáticas (HHP) (Gouvea et al., 2020; Jiménez-Aguilar et al., 2015). No obstante, es valorada por su sabor y aroma característicos, así como por su contenido de compuestos nutraceuticos. En contraste, la tuna ácida o xoconostle exhibe un pH bajo (3.1) y posee propiedades antimicrobianas (Morales et al., 2015), lo que favorece la eficiencia del tratamiento por HHP, dado que su efectividad depende en gran medida de la acidez del medio (Gouvea et al., 2020, 2023).

Una alternativa viable para contrarrestar la baja acidez del jugo de la tuna dulce consiste en acidificar su jugo mediante el ajuste del pH. Esta alternativa representa un reto que exige soluciones sin aditivos químicos. El resultado de experimentación preliminar (no incluida) determinó que una proporción de 9:1 entre jugo de tuna dulce y jugo de xoconostle reduce el pH a 4.3 sin modificar de forma significativa el sabor ni el color del producto. Esta proporción favorece una acidificación natural, lo que permite mantener las características sensoriales del jugo de tuna dulce. La mezcla resultante de jugos de tunas (MJTX), constituye una estrategia innovadora que aprovecha las propiedades complementarias de ambos frutos de tuna.

Lo anterior evidencia la necesidad de estudiar el efecto de la HHP en el jugo de tuna. Por ello, el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de la HHP sobre la estabilidad microbiológica, fisicoquímica y nutraceutica de la MJTX. Para ello, se llevaron a cabo tres experimentos.

El primer experimento, determinó la presión necesaria para inactivar microorganismos inoculados en la MJTX no refrigerada; se aplicaron presiones entre 120 a 510 MPa durante 5 min, con el objetivo de alcanzar/obtener una reducción de la población ($\geq 5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae*. El segundo experimento, evaluó la evolución de *L. innocua* en la MJTX tratada con 406 MPa durante 5 min, almacenada a 4.5 ± 0.5 °C durante 45 d, con el objetivo de verificar la eficacia del tratamiento en prevenir la recuperación microbiana.

El tercer experimento evaluó el efecto de HHP (406 MPa, 5 min) sobre la microbiota nativa (mesófilos aerobios, hongos y levaduras) de la MJTX durante 45 d de almacenamiento refrigerado. Esta evaluación permitió corroborar la eficacia del tratamiento de HHP para estabilizar la carga microbiana total de la MJTX. En este último experimento, también se analizaron parámetros fisicoquímicos (pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, color) y nutraceuticos (fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante) de la MJTX, con el objetivo de determinar el efecto de la HHP (406 MPa/5 min) sobre la estabilidad de dichos compuestos. Además, se realizaron pruebas sensoriales discriminativas de diferencia de control y 2-AFC no direccional para preferencia de la MJTX tratada (406 MPa/5 min) y sin tratar.

3.3. Materiales y Métodos

3.3.1. Preparación del jugo

Los frutos utilizados fueron tuna (*Opuntia* spp.) proveniente de San Martín de las Pirámides y xoconostle (*Opuntia joconostle*) de Otumba, ambas localidades del Estado de México, seleccionados con madurez para consumo, tamaño uniforme y sin daños físicos. Los frutos recibieron una desinfección mediante inmersión en solución de hipoclorito de sodio (0.1 % v/v) durante 5 min. Después, la cáscara de la tuna se removió manualmente, mientras que al xoconostle se le retiró la piel externa y las semillas del funículo, en ambos casos se utilizó un cuchillo previamente esterilizado. El jugo de cada fruto se extrajo por separado con un extractor comercial (Big Mouth®, Hamilton Beach modelo 67601 tipo CJ, Virginia,

USA). Al jugo de tuna se le determinó un pH de 6.5 y 12.5 °Brix, y al de xoconostle un pH de 3.0 y 5.1 °Brix. Ambos jugos fueron enfriados a 2 ± 1 °C durante 30 min y posteriormente se les retiró la espuma superficial. Los jugos se mezclaron en una proporción 9:1 (tuna:xoconostle), obteniendo un producto final con pH 4.3 y 11.3 °Brix. Esta mezcla de jugos (MJTX) se almacenó en frascos de vidrio estériles (450 mL) y se congeló a -20 °C hasta su uso.

3.3.2. Reactivos

Los reactivos adquiridos de BD Bioxon (Estado de México, México) fueron: agar dextrosa papa (ADP), agar de soya tripticaseína (AST), caldo de soya tripticaseína (CST) y agar para métodos estándar (AME). El hidróxido de sodio (NaOH) fue adquirido de J.T. Baker (Madrid, España). Los reactivos adquiridos de Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EE.UU.) fueron: agua peptonada bufferada (APB), sal de disulfato de *Streptomyces kanamyceticus* (K1876-5G), Folin-Ciocalteu, ácido gálico (AG), carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico(Trolox), 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ), ácido acético glacial ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$), acetato de sodio trihidratado ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), ácido clorhídrico (HCl), cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), catequina (C), nitrito de sodio (NaNO_2), cloruro de aluminio hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), acetato de potasio, persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) y 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazolino-6-sulfónico) (ABTS).

Se utilizó agua destilada (AD) comercial para la preparación de los reactivos y medios de cultivo y el hipoclorito de sodio (Cloralex®, 6 %) se compró en un supermercado local (Estado de México, México).

3.3.3. Material biológico

Se utilizaron las cepas de *Listeria innocua* ATCC 33090 (Cepario, Facultad de Química, UNAM) y *Saccharomyces cerevisiae* CDBB-L-331 (Colección Nacional de Cepas, CINVESTAV-IPN). Ambas cepas se indujeron a resistencia a kanamicina (50 mg mL^{-1}) para evitar la interferencia de microorganismos indeseados.

3.3.4. Preparación del inóculo

Las cepas de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* se activaron por separado en 60 mL de CST. La incubación (Binder No. 14-06843, Tuttlingen, Germany) se realizó sin agitación hasta alcanzar la fase exponencial; para *L. innocua* fue durante 10 h a 37 °C y para *S. cerevisiae* durante 20 h a 30 °C. Posteriormente, las suspensiones microbianas se centrifugaron (Thermo Fisher Scientific, Sorvall ST 8, Massachusetts, USA) de manera individual a $\times g$ durante 5 min. De cada suspensión se obtuvo un pellet, el cual se lavó dos veces con APB al 0.01 % y se suspendió cada pellet en 50 mL de AD estéril a de 20 ± 1 °C.

3.3.5. Inoculación y aplicación de las altas presiones hidrostáticas a la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle

La MJTX (100 mL) se inoculó con *Listeria innocua* ($9.15 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) y por separado se inoculó *Saccharomyces cerevisiae* ($6 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) a una muestra de 100 mL de la MJTX. Cada inoculación microbiana se homogeneizó durante 10 s en vortex. Posteriormente, se transfirió 1 mL de la suspensión a frascos de vidrio estériles que contenían 100 mL de la MJTX y se incubaron durante 4 h a 22 ± 0.5 °C, con el propósito de favorecer la adaptación de los microorganismos antes de aplicar el tratamiento de HHP. Pasado ese tiempo, cada frasco con 100 mL de la MJTX se transfirió a bolsas de polietileno (FoodSaver® Heat-Seal Bag, Boca Ratón FL.) e inmediatamente se selló cada bolsa con una máquina selladora al vacío (FoodSaver® Modelo V3880, Boca Ratón FL).

Posteriormente, las bolsas selladas se metieron dentro de una cámara de acero inoxidable de 1 L de capacidad, se usó agua a 20 °C como medio transmisor de presión, dicha cámara se cerró y se aplicó la alta presión hidrostática (Elmhurst Systems, LLC, South Albany, New York). El estudio se desarrolló en tres experimentos.

3.3.6. Efecto de diferentes presiones hidrostáticas en la población de *L. innocua* y *S. cerevisiae* inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle

En el primer experimento se evaluó el efecto de diferentes niveles de presión hidrostática (120, 256, 348, 406, 449 y 510 MPa) aplicadas durante 5 min sobre las poblaciones de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* inoculadas por separado en la MJTX (100 mL).

El objetivo del primer experimento fue determinar la presión hidrostática que disminuyera la población ($\geq 5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* inoculadas por separado en la MJTX (100 mL). Este experimento tuvo seis tratamientos (120, 256, 348, 406, 449 y 510 MPa durante 5 min) y el testigo constituyó la MJTX inoculada y sin tratamiento (0 MPa, 0 min). La variable de respuesta se expresó en $\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ para cada microorganismo. Cada tratamiento y testigo tuvo tres unidades experimentales (bolsas con 100 mL de la MJTX).

3.3.7. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la población de *L. innocua* inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante diferentes periodos de frigoconservación

El segundo experimento tuvo como objetivo evaluar el efecto del tratamiento de 406 MPa durante 5 min sobre la MJTX inoculada con *Listeria innocua* ($\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$). Posteriormente, las bolsas con MJTX se almacenaron en refrigeración a $4.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 45 d.

La evaluación microbiana se realizó en los 0, 15, 35 y 45 d de almacenamiento con el propósito de identificar posible crecimiento de *L. innocua*. El tratamiento de 406 MPa durante 5 min se comparó con un testigo constituido por la MJTX inoculada y sin tratamiento. La variable de respuesta se expresó en $\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$. En cada día de evaluación se analizaron tres repeticiones por tratamiento y testigo.

3.3.8. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante diferentes periodos de frigoconservación

En el tercer experimento tuvo como objetivo evaluar el efecto del tratamiento 406 MPa durante 5 min sobre la microbiota nativa presente en la MJTX, sin inoculación microbiana previa. Las muestras tratadas y el testigo (MJTX sin tratamiento y sin inoculación) se almacenaron en refrigeración a 4.5 ± 0.5 °C durante 45 d. La población de microorganismos nativos (mesófilos aerobios, levaduras y mohos) se evaluó en los 0, 15, 35 y 45 d de almacenamiento. La variable de respuesta se expresó en Log_{10} UFC mL^{-1} . En cada día de evaluación se analizaron tres repeticiones por tratamiento y testigo.

Adicionalmente, las mismas repeticiones de MJTX utilizadas en este experimento se emplearon para analizar las variables fisicoquímicas, incluyendo pH, sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable y parámetros de color. También se determinaron los compuestos nutraceuticos: contenido de fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante mediante el ensayo FRAP. Estos análisis tuvieron como objetivo evaluar el efecto del tratamiento con HHP sobre la calidad y estabilidad de la MJTX durante el almacenamiento en refrigeración.

3.3.9. Evaluación microbiológica

Las evaluaciones microbiológicas de los tres experimentos se realizaron por triplicado por cada repetición de tratamiento y testigo. De cada bolsa con 100 mL de la MJTX se tomó una alícuota de 10 mL y se diluyó en 90 mL de APB (0.01 %). Posterior a la dilución inicial, se realizaron diluciones decimales adicionales con APB al 0.1 %. De cada dilución, se sembraron 100 μL en placas con AST para *L. innocua* y con APD para *S. cerevisiae*. Las placas inoculadas con *L. innocua* se incubaron a 37 °C durante 72 h, y las placas inoculadas con *S. cerevisiae* se incubaron a 30 °C durante 5 d.

Para la evaluación de la microbiota nativa (mesófilos aerobios totales, hongos y levaduras) se utilizó la metodología descrita por (Leyva-Daniel et al., 2017). Los

resultados se expresaron como Log_{10} UFC mL^{-1} , correspondientes al promedio de tres repeticiones. Se contabilizaron colonias entre 3 y 300 por placa, ajustadas según el factor de dilución utilizado.

3.3.10. Análisis fisicoquímicos

El pH se determinó con un potenciómetro (HANNA Instruments, modelo HI 98150, Woonsocket, USA). Los sólidos solubles totales ($^{\circ}\text{Brix}$) se midieron con un refractómetro digital portátil (ATAGO, modelo PAL-1 3810, Omaeda, Japón). Ambas variables se analizaron conforme a los métodos 981.12 y 920.151 de la *Association of Official Analytical Chemists*, la acidez titulable (%) se evaluó según el método 942.15 de la misma referencia (AOAC, 2005). Los parámetros de color L^* , a^* y b^* , se obtuvieron con un colorímetro Hunter Lab (MiniScan™ XE Plus, No. 45/O-L, serie 5348, Reston, Virginia, USA). Las mediciones se realizaron en una copa de cristal con capacidad de 100 mL. A partir de los valores obtenidos, se calcularon el cambio de color total (ΔE), Croma (C) y el ángulo Hue ($^{\circ}$) con base en la metodología descrita por McGuire (1992).

3.3.11. Análisis de potencial nutracéutico

Los compuestos nutracéuticos evaluados incluyeron el contenido fenólico total, flavonoides y la capacidad antioxidante. Antes de cada determinación, se transfirieron 15 mL de la MJTX a tubos Falcon y se centrifugaron a $4,500 \times g$ durante 15 min (Frontier 5718R, Ohaus, Parsippany, USA). A partir de este acondicionamiento, se aplicaron los métodos específicos para cada compuesto, adaptados a formato de microplacas. Las lecturas de los compuestos nutracéuticos se realizaron en un lector de microplacas de 96 pozos mediante espectrofotometría (Synergy 2 Microplate Reader, software Gen5, Biotek Instruments Inc., Winoosky, VT, USA).

La metodología correspondiente a cada análisis se detalla en los apartados siguientes.

Contenido fenólico total

El contenido fenólico total se determinó de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu (Hernández-Rodríguez et al., 2017; Singleton & Rossi, 1965). En cada pocillo de la microplaca se colocó 25 μL de la MJTX, 125 μL de AD, 20 μL de Folin-Ciocalteu diluido 1:10 y 30 μL de Na_2CO_3 al 20 %, el blanco fue AD. Las muestras reposaron en oscuridad durante 30 min antes de medir la absorbancia a 760 nm. Se utilizó una curva estándar a partir de una solución AG: $y = 44.393x - 0.003$; $R^2 = 0.999$. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de AG por mililitro ($\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Flavonoides

Los flavonoides se evaluaron de acuerdo con el método de (Kubola & Siriamornpun, 2011). La MJTX (0.5 mL) se mezcló con AD (2.5 mL) y NaNO_2 al 5 % (0.15 mL), reposó por 6 min. Luego se adicionó $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 10 % (0.3 mL), y tras 5 min de reposo, se añadió NaOH al 5 % (1 mL). La mezcla se agitó en vortex (Vortex Synergy, WVR International, Radnor, Pennsylvania, EUA) a 3,000 $\times g$ durante 3 min y se transfirió 200 μL a la microplaca para medir la absorbancia a 510 nm. Se utilizó una curva estándar a partir de una solución de catequina (C): $y = 14.206x - 0.0011$; $R^2 = 0.987$. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina (C) por mililitro ($\text{mg}_{\text{EC}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante (AA) se evaluó con base en el ensayo FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Benzie & Strain, 1996). Para el ensayo FRAP, se preparó el reactivo al momento de su uso. Se mezcló $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (300 mM, pH 3.6), TPTZ (10 mM en HCl 40 mM) y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mM) en proporción 10:1:1. En cada pocillo de la microplaca, se vertieron 20 μL de la MJTX, 60 μL de AD y 180 μL del reactivo FRAP, se midió la absorbancia a 595 nm tras 10 min de reposo. La AA para este ensayo se cuantificó a partir de una curva estándar de Trolox: $y = 0.0291x - 0.0188$; $R^2 = 0.994$. Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por mililitro ($\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

3.3.12. Evaluación sensorial

Se aplicaron dos pruebas sensoriales discriminativas. La primera correspondió a la prueba de diferencia de control, clasificada como una prueba de diferencia simple en la que se cuantifica la magnitud de la diferencia (Hernández-Montes, 2007). Participaron 111 panelistas de 14 a 26 años. Cada panelista evaluó dos muestras de mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle (MJTX), una tratada con HHP y otra sin tratamiento, con un volumen de 15 mL por muestra. A cada panelista se le asignaron ambas muestras de manera aleatoria y balanceada. Los panelistas probaron las muestras y asignaron un valor en una escala de diez puntos, donde 0 indicó ausencia de diferencia y 9 significa que las muestras presentan una diferencia muy grande.

La segunda prueba fue 2-AFC no direccional para evaluar preferencia, en el que el panelista selecciona una de dos opciones sin posibilidad de empate (Bi, 2005; Hernández-Montes, 2007). Participaron 120 panelistas de 14 a 25 años. A cada panelista se le proporcionó dos muestras aleatorizadas, una de la MJTX tratada con HHP y la otra de la MJTX sin tratar. Se les solicitó marcar el código de la muestra que fue de su agrado. Para ambas pruebas se utilizó una hoja maestra con códigos de tres dígitos y órdenes de presentación previamente aleatorizados.

3.3.13. Análisis estadístico

La asignación de tratamientos a las unidades experimentales (100 mL de la MJTX) se realizó completamente al azar. Para evaluar el efecto de la HHP sobre las poblaciones de *Listeria innocua*, *Saccharomyces cerevisiae* y la microbiota nativa en la MJTX, se utilizó como variable de respuesta el Log_{10} UFC mL^{-1} .

Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene (homocedasticidad), al cumplir con ambos supuestos no se realizó transformación de datos. A esta variable respuesta se le realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia de 0.05. Se asumió el modelo:

$$y_{ij} = \mu + T_{ij} + e_{ij}$$

Donde y_{ij} representa el Log_{10} UFC mL^{-1} de la j -ésima repetición del i -ésimo tratamiento, μ es la media general, T_i es el efecto del tratamiento con $i = 0, 120, 256, 348, 406, 449$ y 510 MPa (para *S. cerevisiae* y *L. innocua*) y e_{ij} es el error experimental.

Para el efecto de la HHP sobre las variables fisicoquímicas de pH, sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable (%) se aplicó un ANOVA y una comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia de 0.05. Los resultados se expresaron a partir de la media y desviación estándar.

Para los parámetros de color (L^* , Croma (C), ángulo Hue (°), diferencia de color (ΔE)) y las variables relacionadas con el potencial nutracéutico (fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante) se empleó un Modelo aditivo generalizado (GAM por sus siglas en inglés).

Este modelo permitió analizar las relaciones no lineales entre las variables de respuesta y la variable explicativa (tiempo de almacenamiento en refrigeración: 0, 15, 35 y 45 días).

A diferencia de los modelos lineales tradicionales, el GAM no requiere transformar previamente los datos, ya que estos modelos segmentan los datos mediante puntos clave denominados nudos, ajustando posteriormente una regresión polinomial, por lo general de tercer grado (Jaén-Contreras et al., 2022). Esta característica lo hace especialmente útil para estudiar patrones complejos en sistemas multifactoriales (Meng et al., 2024). Se asumió el modelo:

$$g(\mu) = T_i + f(x) + e_{ij}; \text{ donde } i = 1, 2, \dots k, j = 1, 2, \dots \text{rep.}$$

Donde T_i es el tratamiento i -ésimo de un total de k tratamientos, f es una función de suavizado. Se usó una distribución gaussiana para modelar dichas variables. En cuanto a la función liga se aplicó la identidad (identity), es decir, el modelo asumió una relación directa entre la variable de respuesta y la función lineal, sin ninguna transformación adicional de los datos. Además, se realizaron comparaciones de curvas del modelo GAM, comparaciones de Tukey y

comparaciones de Kruskal–Wallis. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software estadístico RStudio versión 2023.06.1.

3.4. Resultados y discusión

3.4.1. Efecto de diferentes presiones hidrostáticas en la población de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle no refrigerada

Los resultados expusieron que al aplicar 256 MPa no se detectó crecimiento de *S. cerevisiae*, mientras que al aplicar 406 MPa no hubo detección de colonias de *L. innocua*. Por lo anterior, se seleccionó el tratamiento de 406 MPa durante 5 min para garantizar la inocuidad de la MJTX.

Se observó un comportamiento diferente en la baroresistencia entre los microorganismos inoculados en la MJTX. *L. innocua* presentó una resistencia considerable hasta los 350 MPa, manteniendo poblaciones superiores a 3 Log₁₀ UFC mL⁻¹. Sin embargo, al alcanzar los 406 MPa, se evidenció una reducción drástica hasta niveles indetectables, lo que sugiere que esta presión representa un umbral crítico para la inactivación completa de dicho microorganismo.

Por otro lado, *S. cerevisiae* fue más sensible a la presión, alcanzando niveles indetectables con apenas 256 MPa, lo que indica una menor capacidad de resistencia estructural y fisiológica en comparación con *L. innocua*. La resistencia diferencial entre ambos microorganismos puede atribuirse a la composición de la pared celular. *L. innocua*, como bacteria Gram positiva, presenta una pared celular gruesa compuesta principalmente por peptidoglicano, lo que le confiere una mayor resistencia a la presión mecánica (Quiroz-González et al., 2018).

En contraste, *S. cerevisiae* posee una pared celular de glucanos y quitina, más susceptible a la desorganización estructural bajo condiciones de alta presión (Bang & Barry, 2008).

El efecto letal observado a 406 MPa durante 5 min sobre *L. innocua* puede explicarse por mecanismos progresivos de daño celular. Huang et al., (2014), describen que a 50 MPa se altera la síntesis de proteínas y la función ribosomal;

a 200 MPa se produce daño en la integridad de la membrana celular; y a 300 MPa ocurre la desnaturalización irreversible de proteínas y enzimas. La combinación de estos efectos acumulativos probablemente superó la capacidad de respuesta al estrés de *L. innocua*, resultando en una inactivación completa a 406 MPa durante 5 min.

La acidez de la MJTX (pH 4.3) también jugó un papel determinante en la inactivación microbiana. La acidificación intracelular inducida por el pH podría haber potenciado el daño estructural inducido por la presión al inhibir mecanismos de reparación celular y pérdida de funciones protectoras (Gouvea et al., 2023). Además, Pokhrel et al. (2022), indican que una mayor inactivación bacteriana a pH más bajos resulta de alteraciones en la membrana celular, que facilitan la difusión de ácidos al citoplasma, reduciendo el pH intracelular. Así, la inactivación bacteriana puede optimizarse disminuyendo el pH o prolongando el tratamiento.

La combinación de alta presión y acidez ha sido documentada como un factor sinérgico en la eliminación de bacterias patógenas como *L. monocytogenes*, *E. coli* y *Salmonella* spp. en jugos (González-Angulo et al., 2021). Así mismo, Pokhrel et al. (2022) encontraron que la aplicación de HHP a 300 MPa durante 2 min, 400 MPa durante 1 min y 400 MPa durante 3 min se logró una reducción de al menos 5 logaritmos de *L. innocua* en mezclas de jugo de zanahoria y naranja a pH 4, 5 y 6, respectivamente.

El comportamiento diferencial entre ambos microorganismos resalta la necesidad de establecer condiciones de presión específicas para garantizar la inocuidad microbiológica de productos derivados de tuna y xoconostle. Si bien *S. cerevisiae* puede ser eliminada con presiones de 256 MPa, *L. innocua* requiere 406 MPa para lograr una inactivación completa. Esta diferencia en barorresistencia refuerza la importancia de considerar las características específicas de cada microorganismo al diseñar protocolos de tratamiento por alta presión.

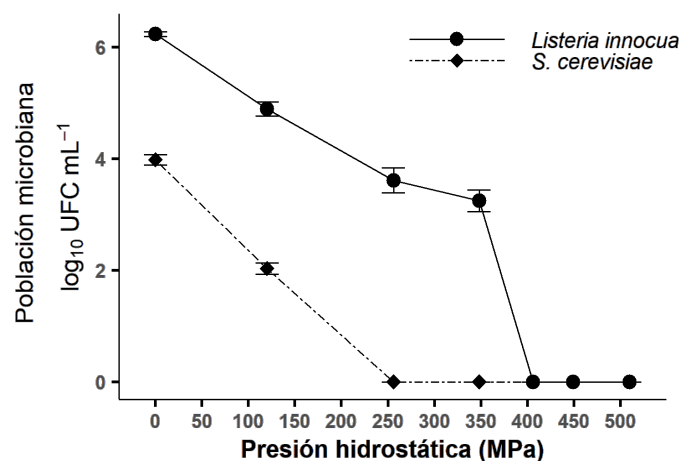


Figura 4. Efecto de diferentes presiones hidrostáticas aplicadas durante 5 min sobre la población de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle.

3.4.2. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la población de *L. innocua* inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle y almacenado a 4.5 ± 0.5 °C durante 45 días

La **Figura 5** presenta la evolución poblacional de *L. innocua* (Log₁₀ UFC mL⁻¹) en la MJTX, con y sin tratamiento de HHP, durante 45 d de almacenamiento en refrigeración. La MJTX sin tratamiento, presentó una carga inicial de aproximadamente 6 Log₁₀ UFC mL⁻¹, con una reducción gradual a lo largo del tiempo hasta alcanzar 4.5 Log₁₀ UFC mL⁻¹ al día 45. Este comportamiento refleja la capacidad de *L. innocua* para persistir como microorganismo psicotrofo en condiciones refrigeradas, aunque es posible que su crecimiento se vio limitado por la acidez del medio (pH 4.3). Sin embargo, esta reducción no fue suficiente para eliminar completamente la presencia de *L. innocua* en las muestras sin tratamiento, evidenciando la necesidad de un método de control más efectivo para garantizar la seguridad microbiológica.

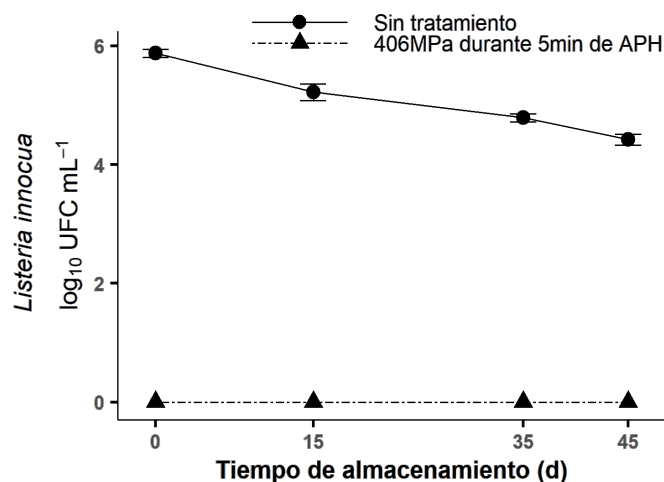


Figura 5. Efecto de la alta presión hidrostática (406 MPa durante 5 min) sobre la población de *Listeria innocua* en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) durante 45 d.

Por su parte, el tratamiento con HHP a 406 MPa durante 5 min demostró una eficacia notable al reducir la población de *L. innocua* hasta niveles indetectables desde el día 0, manteniendo esta condición de forma constante a lo largo de los 45 d de almacenamiento en refrigeración. Estos resultados indican que el tratamiento no sólo inactivó la población inicial de bacterias, sino que también impidió la recuperación microbiana durante el tiempo de almacenamiento en condiciones de refrigeración.

Este efecto puede atribuirse a la sinergia entre la alta presión aplicada y la acidez intrínseca del jugo (pH 4.3), que inhibió completamente el desarrollo del microorganismo. Gouvea et al. (2020) observaron un efecto similar en jugos de açai (pH 4.3, 2.9 °Brix) al aplicar 400 MPa durante 3 min, lo que redujo la población inicial de *L. monocytogenes* de 7.54 Log₁₀ UFC mL⁻¹ hasta el límite de detección, sin recuperación durante 42 d de almacenamiento en refrigeración.

3.4.3. Efecto de la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

Los resultados obtenidos en el estudio sobre el efecto de la HHP en la microbiota nativa de la MJTX refrigerada, donde no se detectaron colonias de mesófilos, levaduras y mohos, sugieren una eficacia significativa de este tratamiento en la inactivación microbiana.

La ausencia de colonias de mesófilos aerobios, levaduras y mohos en la MJTX tratada indica que las condiciones de presión aplicadas fueron suficientes para dañar irreparablemente las membranas celulares, las proteínas y el material genético de estos microorganismos. Este resultado es consistente con estudios previos que han demostrado que la HHP es particularmente efectiva contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como contra levaduras y mohos, debido a la disrupción de sus estructuras celulares bajo alta presión.

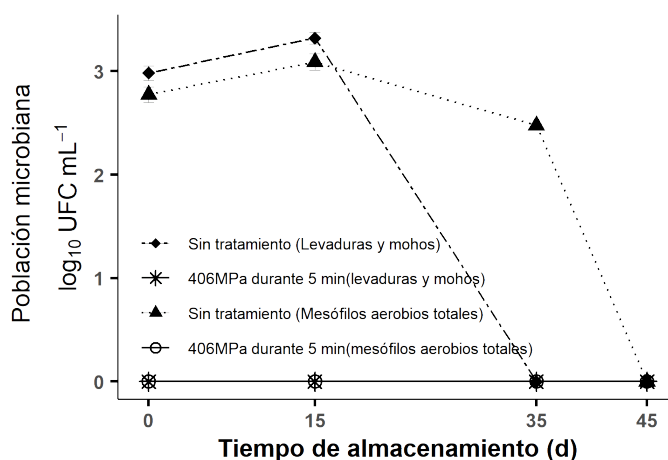


Figura 6. Efecto de la alta presión hidrostática (406 MPa durante 5 min) sobre la microbiota nativa en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) durante 45 d.

3.4.4. Efecto la alta presión hidrostática sobre las propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

Los días 0 hasta 15 de almacenamiento en refrigeración la MJTX, presentaron pH constante y para el día 35 al 45 presentó una ligera disminución.

Mientras que el jugo con tratamiento con HHP el pH se mantuvo constante, sin diferencias significativas durante el tiempo de evaluación, lo cual concuerda con lo reportado por Pokhrel et al., (2022) donde no se reportó una disminución significativa del pH en jugo de zanahoria y naranja después del tratamiento con HHP.

Esto se debe a que la HHP (300 a 700 MPa) no generan la energía suficiente para alterar de modo permanente los enlaces covalentes ni desplazar de forma irreversible los equilibrios de disociación de los ácidos y bases, ya que las reacciones ácido-base dependen de enlaces covalentes y de equilibrios de disociación que requieren de energía para romperse o formarse (Gutiérrez et al., 2023).

Los sólidos solubles totales (°Brix) representan la cantidad total de azúcar, ácidos orgánicos y otras moléculas solubles de un producto; por lo tanto, es uno de los parámetros que nos permite evaluar la calidad y estabilidad del jugo al realizar un estudio de almacenamiento (Pokhrel et al., 2022).

En la MJTX sin tratamiento se presentó una disminución de SST a partir del día 35, lo cual podría deberse a la desnaturalización de compuestos solubles o a reacciones químicas inducidas por la presión. Por su parte, no se observaron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$) del contenido de SST entre las muestras tratadas con HHP durante el tiempo de almacenamiento.

Estos resultados fueron similares con los de Rios-Corripio et al., (2024), quienes informaron un valor estable de SST en jugo de cereza negra durante 49 d de almacenamiento a 4 °C tras el procesamiento a 200, 400 y 600 MPa durante 10 y 5 min respectivamente.

La tuna es rica en galactosa, ramnosa, arabinosa y glucosa (Lira-Ortiz et al., 2014), en estos azúcares predominan los enlaces covalentes, estos permanecen estables en presiones inferiores a 1000 MPa, este tipo de enlaces tienen uno o varios pares de electrones que ocupan la misma órbita y presentan una energía elevada (95 Kcal/mol), por ello al aplicar 406 MPa/5 min no aporta la suficiente energía para romper estos enlaces y generar un cambio significativo en los SST (Calderón-Santoyo et al., 2019).

Por otro lado, se observó un incremento estadísticamente significativo en la acidez titulable a lo largo del período de almacenamiento en las muestras control del jugo, posiblemente relacionado con los microorganismos nativos que metabolizan los azúcares del jugo produciendo ácidos orgánicos, disminuyendo así el pH, esto podría explicar el aumento de la acidez titulable (Wang et al., 2018). Mientras que la MJTX con HHP, mostró la acidez se mantuvo estable hasta el día 15, sin embargo, al día 35 y 45 de evaluación se mostró una ligera disminución.

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle durante diferentes tiempos de almacenamiento en frigoconservación con y sin tratamiento de alta presión hidrostática (406 MPa/5 min).,

Tiempo (d)	pH		SST (°Brix)		Acidez titulable (%)	
	Sin tratamiento	406 MPa	Sin tratamiento	406 MPa	Sin tratamiento	406 MPa
0	4.3 ± 0.0 a ^a	4.3 ± 0.0 a	11.3 ± 0.06 a	11.3 ± 0.06 a	0.23 ± 0.0 c	0.23 ± 0.0 a
15	4.3 ± 0.0 a	4.3 ± 0.0 a	11.2 ± 0.06 a	11.3 ± 0.00 a	0.24 ± 0.0 bc	0.23 ± 0.0 a
35	4.2 ± 0.0 ab	4.3 ± 0.0 a	10.4 ± 0.10 b	11.3 ± 0.06 a	0.28 ± 0.01 b	0.22 ± 0.0 b
45	4.2 ± 0.0 b ^b	4.3 ± 0.0 a	10.2 ± 0.06 b	11.2 ± 0.12 a	0.33 ± 0.0 a	0.22 ± 0.0 b

^a Valores con media ± desviación estándar; Parámetros iniciales de la MJTX: pH 4.3 y °Brix 11.3; temperatura de almacenamiento 4.5 ± 0.5 °C.

^b Medias con letras diferentes por columna indican diferencias estadísticamente significativas (Tukey, α = 0.05).

Parámetros de color

La luminosidad (L^*) de la MJTX (**Figura 7A**) con y sin tratamiento presentaron valores muy cercanos al inicio del almacenamiento, aunque el tratamiento de HHP mostró menor pérdida de L^* durante los 45 d. Por otro lado, los compuestos cromáticos se relacionan más directamente con el color (hue y chroma) que con la luminosidad (L^*).

La luminosidad (L^*) indica el grado de claridad u oscuridad, mientras que los compuestos cromáticos (como antocianinas, carotenoides, betalaínas, clorofilas) afectan principalmente el tono y la saturación del color (Pérez-Lamela et al., 2021). Este comportamiento podría indicar que el uso de HHP preserva la luminosidad debido a que preserva la estructura de los compuestos cromáticos y con ello minimiza las reacciones de oscurecimiento inducidas por enzimas, y a mayor luminosidad favorece la percepción de frescura de un jugo (Hernández-Brenes et al., 2013; Usaga & Worobo, 2018) .

Silva & Sulaiman (2022) reportaron que al aplicar 600 MPa se reduce significativamente la actividad de la polifenoloxidasa en puré de fresa, manzana y pera, reteniendo los valores de luminosidad y minimizando la formación de pigmentos marrones debido a la reducción de actividad enzimática, debido a que la HHP altera la configuración cuaternaria de estas.

La MJTX sin tratamiento, el valor de Croma (**Figura 7B**) disminuyó progresivamente con el tiempo, pasando de 3.57 ± 0.02 en el día 0 a 3.23 ± 0.02 en el día 45, lo que indica una pérdida de la intensidad del color. En contraste, el Croma de la MJTX tratada con HHP presentó pérdida desde la aplicación del tratamiento 3.47 ± 0.01 en el día 0 a 3.22 ± 0.01 en el día 45 de almacenamiento.

Este comportamiento puede atribuirse a la degradación de pigmentos, como las betalaínas y clorofilas presentes en la tuna y el xoconostle (Morales et al., 2015; Ramírez-Ramos et al., 2015), debido a reacciones de oxidación o inestabilidad química durante el almacenamiento.

Wang et al.,(2012) reportaron que en pure de espinaca la aplicación de 200 a 600 MPa se modifican las enzimas que controlan el catabolismo de la clorofila y la retención de su ión central y que al aplicar 400 y 600 MPa aumenta la actividad de la enzima Mg-dechelataza, la cual extrae el Mg^{2+} central del anillo porfirínico, convirtiendo la clorofila en feofitina y simultáneamente la actividad de la clorofilasa se reduce, sin embargo, la extracción o activación de Mg^{2+} es suficiente para alterar la absorción de la luz verde.

En este sentido, aunque los resultados mostraron cierto impacto en el color de la MJTX, la HHP sólo provocó una ligera degradación de la intensidad del color. Estos resultados coinciden con lo reportado con García-Mateos et. al (2018) sugieren que la HHP contribuye a preservar la intensidad del color, posiblemente al inactivar enzimas como la polifenoloxidasas (PPO), responsables de la oxidación de pigmentos, lo que conserva la viveza visual del jugo (Szczepańska et al., 2020).

Al inicio del almacenamiento, los valores de H° (**Figura 7C**) fueron similares para la MJTX con y sin tratamiento, lo que corresponde a tonalidades verdes. Durante los 45 d almacenamiento la MJTX tratada presentó una disminución del tono verde hacia el tono amarillo el Hue también disminuyó, pero menos drástica, pasando de 115.7 ± 0.78 a 98.9 ± 0.58 en el mismo periodo, sin embargo, el jugo sin tratamiento presentó al inicio del almacenamiento un H° de 115.4 ± 0.47 a 82.3 ± 0.91 en el día 45, aunque presentó un amarillamiento abrupto a partir del día 35, lo que indica que el tratamiento de HHP preserva por mayor tiempo los tonos verdes en la MJTX, lo que indica estabilidad del tono del jugo y garantiza una mayor uniformidad de este tono durante el almacenamiento refrigerado durante 45 d.

Este comportamiento sugiere que el tratamiento con HHP a 406 MPa tiene un efecto protector sobre la tonalidad del jugo, manteniendo valores de Hue más cercanos a los iniciales. La menor variación en el Hue del jugo tratado puede estar relacionada con la reducción de la actividad microbiana y enzimática, lo que limita las reacciones que alteran los pigmentos (Spira et al., 2018).

La diferencia de color (ΔE) indica la magnitud de la diferencia de color de un material, siendo perceptible para el ojo humano si el valor de ΔE es >3 (Rios-Corripio et al., 2020). En la MJTX sin tratar (**Figura 7D**), el ΔE aumentó en el día 45, lo que indica un cambio de color perceptible a simple vista.

Este cambio puede atribuirse a la combinación de la pérdida de Croma y el cambio en el Hue, junto con la posible formación de compuestos de color marrón debido a reacciones de Maillard o degradación oxidativa. Por otro lado, el jugo tratado con HHP mostró un ΔE más bajo en el día 45. Aunque también se observa un cambio de color, este es menor que el control, lo que refuerza la idea de que el tratamiento con HHP mejora la estabilidad del color de la MJTX durante el almacenamiento.

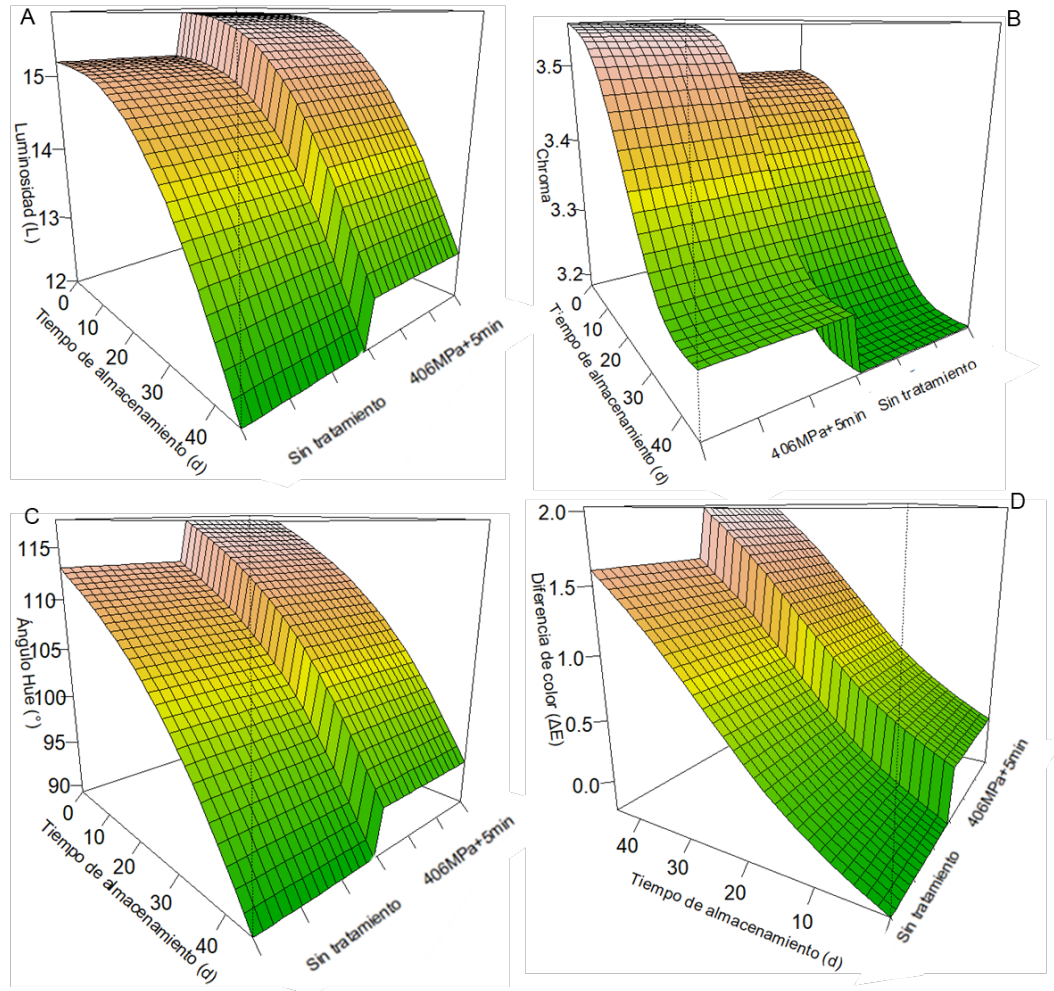


Figura 7. Parámetros de color de la MJTX tratado con 406 MPa durante 5 min de HHP y sin tratamiento almacenados en diferentes periodos de frigoconservación. A) Luminosidad, B) Cromo, C) Ángulo Hue y D) Diferencia de color (ΔE).

La menor diferencia de color en el jugo tratado podría estar relacionada con una mejor retención de los pigmentos naturales y una menor formación de productos de degradación.

El resultado se traduce en mayor estabilidad del color y prolongación de la vida útil visual del jugo. La aplicación del tratamiento de 406 MPa durante 5 min benefició la conservación de los parámetros de color del jugo de tuna con xoconostle a lo largo de 45 d.

La HHP inactivó enzimas responsables del pardeamiento y la degradación de pigmentos (Hernández-Brenes et al., 2013; Yu et al., 2013), lo que se manifestó en mayor luminosidad, saturación de color y estabilidad del tono, así como en una diferencia de color por debajo del umbral perceptible.

Comparaciones de curvas, Tukey y Kruskal-Wallis de los parámetros de color

Los parámetros de color L^* , Croma, ángulo de tono (H°) y diferencia de color (ΔE), mostró que la comparación de los modelos (suavizado común vs. por tratamiento) es de $p < 0.001$, lo que indica que las trayectorias temporales de las curvas son significativamente distintas entre la MJTX tratada con HHP y sin tratar (**Figura 8**). Para la MJTX sin tratar, la L^* cae ~15 U al día 0 hasta ~11 U al día 45, con un descenso muy marcado tras el día 35. La MJTX tratada conserva mayor L^* a partir de 35d, terminando cerca de 13 U. Para MJTX sin tratar, C^* disminuye de ~3.7 a ~3.2; el jugo tratado, la caída es gradual y termina en ~3.15. El tono (H°) para ambos jugos inician de 115° y descienden hasta $\sim 85^\circ$, pero la MJTX atenúa ligeramente la pérdida en los últimos días de la frigoconservación. La diferencia de color (ΔE) de la MJTX sin tratar acumula ΔE linealmente hasta ~2.2; el tratamiento limita ese incremento, quedando alrededor de 1.3 al día 45. Esto sugiere que el HHP retrasa la degradación de pigmentos de la MJTX.

Las comparaciones de Kruskal-Wallis mostró que ningún parámetro de color (L^* , C , H° y ΔE) mostró diferencias globales al día 45 (KW $p > 0.05$), lo que sugiere que, aunque la cinética de los parámetros cambia los valores finales convergen.

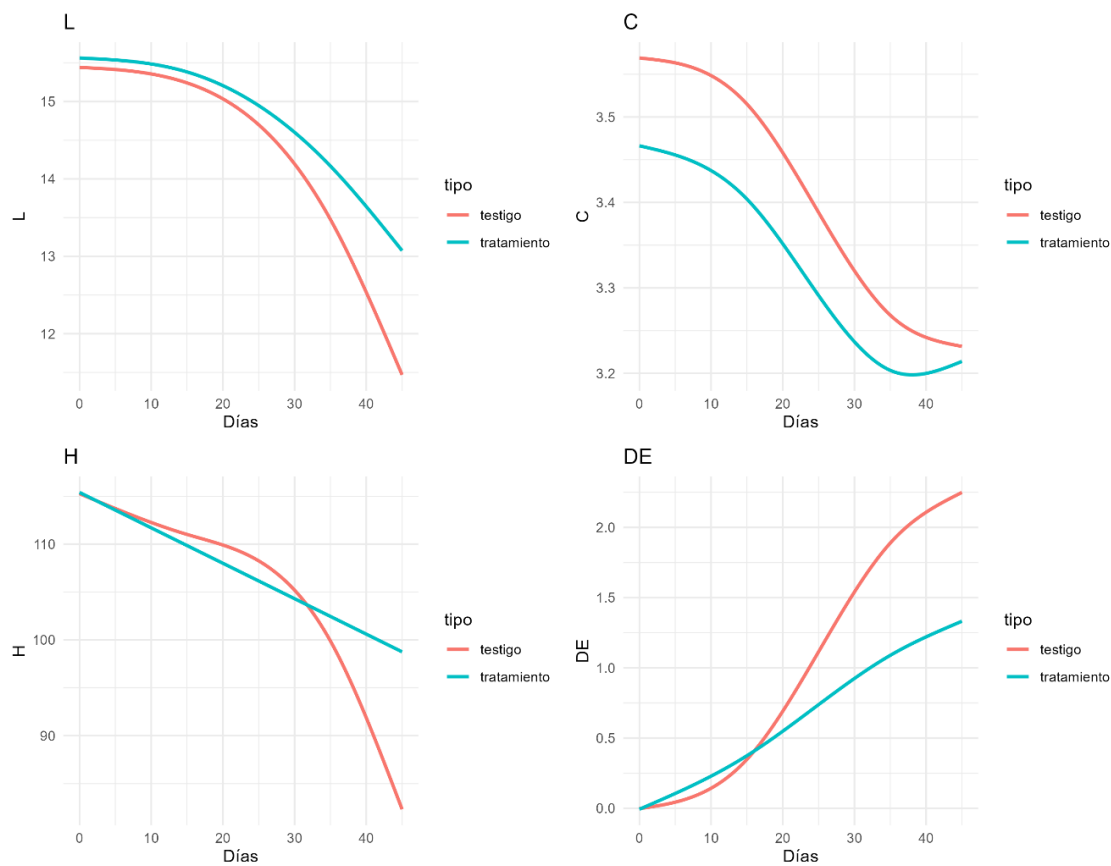


Figura 8. Curvas GAM de parámetros de color para la MJTX tratada con HHP y sin tratar durante 45 d de frigoconservación.

Las comparaciones de Tukey (HSD) para L^* , C, H° y ΔE no mostró diferencia de letras (“a” = testigo o sin tratamiento, “a” = HHP) lo que confirma que no existe diferencias significativas entre tratamientos al final del periodo. La HHP modifica la dinámica de los parámetros de color (curvas GAM) retardando ligeramente la decoloración y atenuando el incremento de ΔE , pero no genera cambios estadísticamente significativos en los valores finales de luminosidad, cromaticidad, tono y diferencia de color después de 45 d de frigoconservación. A continuación, se muestran los *boxplots* (**Figura 9**) de luminosidad (L), cromaticidad (C), ángulo de tono (H) y diferencia de color (ΔE) tras 45 d de almacenamiento con y sin tratamiento de HHP. Cada letra sobre la gráfica indica grupos significativamente diferentes según Tukey HSD ($\alpha = 0.05$).

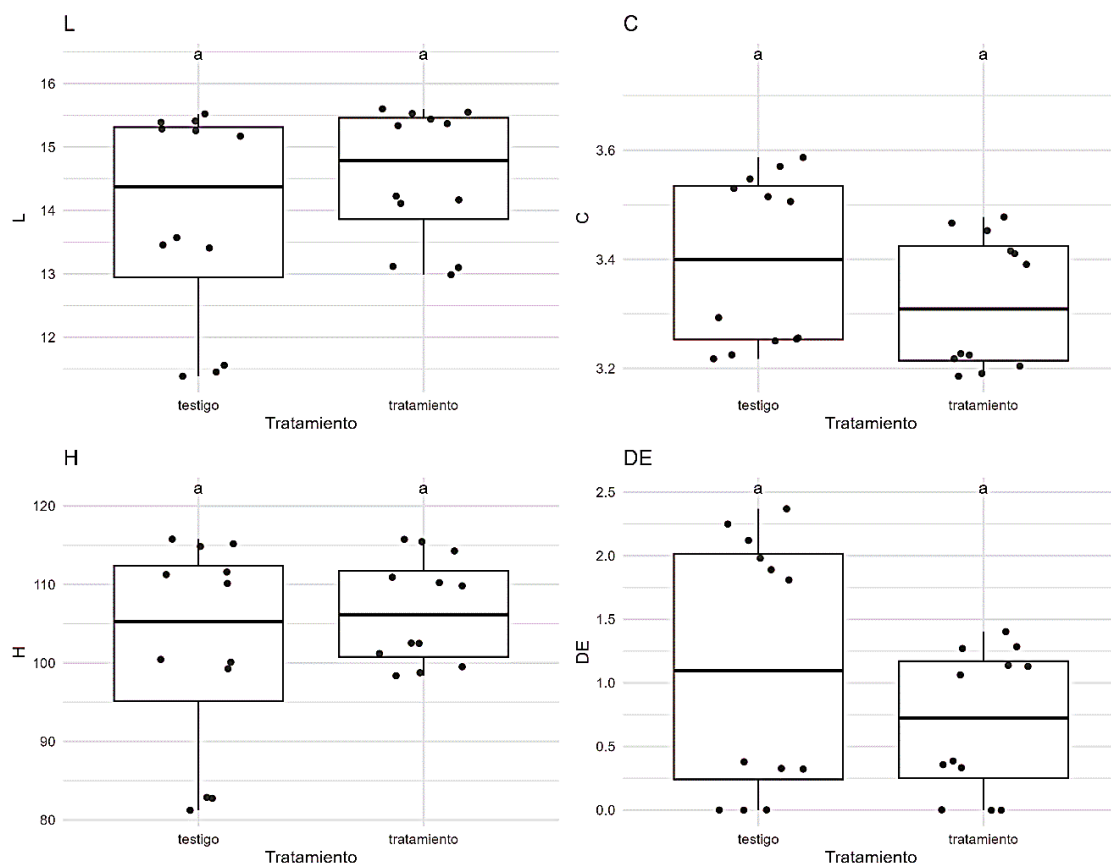


Figura 9. Boxplots de L^* , C, H° y ΔE con letras de Tukey para la MJTZ tratada y sin tratar.

3.4.5. Efecto la alta presión hidrostática sobre los compuestos nutraceuticos de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

La actividad antioxidante (AA) (**Figura 10A**) evaluada al inicio del almacenamiento (día 0) en las MJTX con y sin tratamiento reveló valores elevados ($625 \mu\text{mol}_{\text{ET}}\cdot\text{mL}^{-1}$) de capacidad antioxidante, lo que confirma que el jugo de tuna es una fuente rica en compuestos antioxidantes. Albano et al. (2015) reportaron en extractos de tuna procedente de Italia valores de AA con ensayo FRAP de $0.61 \pm 0.02 \mu\text{mol}$ en 100 g, atribuidos principalmente a fenoles y betalaínas presentes en esta fruta.

Sin embargo, a lo largo del almacenamiento, la actividad antioxidante se redujo en ambas muestras, con una reducción significativa del 37.4 % en la MJTX sin tratamiento.

Al día 45, la actividad antioxidante del jugo sin tratamiento se redujo, mientras que la MJTX tratada se mantuvo en valores cercanos a $1500 \mu\text{mol}_{\text{ET}}\cdot\text{mL}^{-1}$ (**Figura 10B**). Los resultados del ensayo de FRAP (**Figura 10B**) mostraron una tendencia similar con respecto a los obtenidos con ABTS. Al día 45 de almacenamiento, el jugo tratado con HHP conservó el contenido de AA en comparación con la MJTX sin tratamiento (aproximadamente $90 \mu\text{mol}_{\text{ET}}\cdot\text{mL}^{-1}$).

Estos resultados indican que el procesamiento por HHP contribuye a una mejor retención de la capacidad antioxidante (McInerney et al., 2007), en comparación a la MJTX sin tratamiento. La disminución observada en la MJTX sin tratamiento se atribuye a la degradación de compuestos bioactivos durante el almacenamiento, un fenómeno que se intensifica por procesos oxidativos (Błaszczak et al., 2017). En contraste, el tratamiento con HHP inactiva eficazmente las cargas microbianas y preserva las propiedades nutraceuticas del jugo, lo que resulta en una mayor estabilidad de los antioxidantes (Pérez-Lamela, Franco & Franqué, 2021).

En cuanto al contenido de fenoles totales y flavonoides (**Figura 10C** y **Figura 10D**), ambos compuestos presentaron una reducción progresiva durante el tiempo de almacenamiento. Sin embargo, la aplicación de HHP permitió una mayor retención de estos compuestos en comparación con la MJTX sin tratamiento, en el día 15 se redujo el contenido de fenoles en un 19.2 %, al día 35 16.7 % y a los 45 d se redujo a 25.6 % en comparación con la MJTX tratada

Esto es consistente con estudios previos, donde se ha reportado que la HHP puede liberar compuestos fenólicos ligados y mejorar su solubilidad, contribuyendo así a una mayor estabilidad durante el almacenamiento, así como una mayor retención de estos compuestos (Błaszczak et al., 2017; Zhang et al., 2021).

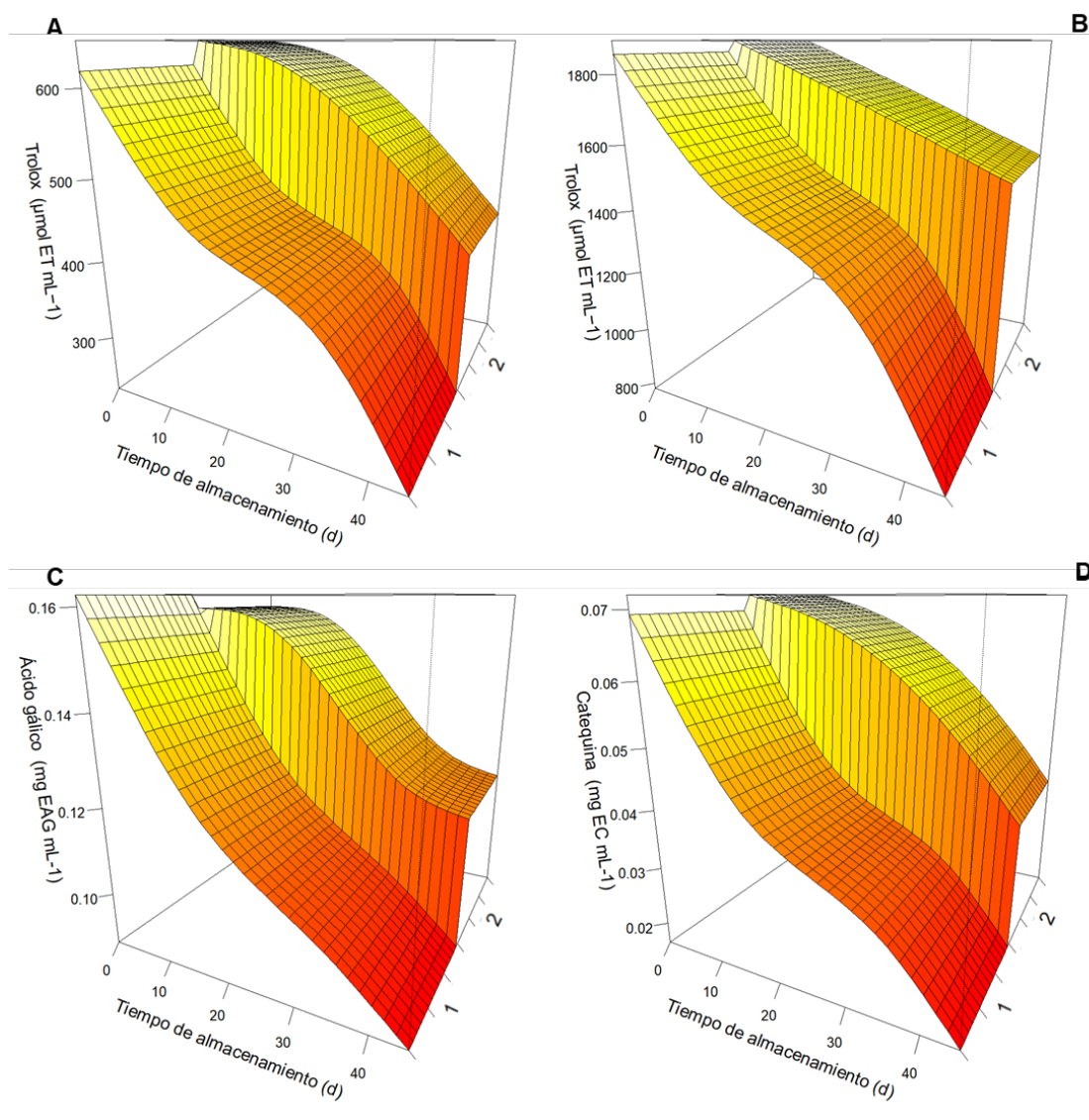


Figura 10. Efecto del almacenamiento en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) sobre los compuestos nutraceuticos en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle tratados y sin tratar previamente con alta presión hidrostática (406 MPa durante 5 min).

La MJTX sin tratamiento corresponde al número 1 y la MJTX con tratamiento de 406 MPa durante 5 min corresponde al número 2. Actividad antioxidante (AA, $\mu\text{mol ET mL}^{-1}$) determinada por: A) Ensayo ABTS y B) Ensayo FRAP; compuestos nutraceuticos: C) Compuestos fenólicos totales (mg EAG mL^{-1}) y D) Flavonoides (mg EC mL^{-1}).

3.4.6. Evaluación sensorial

Los resultados del análisis de varianza de la prueba de diferencia de control mostraron que el tipo de tratamiento (MJTX tratada y sin tratar) es significativa en la magnitud de la diferencia entre muestras de MJTX ($F = 89.80$; $p < 0.001$), mientras que entre panelistas la diferencia no fue significativa ($F = 1.06$; $p = 0.377$). La prueba de Dunnett reveló que la MJTX tratada es mayor (3.40 ± 0.36) que la no tratada en la escala de diez puntos. La prueba LSD confirmó la diferencia de la MJTX tratada (4.79 ± 3.4 a) y la no tratada (1.39 ± 1.75 b). Estos resultados indican que el tratamiento de HHP genera una diferencia sensorial en la MJTX.

La prueba 2-AFC arrojó que 43 panelistas de 120 prefirieron la MJTX tratada con HHP (406 MPa/5 min) y 77 prefirieron la MJTX sin tratar. El número mínimo de respuestas correctas ($N=120$ y $\alpha = 0.05$) para una prueba de preferencia usando elección forzada según las tablas de Bi (2006) es de 72. Lo anterior indica que las 43 respuestas correctas son menores a lo indicado en tablas, por lo tanto, los panelistas presentaron preferencia por la MJTX sin tratar. Además, la potencia calculada de la prueba ($P_1 = 0.65$, $n = 120$, $\alpha = 0.05$) fue de 0.92 y al realizarle una corrección se obtuvo que la potencia fue de 0.88. Este valor indica que la prueba presentó suficiente potencia para detectar un sesgo del 65 % al llevarse a cabo la prueba sensorial por lo que los resultados obtenidos son confiables.

3.5. Conclusiones

La aplicación de HHP a 406 MPa/5min garantiza la completa inactivación de *Listeria innocua* y a 256 MPa/5 min *Saccharomyces cerevisiae*. A 406 MPa/5 min evita la recuperación microbiana durante 45 d en almacenamiento refrigerado (4.5 ± 0.5 °C). Además, este tratamiento no provoca cambios significativos en pH, sólidos solubles, acidez titulable ni en color tras 45 d de almacenamiento. Asimismo, la HHP conservó el contenido de fenoles, flavonoides y actividad antioxidante en comparación a la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle sin tratamiento. Estos resultados aportan una idea de las condiciones que puede prolongar la vida de anaquel de los jugos de tunas hasta 35 d con calidad

nutraceútica y hasta 45 d con inocuidad para su consumo. Además, el tratamiento de HHP produjo una diferencia sensorial significativa en la MJTX (3.40 ± 0.36 ; $p < 0.001$), pero no mejoró su preferencia, ya que 77 personas de 120 prefirieron la MJTX sin tratamiento. Con una potencia de 0.88, se confirma que la diferencia es perceptible, sin embargo, la preferencia se inclina hacia la MJTX sin tratar.

3.6. Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca doctoral (738112) otorgada a la autora Montecinos-Pedro, a la Universidad Autónoma Chapingo (Proyecto convencional 21297-C-62 2020), a la I.A. Mariana Ramírez Gilly y al Dr. Alberto Tecante Coronel por facilitar el uso del equipo de alta presión hidrostática en la Facultad de Química de la UNAM.

3.7. Literatura citada

- Albano, C., Negro, C., Tommasi, N., Gerardi, C., Mita, G., Miceli, A., de Bellis, L., & Blando, F. (2015). Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. *Antioxidants*, 4(2), 269–280. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX4020269>
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of the AOAC* (AOAC International, Ed.; 18th ed.). Association of Official Analytical Chemistry.
- Bang, W., & Barry, G. S. (2008). Scanning Electron Microscopy Studies of *Saccharomyces cerevisiae* Structural Changes by High Hydrostatic Pressure Treatment. *Food Science and Biotechnology*, 17(5), 1102–1105.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Bi, J. (2005). *Sensory Discrimination Tests and Measurements: Statistical Principles, Procedures and Tables* (J. Bi, Ed.; 1st). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470277669>
- Błaszczak, W., Amarowicz, R., & Górecki, A. R. (2017). Antioxidant capacity, phenolic composition, and microbial stability of aronia juice subjected to high hydrostatic pressure processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 39, 141–147. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2016.12.005>
- Borchani, M., Masmoudi, M., Ben Amira, A., Abbès, F., Yaich, H., Besbes, S., Blecker, C., Garvin, A., Ibarz, A., & Attia, H. (2019). Effect of enzymatic treatment and concentration method on chemical, rheological, microstructure and thermal properties of prickly pear syrup. *LWT*, 113, 108314. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108314>
- Cheng, C., Jia, M., Gui, Y., & Ma, Y. (2020). Comparison of the effects of novel processing technologies and conventional thermal pasteurisation on the nutritional quality and aroma of Mandarin (*Citrus unshiu*) juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 64, 102425. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102425>
- Corrales-García, J. J. E. (2009). Industrialization of cactus pads and fruit in Mexico: challenges and perspectives. *Acta Horticulturae*, 811 VI International Congress on Cactus Pear and Cochineal, 103–112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.811.10>
- Cruz-Bravo, R. K., Guzmán-Maldonado, S. H., Araiza-Herrera, H. A., & Zegbe, J. A. (2019). Storage alters physicochemical characteristics, bioactive compounds, and antioxidant capacity of cactus pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 150(August 2018), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.01.001>

- Domínguez-Ramírez, L. L. (2013). Presión hidrostática ultra alta, usos y perspectivas en las ciencias biológicas y de la salud. *Vertientes. Revista Especializada En Ciencias de La Salud*, 16(2).
- González-Angulo, M., Serment-Moreno, V., Clemente-García, L., Tonello, C., Jaime, I., & Rovira, J. (2021). Assessing the pressure resistance of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* to high pressure processing (HPP) in citric acid model solutions for process validation. *Food Research International*, 140, 110091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110091>
- Gouvea, F. S., Koutchma, T., Ferreira, E. H. R., Walter, E. H. M., & Rosenthal, A. (2023). Resistance of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., and *Listeria monocytogenes* in high and low-acidity juices processed by high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 395, 110189. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2023.110189>
- Gouvea, F. S., Padilla-Zakour, O. I., Worobo, R. W., Xavier, B. M., Walter, E. H. M., & Rosenthal, A. (2020). Effect of high-pressure processing on bacterial inactivation in açai juices with varying pH and soluble solids content. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102490. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2020.102490>
- Hernández-Brenes, C., Ramos-Parra, P. A., Jacobo-Velázquez, D. A., Villarreal-Lara, R., & Díaz-De la Garza, R. I. (2013). High Hydrostatic Pressure Processing as a Strategy To Increase Carotenoid Contents of Tropical Fruits. In *Tropical and Subtropical Fruits: Flavors, Color, and Health Benefits* (Vol. 1129, pp. 29–42). American Chemical Society. <https://doi.org/doi:10.1021/bk-2013-1129.ch002>
- Hernández-Montes, A. (2007). Evaluación sensorial de productos agroalimentarios. Universidad Autónoma Chapingo.
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Hernández-Eugenio, G., Villagarcía, M., ReyesTrejo, B., & Guerra-Ramírez, D. (2017). Influence of Polar Solutions on the Extraction of Phenolic Compounds from Capulín Fruits (*Prunus serotina*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 60(2). <https://doi.org/10.29356/jmcs.v60i2.76>
- Huang, H.-W., Lung, H.-M., Yang, B. B., & Wang, C.-Y. (2014). Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing. *Food Control*, 40, 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.12.007>
- Jaén-Contreras, D., Arévalo-Galarza, Ma. de L., Ramírez-Guzman, M. E., Cadena-Iñiguez, J., & Hernández-Vázquez, M. V. (2022). Quality of floral stems of *lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* Raf.) inoculated with *Bacillus subtilis* and *Glomus intraradices*. *Ornamental Horticulture*, 28(4), 414–422. <https://doi.org/10.1590/2447-536x.v28i4.2498>
- Jiménez-Aguilar, D. M., Escobedo-Avellaneda, Z., Martín-Belloso, O., Gutiérrez-Urbe, J., Valdez-Fragoso, A., García-García, R., Torres, J. A., & Welti-Chanes, J. (2015). Effect of High Hydrostatic Pressure on the Content of

- Phytochemical Compounds and Antioxidant Activity of Prickly Pears (*Opuntia ficus-indica*) Beverages. *Food Engineering Reviews*, 7(2), 198–208. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9111-5>
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril, and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>
- Leyva-Daniel, D. E., Escobedo-Avellaneda, Z., Villalobos-Castillejos, F., Alamilla-Beltrán, L., & Welti-Chanes, J. (2017). Effect of high hydrostatic pressure applied to a Mexican honey to increase its microbiological and functional quality. *Food and Bioprocess Processing*, 102, 299–306. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2017.01.001>
- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
- McInerney, J. K., Seccafien, C. A., Stewart, C. M., & Bird, A. R. (2007). Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(4), 543–548. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2007.04.005>
- Meng, C., Xu, W., Qiao, Y., Qin, L., Su, P., & Liao, X. (2024). Predicting vulnerability through hybrid modeling combining GAM and XGBoost - A case of affected population vulnerability to tropical cyclone in Hainan Province. *International Journal of Disaster Risk Reduction*, 111, 104732. <https://doi.org/10.1016/J.IJDRR.2024.104732>
- Morales, P., Barros, L., Ramírez-Moreno, E., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Xoconostle fruit (*Opuntia matudae* Scheinvar cv. Rosa) by-products as potential functional ingredients. *Food Chemistry*, 185, 289–297. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.04.012>
- Oey, I., Lille, M., Van Loey, A., & Hendrickx, M. (2008). Effect of high-pressure processing on colour, texture and flavour of fruit- and vegetable-based food products: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(6). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2008.04.001>
- Pérez-Lamela, C., Franco, I., & Falqué, E. (2021). Impact of High-Pressure Processing on Antioxidant Activity during Storage of Fruits and Fruit Products: A Review. *Molecules*, 26(17), 5265. <https://doi.org/10.3390/molecules26175265>
- Pokhrel, P. R., Boulet, C., Yildiz, S., Sablani, S., Tang, J., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2022). Effect of high hydrostatic pressure on microbial inactivation and quality changes in carrot-orange juice blends at varying pH. *LWT*, 159, 113219. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113219>
- Quiroz-González, B., Rodríguez-Martínez, V., García-Mateos, M. del R., Torres, J. A., & Welti-Chanes, J. (2018). High hydrostatic pressure inactivation and

- recovery study of *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 169–173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.003>
- Ramírez-Ramos, M., García-Mateos, M. del R., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, C., & Castillo-González, A. M. (2015). Antioxidant compounds in prickly pear (*Opuntia* sp.) pigmented varieties. *Sociedad Mexicana de Fitogenética*, 38(4), 349–357. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20153443239>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rios-Corripio, G., Welti-Chanes, J., Rodríguez-Martínez, V., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2020). Influence of high hydrostatic pressure processing on physicochemical characteristics of a fermented pomegranate (*Punica granatum* L.) beverage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102249. <https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2019.102249>
- Rios-Corripio, G., Welti-Chanes, J., Rodríguez-Martínez, V., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2024). High hydrostatic pressure processing of fresh juice and a fermented beverage of black cherry (*Prunus serotina*). *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 100937. <https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2023.100937>
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, y SIACON Sistema de información Agroalimentaria de Consulta. (2024). SIACON, Sistema de información Agroalimentaria de Consulta (27 junio de 2024). Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Spira, P., Bisconsin-Junior, A., Rosenthal, A., & Monteiro, M. (2018). Effects of high hydrostatic pressure on the overall quality of Pêra-Rio orange juice during shelf life. *Food Science and Technology International*, 24(6), 507–518. <https://doi.org/10.1177/1082013218768997>
- Szczepańska, J., Barba, F. J., Skąpska, S., & Marszałek, K. (2020). High pressure processing of carrot juice: Effect of static and multi-pulsed pressure on the polyphenolic profile, oxidoreductases activity and colour. *Food Chemistry*, 307, 125549. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.125549>
- Usaga, J., & Worobo, R. W. (2018). Microbial Safety and Quality Evaluation of UV-Treated, Cold-Pressed Colored and Turbid Juices and Beverages.

Journal of Food Protection, 81(9), 1549–1556.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-085>

- Wang, C. Y., Wang, Y. T., Wu, S. J., & Shyu, Y. T. (2018). Quality changes in high hydrostatic pressure and thermal pasteurized grapefruit juice during cold storage. *Journal of Food Science and Technology*, 55(12), 5115–5122.
<https://doi.org/10.1007/s13197-018-3452-z>
- Yu, Y., Lin, Y., Zhan, Y., He, J., & Zhu, S. (2013). Effect of high pressure processing on the stability of anthocyanin, ascorbic acid, and color of Chinese bayberry juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 119(3).
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.06.036>
- Zhang, W., Liang, L., Pan, X., Lao, F., Liao, X., & Wu, J. (2021). Alterations of phenolic compounds in red raspberry juice induced by high-hydrostatic-pressure and high-temperature short-time processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67, 102569.
<https://doi.org/10.1016/J.IFSET.2020.102569>

4. EFECTO DEL OZONO EN LA CALIDAD DEL JUGO DE TUNA MEZCLADO CON JUGO DE XOCONOSTLE

4.1. Resumen

La tuna es rica en vitaminas y compuestos bioactivos, pero su alta susceptibilidad microbiana y el deterioro por tratamientos térmicos limitan su conservación. La ozonización es una alternativa no térmica para lograr inocuidad sin calor. Este estudio evaluó el efecto del ozono sobre la inocuidad, las propiedades fisicoquímicas y el potencial nutracéutico de una relación 9:1 de jugo de tuna y jugo de xoconostle (MJTX). Se inocularon *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* y se aplicaron exposiciones de ozono de 0 a 6 min y de 0 a 13 min, respectivamente; además, se evaluaron muestras no inoculadas tras 5 y 12 min. Las muestras se refrigeraron durante 35 d y se midieron pH, sólidos solubles totales, acidez, color y compuestos nutracéuticos (fenoles, flavonoides y actividad antioxidante). Cinco minutos de ozono eliminaron *L. innocua* y 12 min inactivaron *S. cerevisiae*, sin recuperación durante 35 d. En muestras no inoculadas tratadas 5 min, no se detectó crecimiento microbiano ni cambios significativos en pH, sólidos o acidez. Sin embargo, exposiciones de 5 y 12 min redujeron el color y los compuestos nutracéuticos respecto al jugo sin tratar. En conclusión, la ozonización de 5 y 12 min garantiza la inocuidad microbiológica de la MJTX durante 35 d de refrigeración, aunque el color y su potencial nutracéutico se degrada significativamente.

Palabras clave: ozono; jugo; tuna; xoconostle; compuestos nutracéuticos.

EFFECT OF OZONE ON THE QUALITY OF PRICKLY PEAR JUICE MIXED WITH XOCONOSTLE JUICE

Abstract

Prickly pear is rich in vitamins, minerals and bioactive compounds, but its high microbial susceptibility and deterioration by thermal treatments limit its preservation. Ozonation is a non-thermal alternative to achieve safety without heat. This study evaluated the effect of ozone on the safety, physicochemical properties and nutraceutical potential of a mixture 9:1 of prickly pear and xoconostle juice (MJTX). *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* were inoculated and exposed to ozone for 0 to 6 min and 0 to 13 min, respectively; non-inoculated samples were also evaluated after 5 and 12 min. Samples were refrigerated for 35 days and measured for pH, total soluble solids, titratable acidity, color, and nutraceutical compounds (phenols, flavonoids, and antioxidant activity). Five minutes of ozone eliminated *L. innocua* and 12 min inactivated *S. cerevisiae*, with no recovery over 35 days. In non-inoculated samples treated for 5 min, no microbial growth or significant changes in pH, soluble solids or acidity were detected. However, exposures of 5 and 12 min significantly reduced the color parameters and the levels of phenols, flavonoids and antioxidant capacity compared to untreated juice. In conclusion, ozonation for 5 and 12 min ensures the safety microbiology of the MJTX during 35 days of refrigeration, although it significantly alters its color and nutraceutical compounds.

Keywords: ozone; juice; prickly pear; xoconostle; nutraceutical compounds.

4.2. Introducción

La tuna (*Opuntia ficus-indica*) y el xoconostle (*Opuntia joconostle*) son frutos del género *Opuntia*, pertenecientes a la familia *Cactaceae*, caracterizados por su epidermis gruesa y pulpa jugosa con (muchas) semillas (Ramírez-Rodríguez et al., 2020). El primero se destaca por su sabor dulce y el segundo se distingue por su pronunciada acidez (Morales et al., 2015). Ambos frutos, presentan una amplia gama de pigmentos betalámicos que les confieren una amplia gama de colores y compuestos con actividad antioxidante relevante para la salud humana (Stintzing et al., 2005) y compuestos fenoles, vitaminas y compuestos bioactivos con potencial nutracéutico (Cota-Sánchez, 2016). Estas frutas son producidas en las regiones áridas y semiáridas de México, América del Sur, África, Italia y Estados Unidos (Chougui et al., 2013). Particularmente en México, su alta producción en temporadas de cosecha ocasiona la caída en sus precios, reduce la generación de empleos y consecuentemente causa pérdidas económicas y desperdicio de alimentos (Cota-Sánchez, 2016; SADER, 2023).

El procesamiento térmico tradicional provoca en la tuna la pérdida de compuestos volátiles termolábiles responsables de su aroma y sabor (Corrales-García, 2009) tales como betalaínas, fenoles y vitamina C (Borchani et al., 2019; Cruz-Bravo et al., 2019). Además, el elevado contenido de agua y azúcares de ambos frutos facilita la fermentación indeseada y el crecimiento microbiano (Corrales-García & Flores-Valdez, 2000), lo que acorta la vida de anaquel y afecta la aceptación del producto final (Corrales-García & Flores-Valdez, 2003).

Debido a la susceptibilidad de estos frutos es que se exigen procesamientos alternativos a los tradicionales y la búsqueda de métodos no térmicos responde a la necesidad de preservar atributos sensoriales y compuestos bioactivos (Gómez-Maqueo, Welte-Chanes, & Cano, 2020). El ozono es un gas inestable que contiene tres átomos de oxígeno (O₃), es usado en la desinfección de agua y aire debido a su poder oxidante (Marque & Santelli, 2018).

La ozonización es un tratamiento no térmico que inactiva microorganismos mediante oxidación sin dejar residuos tóxicos y sin aplicar calor (Asokapandian, Periasamy, & Swamy, 2018; Marque & Santelli, 2018).

La ozonización es la inyección de ozono (O_3) directamente sobre el producto a tratar para que reaccionen entre sí (Ledea-Lozano et al., 2019), durante esa reacción el ozono se descompone y produce radicales libres principalmente hidroxilos, los efectos del radical hidroxilo están asociados con la inactivación de enzimas y la ruptura de las membranas celulares de los microorganismos (García Loredó et al., 2015). Además, la FDA aprobó el uso de ozono como agente antimicrobiano en el tratamiento, almacenamiento y procesamiento de alimentos (FDA, 2004).

Por otro lado, *Listeria innocua* es una bacteria que se utiliza como organismo indicador dado su comportamiento similar y resistencia comparable a *L. monocytogenes* (Bahrami et al., 2020). La erradicación de *L. monocytogenes* es esencial para prevenir brotes de listeriosis en personas vulnerables (Bruschi, Komora, Castro, Saraiva, Ferreira, & Teixeira, 2017). La evaluación de *Listeria innocua* en estudios de inocuidad alimentaria es crucial por su similitud fisiológica con *L. monocytogenes*, patógeno resistente a condiciones adversas y causante de listeriosis (Bahrami et al., 2020; Costa et al., 2018).

Asimismo, *Saccharomyces cerevisiae* es una levadura que representa un indicador de estabilidad microbiológica en jugos, dado su papel en fermentaciones no deseadas y deterioro (Quiroz-González et al., 2018). La inactivación de ambos microorganismos mediante ozono garantizaría la seguridad y prolongaría la vida útil del producto. *Saccharomyces cerevisiae* actúa como indicador de alteración fermentativa en jugos, afectando su sabor y estabilidad (Roobab, Aadil, Madni, & Bekhit, 2018).

La presencia de esta levadura en el producto almacenado puede comprometer atributos sensoriales y nutricionales (Sroy, Fundo, Miller, Brandão, & Silva, 2019).

Es imprescindible evaluar tratamientos de conservación que inactiven bacterias y levaduras simultáneamente (Cullen, Valdramidis, Tiwari, Patil, Bourke, & O'Donnell, 2010).

El ozono ha demostrado reducciones de hasta 5 log₁₀ UFC en *L. innocua* y *S. cerevisiae* en jugos, confirmando su eficacia como agente no térmico (Patil, Valdramidis, Cullen, Frias, & Bourke, 2010; Choi, Liu, Lee, Jin, Ryu, & Kang, 2012). Existe evidencia del efecto biocida del ozono de bacterias enteropatógenas como en *Salmonella* en jugo de mango (Supian et al., 2022b), *Escherichia coli* en jugo de naranja (Patil et al., 2009b), *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes* en jugo de manzana (Choi et al., 2012b) y *Listeria innocua* en jugo de naranja (Patil et al., 2010b).

El ozono actúa oxidando componentes celulares como proteínas y lípidos de membranas y ácidos nucleicos, induciendo daño irreversible en bacterias, hongos y levaduras (Choi et al., 2012) (Marque & Santelli, 2018). Su descomposición rápida en oxígeno diatómico evita la acumulación de subproductos tóxicos (Cullen, Valdramidis, Tiwari, Patil, Bourke, & O'Donnell, 2010). Estudios en jugos de naranja y manzana demuestran reducciones de hasta 5 Log₁₀ UFC en *E. coli*, *Salmonella* y *S. cerevisiae*, aunque afectó reservas de ácido ascórbico y antocianinas (Choi, Liu, Lee, Jin, Ryu, & Kang, 2012).

En jugo de Kinnow, la ozonización aumentó la concentración de flavonoides y la capacidad antioxidante sin modificar pH ni acidez (Iqbal, Nadeem, Ainee, Qureshi, & Khalid, 2023). En jugo de durazno, se registraron leves cambios en color y viscosidad sin alteraciones en sólidos solubles totales (Sroy, Fundo, Miller, Brandão, & Silva, 2019). Otra cualidad del uso del ozono en alimentos es que no deja residuos, olores ni sabores, porque al descomponerse a temperatura ambiente se libera en oxígeno diatómico (O₂) (Cullen et al., 2010; Öztekin, 2019; Pandiselvam et al., 2019). Sin embargo, la exposición del ozono puede afectar la calidad de los jugos debido a su poder oxidante sobre los compuestos bioactivos (García-Mateos et al., 2019).

Estas aplicaciones resaltan el potencial del ozono para lograr la estabilidad microbiológica y nutracéutica en diversos jugos (Asokapandian, Periasamy, & Swamy, 2018; Pandiselvam, Subhashini, Banuu, Kothakota, & Shahir, 2019), por lo que estos antecedentes respaldan su investigación en jugos de *Opuntia* ya que no existen investigaciones que evalúen exclusivamente la ozonización de mezclas de tuna y xoconostle.

El ozono se ha aplicado en una gran variedad de jugos de frutas, sin embargo, aún es reducida la información sobre su efecto en los jugos de frutas de la familia *Cactaceae*, como la tuna (*Opuntia* spp) y el xoconostle (*Opuntia joconostle*). Por todo lo anterior, el primer objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de diferentes tiempos de ozono sobre las poblaciones de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* en jugo de tuna mezclado con jugo de xoconostle, y en segundo lugar evaluar el efecto del ozono sobre la microbiota nativa y las propiedades fisicoquímicas y nutraceúticas en jugo de tuna mezclado con jugo de xoconostle.

4.3. Materiales y Métodos

4.3.1. Material vegetal

Los frutos utilizados fueron tuna (*Opuntia* spp.) proveniente de San Martín de las Pirámides y xoconostle (*Opuntia joconostle*) de Otumba, ambas localidades del Estado de México. Los frutos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (0.1 % v/v; Cloralex®, 6 %, México).

4.3.2. Extracción del jugo

La cáscara de la tuna se removió con un cuchillo, y al xoconostle se le retiró la piel externa y las semillas del funículo. El jugo de cada fruto se extrajo por separado con un extractor comercial (Big Mouth®, Hamilton Beach modelo 67601 tipo CJ, Virginia, USA). Al jugo de tuna se le determinó un pH de 6.5 y 12.5 °Brix, y al de xoconostle un pH de 3.0 y 5.1 °Brix. Ambos jugos fueron enfriados a 2 ± 1 °C durante 30 min y posteriormente se les retiró la espuma superficial.

Los jugos se mezclaron dentro de un termo (Coleman®, modelo 42254, 37.8 L, USA) en una proporción 9:1 (tuna:xoconostle), la mezcla de jugos resultante presentó un pH 4.3 y 11.3 °Brix. Esta mezcla de jugos (MJTX) se almacenó en frascos de vidrio estériles con capacidad de 450 mL y se congeló (Tororey, modelo CH-25R, Nuevo León, México) a -20 °C hasta su uso.

4.3.3. Material biológico

Para evaluar el efecto biocida del ozono en la mezcla de jugos de tuna, se empleó una cepa de *Listeria innocua* ATCC 33090 del Cepario de la Facultad de Química de la UNAM (Coyoacán, Ciudad de México, México); y una cepa de *Saccharomyces cerevisiae* CDBB-L-331 de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares del CINVESTAV-IPN (San Pedro Zacatenco, Ciudad de México, México). Ambas cepas se indujeron a resistencia a kanamicina (sal de disulfato de *Streptomyces kanamyceticus* (K1876-5G; 50 mg mL⁻¹) (Sigma-Aldrich Chemical Co St. Louis, MO, EE. UU) para evitar la interferencia de microorganismos indeseados al realizar el conteo de colonias en placa, debido a que la MJTX no fue esterilizada.

Preparación del inóculo microbiano e inoculación del jugo

Las cepas de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* se activaron por separado en 60 mL de caldo de soya tripticaseína (BD Bioxon, Estado de México, México). La incubación (Binder No. 14-06843, Tuttlingen, Germany) se realizó sin agitación hasta alcanzar la fase exponencial, para *L. innocua* fue durante 10 h a 37 °C y para *S. cerevisiae* durante 20 h a 30 °C.

Las suspensiones microbianas se centrifugaron (Thermo Fisher Scientific, Sorvall ST 8, Massachusetts, USA) de manera individual a 4500 × *g* durante 5 min. Después, de manera individual se desechó el sobrenadante y se realizó doble lavado del pellet con agua peptonada bufferada (0.01 % p/v; Sigma-Aldrich Chemical Co St. Louis, MO, EE. UU), finalmente cada pellet se suspendió en 50 mL de agua destilada estéril a 20 ± 1 °C.

4.3.4. Aplicación de tratamiento de ozono

Se inoculó por separado *Listeria innocua* ($6.31 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) y *Saccharomyces cerevisiae* ($4.4 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) en frascos estériles que contenían 100 mL de MJTX. Cada frasco con la MJTX inoculada se homogeneizó durante 10 s en vortex, se transfirió 1 mL de la suspensión microbiana a nuevos frascos con 100 mL de MJTX, estos constituyeron como unidades experimentales. Estas unidades experimentales se incubaron sin agitación durante 4 h a $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Posteriormente, a cada unidad experimental se le introdujo una manguera de silicón quirúrgico con difusor cerámico a cada unidad experimental y se aplicó ozono con un generador semiindustrial (Biozon PTA Mini; temporizador analógico 0–30 min; Estado de México, México) a un flujo constante de $1.2 \text{ g O}_3 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$; el temporizador se programó según el tiempo del tratamiento.

4.3.5. Efecto de diferentes tiempos de exposición de ozono en la población de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle no refrigerada

El primer experimento evaluó el efecto de diferentes tiempos de exposición de ozono sobre la población de *L. innocua* y *S. cerevisiae* inoculadas de manera independiente en 100 mL de MJTX. Los tratamientos para *L. innocua* fueron 0, 3, 5, 6 y 7 min y para *S. cerevisiae* fueron 0, 5, 7, 10 y 12 min de exposición de ozono. El testigo consistió en MJTX inoculada sin ozonización (0 min). La variable de respuesta se expresó en $\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ para cada microorganismo. Cada tratamiento y testigo contó con tres repeticiones (frascos con 100 mL de MJTX).

4.3.6. Efecto del ozono sobre la población de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante frigoconservación

El segundo experimento tuvo como objetivo evaluar el efecto del tratamiento de 5 min en la población de *Listeria innocua* ($\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) y 12 min en *S. cerevisiae* inoculados de manera independiente en la MJTX (100 mL) y

almacenados en refrigeración a 4.5 ± 0.5 °C durante 35 d. La evaluación microbiana se realizó en los días 0, 5, 10, 15, 25 y 35 de almacenamiento con el propósito de identificar posible crecimiento de estos microorganismos.

El tratamiento se comparó con un testigo constituido por la MJTX inoculada y sin tratamiento. La variable de respuesta se expresó en Log_{10} UFC mL^{-1} . En cada día de evaluación se analizó tres repeticiones por tratamiento y testigo.

4.3.7. Efecto del ozono sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante frigoconservación

En el tercer experimento tuvo como objetivo evaluar el efecto del tratamiento de 5 min de exposición de ozono sobre la microbiota nativa presente en la MJTX, sin inoculación microbiana previa. Las muestras tratadas y el testigo (MJTX sin tratamiento y sin inoculación) se almacenaron en refrigeración a 4.5 ± 0.5 °C durante 35 d. La población de microorganismos nativos (mesófilos aerobios, levaduras y mohos) se evaluó en los días 0, 5, 10, 15, 25 y 35 de almacenamiento. La variable de respuesta se expresó en Log_{10} UFC mL^{-1} . En cada día de evaluación se analizaron tres repeticiones por tratamiento y testigo.

Adicionalmente, las mismas repeticiones de MJTX utilizadas en este experimento se emplearon para analizar las variables fisicoquímicas, incluyendo pH, sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable y parámetros de color. También se determinaron los compuestos nutraceuticos: contenido de fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante mediante el ensayo FRAP. Estos análisis tuvieron como objetivo evaluar el efecto del tratamiento con ozono sobre la calidad y estabilidad de la MJTX durante el almacenamiento en refrigeración.

4.3.8. Evaluación microbiana

Las evaluaciones microbiológicas de los tres experimentos se realizaron por triplicado por cada repetición de tratamiento y testigo. De cada frasco con 100 mL de la MJTX se tomó una alícuota de 10 mL y se diluyó en 90 mL de agua buferada peptonada (0.01 %).

Posterior a la dilución inicial, se realizaron diluciones decimales adicionales con agua buferada peptonada al 0.01 %. De cada dilución, se sembraron 100 μ L en placas con agar de soya tripticaseína (BD Bioxon, Estado de México, México) para *L. innocua* y con agar dextrosa papa (BD Bioxon, Estado de México, México) para *S. cerevisiae*. Las placas inoculadas con *L. innocua* se incubaron a 37 °C durante 72 h, y las placas inoculadas con *S. cerevisiae* se incubaron a 30 °C durante 5 d. Para la evaluación de la microbiota nativa (mesófilos aerobios totales, hongos y levaduras) se utilizó la metodología descrita por (Leyva-Daniel et al., 2017). Los resultados se expresaron como Log_{10} UFC mL^{-1} , correspondientes al promedio de tres repeticiones. Se contabilizaron colonias entre 3 y 300 por placa, ajustadas según el factor de dilución utilizado.

4.3.9. Evaluación fisicoquímica

El pH se determinó con un potenciómetro (HANNA Instruments, modelo HI 98150, Woonsocket, USA). Los sólidos solubles totales (°Brix) se midieron con un refractómetro digital portátil (ATAGO, modelo PAL-1 3810, Omaeda, Japón). Ambas variables se analizaron conforme a los métodos 981.12 y 920.151 de la *Association of Official Analytical Chemists*; la acidez titulable (%) se evaluó según el método 942.15 de la misma referencia (AOAC, 2005).

Evaluación de los parámetros de color

Los parámetros de color L^* , a^* y b^* , se obtuvieron con un colorímetro Hunter Lab (MiniScan™ XE Plus, No. 45/O-L, serie 5348, Reston, Virginia, USA). Las mediciones se realizaron en una copa de cristal con capacidad de 100 mL. A partir de los valores obtenidos, se calcularon el cambio de color total (ΔE), Cromo (C) y el ángulo Hue (°) con base en la metodología descrita por McGuire (1992).

4.3.10. Análisis de potencial nutracéutico

Los compuestos nutracéuticos evaluados incluyeron el contenido fenólico total, flavonoides y la capacidad antioxidante. Antes de cada determinación, se transfirieron 15 mL de la MJTX a tubos Falcon y se centrifugaron a $4,500 \times g$ durante 15 min (Frontier 5718R, Ohaus, Parsippany, USA).

A partir de este acondicionamiento, se aplicaron los métodos específicos para cada compuesto, adaptados a formato de microplacas. Las lecturas de los compuestos nutraceuticos se realizaron en un lector de microplacas de 96 pozos mediante un espectrofotómetro (Synergy 2 Microplate Reader, software Gen5, Biotek Instruments Inc., Winoosky, VT, USA). La metodología correspondiente a cada análisis se detalla en los apartados siguientes.

Contenido fenólico total

El contenido fenólico total se determinó de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu (Hernández-Rodríguez et al., 2017; Singleton & Rossi, 1965). En cada pocillo de la microplaca se colocó 25 μ L de la MJTX, 125 μ L de agua destilada, 20 μ L de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU) diluido 1:10 y 30 μ L de carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3 , Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.) al 20 %, el blanco fue agua destilada. Las muestras reposaron en oscuridad durante 30 min antes de medir la absorbancia a 760 nm.

Se utilizó una curva estándar a partir de una solución ácido gálico (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.): $y = 44.137x - 0.001$; $R^2 = 0.998$. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de AG por mililitro ($\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Flavonoides

Los flavonoides se evaluaron de acuerdo con el método de (Kubola & Siriamornpun, 2011). La MJTX (0.5 mL) se mezcló con agua destilada (2.5 mL) y nitrito de sodio (NaNO_2 , Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.) al 5 % (0.15 mL), reposó por 6 min. Luego se adicionó 0.3 mL de cloruro de aluminio hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.) al 10 % , y tras 5 min de reposo, se añadió 1 mL hidróxido de sodio (NaOH , J.T. Baker, Madrid, España) al 5 % . La mezcla se agitó en vortex (Vortex Synergy, WVR International, Radnor, Pennsylvania, EUA) a $3,000 \times g$ durante 3 min y se transfirió 200 μ L a la microplaca para medir la absorbancia a 510 nm.

Se utilizó una curva estándar a partir de una solución de catequina (C) (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, EE. UU.): $y = 10.709x - 0.003$; $R^2 = 0.997$. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de catequina (C) por mililitro ($\text{mg}_{\text{EC}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante (AA) se evaluó con base en el ensayo FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Benzie & Strain, 1996). Los reactivos utilizados provinieron de Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EE. UU). Para el ensayo FRAP se preparó el reactivo al momento de su uso. Se mezcló acetato de sodio trihidratado ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 300 mM, pH 3.6), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina, 10 mM en ácido clorhídrico (HCl), 40 mM) y cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 20 mM) en proporción 10:1:1. En cada pocillo de la microplaca se vertieron 20 μL de la MJTX, 60 μL de agua destilada y 180 μL del reactivo FRAP, se midió la absorbancia a 595 nm tras 10 min de reposo. La AA para este ensayo se cuantificó a partir de una curva estándar de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico): $y = 0.0291x - 0.019$; $R^2 = 0.994$. Los resultados se expresaron en micromoles equivalentes de Trolox por mililitro ($\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

4.3.11. Análisis estadístico

La asignación de tratamientos a las unidades experimentales (100 mL de la MJTX) se realizó completamente al azar. Para evaluar el efecto del ozono sobre las poblaciones de *Listeria innocua*, *Saccharomyces cerevisiae* y la microbiota nativa en la MJTX, se utilizó como variable de respuesta el Log_{10} UFC mL^{-1} .

A estos datos se les aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene (homocedasticidad), al cumplir con ambos supuestos no se realizó transformación de datos. A estos datos se le realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia de 0.05. Se asumió el modelo:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

Donde y_{ij} representa el Log_{10} UFC mL^{-1} de la cepa para la j -ésima repetición del i -ésimo tratamiento, μ es la media general, τ_i es el efecto del tratamiento con $i = 0, 5, 7, 10, 12$ y 13 min para *S. cerevisiae* y para *L. innocua* $0, 3, 4, 5$ y 6 min, y $e_{(ij)}$ es el error experimental.

Para el efecto del ozono sobre las variables fisicoquímicas de pH, sólidos solubles totales ($^{\circ}\text{Brix}$), acidez titulable (%) se aplicó un ANOVA y una comparación de medias de Tukey con un nivel de significancia de 0.05.

Para las variables relacionadas con los parámetros de color (L^* , Croma, ángulo Hue ($^{\circ}$), ΔE) y el potencial nutraceutico (fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante) se empleó un Modelo aditivo generalizado (GAM por sus siglas en inglés).

Este modelo permitió analizar las relaciones no lineales entre las variables de respuesta, el tipo de tratamiento (testigo: sin tratamiento, tratamiento: 5 y 12 min de exposición de ozono) y el tiempo de almacenamiento (0, 5, 10, 15, 25 y 35 d) en refrigeración. A diferencia de los modelos lineales tradicionales, el GAM no requiere transformar previamente los datos, ya que estos modelos segmentan los datos mediante puntos clave denominados nudos, ajustando posteriormente una regresión polinómica por partes (Jaén-Contreras et al., 2022). Se asumió el modelo:

$$g = B_i + I(\text{tipo}) + f(\text{días}) + e_{ij}$$

Donde B_i representa la variable de respuesta $i = L^*$, Croma, ángulo Hue ($^{\circ}$), ΔE ; fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante (FRAP); $j = 1, 2, 3$; $I(\text{tipo})$ es la variable de clasificación del tratamiento (testigo, tratamiento) y $f(\text{días})$ es una función de suavizamiento en el tiempo de almacenamiento refrigerado.

Además, se realizaron comparaciones de curvas del modelo GAM, comparaciones de Tukey y comparaciones de Kruskal–Wallis. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software estadístico RStudio versión 2023.06.1.

4.4. Resultados y discusión

4.4.1. Efecto de diferentes tiempos de exposición de ozono en la población de *L. innocua* y *S. cerevisiae* inoculadas en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle

Al considerar que los datos presentan normalidad y homocedasticidad estadística, se realizó un ANOVA para determinar si los tratamientos muestran diferencias significativas. Los tiempos de exposición de ozono a *L. innocua* ($p\text{-value}= 5.3\text{e}^{-15}$) y los tiempos para *S. cerevisiae* ($p\text{-value}= 1.8\text{e}^{-14}$) fueron estadísticamente significativos ($p \leq 0.05$), lo que significa que hay efecto del tiempo de exposición del ozono sobre la población (Log_{10} UFC mL^{-1}) de cada microorganismo.

El efecto del ozono sobre la población de *S. cerevisiae* y *L. innocua* inoculada en el jugo de tuna mezclado con xoconostle se muestra en la **Figura 11**. La población de *S. cerevisiae* en el jugo presentó reducción del 100 % ($p \leq 0.05$) después de aplicar 12 y 13 min de exposición de ozono, debido a que a partir de 12 min de exposición de ozono se inactivó la población total con respecto al jugo al jugo sin tratamiento (0 min). Además, la exposición de 5 a 10 min de ozono fue similar al jugo sin tratamiento ya que la reducción de *S. cerevisiae* no fue significativa ($p \leq 0.05$).

La exposición de 3 min de ozono al jugo inoculado con *L. innocua* se comportó de manera similar que el jugo sin tratamiento, sin embargo, al exponerlo a 5 y 6 min de ozono la reducción de esta bacteria fue significativa ($p \leq 0.05$), ya que no hubo detección de esta bacteria.

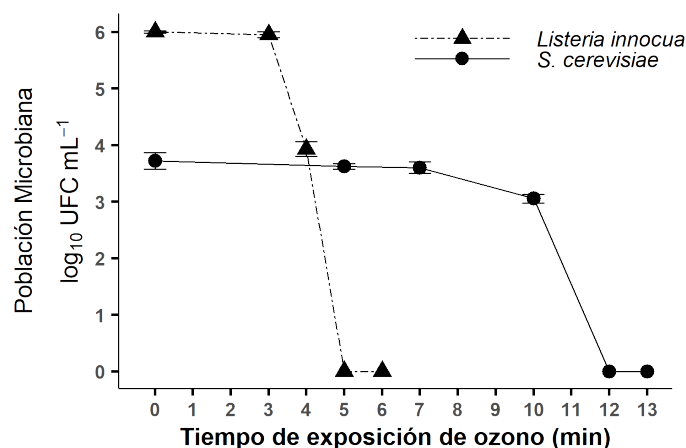


Figura 11. Efecto de diferentes tiempos de exposición de ozono sobre la población de *L. innocua* y *S. cerevisiae* inoculados en jugo de tuna mezclado con jugo de xoconostle. (tasa de inyección del ozonizador 1.2 g O₃ L⁻¹ h⁻¹).

Los tratamientos que lograron una reducción de 5 o más ciclos logarítmicos, tal como lo indica la FDA (2001a) para obtener un jugo microbiológicamente seguro fueron 12 y 13 min de ozono ya que logró una reducción total de la población de *S. cerevisiae* y para *L. innocua* fue 5 y 6 min de exposición de ozono, estos tiempos se aplicaron en los experimentos posteriores debido a que se obtuvo una reducción total de la población. En jugo de durazno inoculado con *L. innocua* y expuesto a 2 min de ozono logró una reducción de 5 Log₁₀ UFC mL⁻¹ (tasa de inyección 22-40 mg O₃ L⁻¹ min⁻¹) lo que indica que esta bacteria puede ser afectada con poco tiempo (min) exposición de ozono (García, Guerrero, & Alzamora, 2015).

La acción biocida del ozono está relacionada con el tiempo de contacto con el microorganismo, lo que provoca la oxidación de la envoltura celular y sus componentes, como proteínas, peptidoglicanos en las envolturas celulares, enzimas y ácidos nucleicos en el citoplasma de las bacterias y peptidoglicanos en las cubiertas de las esporas (Asokapandian et al., 2018; Torres et al., 2011).

4.4.2. Efecto del ozono sobre la población de *L. innocua* y *S. cerevisiae* inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante diferentes periodos de frigoconservación

El jugo de tuna mezclado con jugo de xoconostle tratado con 12 min de ozono presentó población de $2.72 \pm 0.12 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ de *S. cerevisiae* el día 0, es decir el mismo día de la aplicación del tratamiento, pero sólo logró reducir 1.93 $\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ con respecto del inóculo inicial ($4.09 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) mientras que el resto de los días de evaluación no hubo detección de colonias, en contraste con el jugo testigo que presentó población durante los 35 d. (**Figura 12B**).

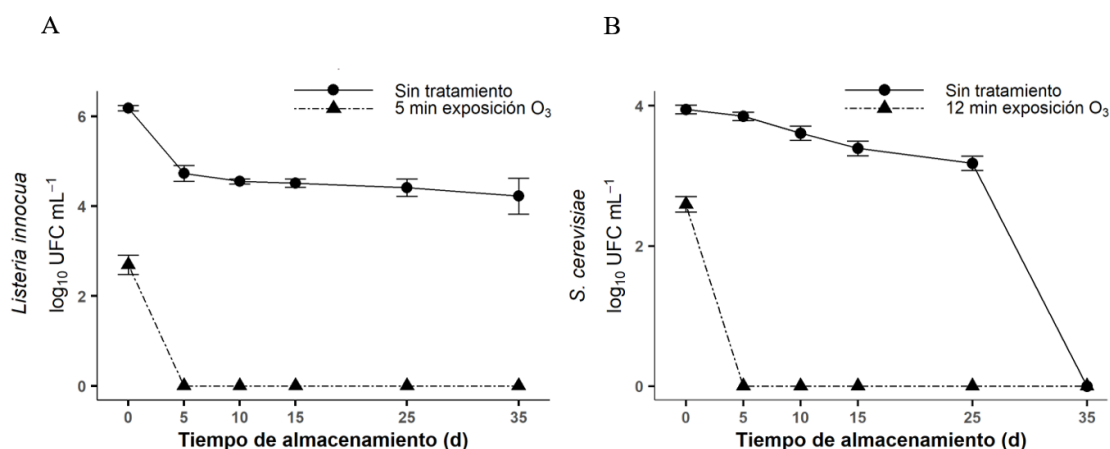


Figura 12. Población de *Listeria innocua* (A) y *S. cerevisiae* (B) en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 35 días.

La población de *L. innocua* del jugo sin tratamiento mantuvo un rango de 6.13 a 5.31 $\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ desde el día 0 hasta el día 35, mientras que el jugo tratado con 5 min de exposición de ozono presentó una población $2.85 \pm 0.13 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ el día 0 y a partir del día 5 al 35 no hubo detección de colonias de esta bacteria, lo que resalta que el tratamiento de 5 min de ozono mantuvo la reducción de más de 5 ciclos logarítmicos de *L. innocua* durante 35 d de almacenamiento refrigerado ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$).

4.4.3. Efecto del ozono sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante diferentes periodos de frigoconservación

Los jugos sin exposición de ozono mostraron población de mesófilos aerobios y hongos y levaduras durante los 35 d de almacenamiento refrigerado (**Figura 13**), siendo los 10 y 15 d que presentaron mayor crecimiento para estos microorganismos. En contraste, los jugos tratados con 5 min de ozono no presentaron detección (Nd) de colonias de mesófilos aerobios ni de levaduras y hongos durante el mismo periodo de almacenamiento (4.5 ± 0.5 °C). Los resultados anteriores contrastan con algunos jugos, como el de piña, al cual después de estar expuesto a 60 min de ozono ($200 \text{ mg h}^{-1}, \text{ L}^{-1}$) sólo logró reducir 2 ciclos logarítmicos de mesófilos aerobios, hongos y levaduras presentes en el jugo, sin embargo, la concentración de ozono es la que podría ser la más importante en la disminución de la carga microbiana natural en los jugos.

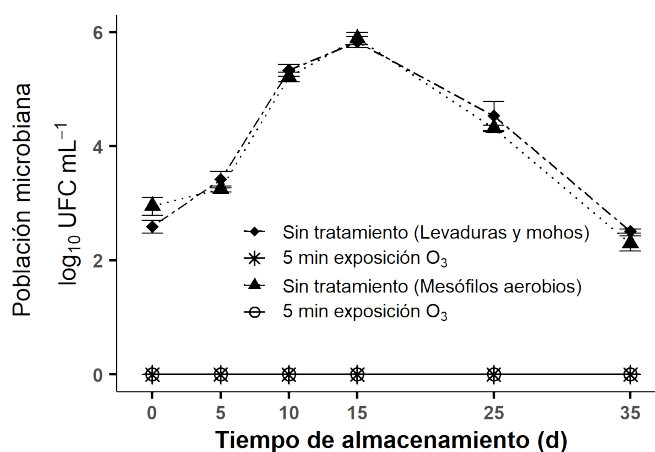


Figura 13. Microbiota nativa (mesófilos aerobios, hongos y levaduras) en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle con y sin tratamiento de ozono (5 min) almacenado en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) durante 35 días.

4.4.4. Efecto del ozono sobre las propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

La exposición de 5 y 12 min de ozono no presentó efectos significativos en el pH, el contenido de sólidos solubles totales y el porcentaje de acidez en el jugo de

tuna mezclado con jugo de xoconostle en comparación con el jugo sin tratamiento ($p \leq 0.05$) durante el almacenamiento refrigerado de 35 d (**Cuadro 2**). El jugo sin tratamiento presentó un descenso significativo de pH en los días 35 (pH 3.20) y un ligero incremento en el porcentaje de acidez a partir del día 25. Estos efectos coinciden con la mayoría de los resultados publicados sobre jugos tratados con ozono (Fundo et al., 2018b; Patil et al., 2009).

Cuadro 1. Propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle durante su almacenamiento en refrigeración (4.5 ± 0.5 °C) con y sin tratamiento de ozono (5 y 12 min).

Día	Sin tratamiento	5 min	12 min
pH			
0	4.27 ± 0.06 ab	4.27 ± 0.06 a	4.27 ± 0.06 a
5	4.33 ± 0.06 a	4.23 ± 0.06 a	4.23 ± 0.06 a
10	4.33 ± 0.06 a	4.23 ± 0.06 a	4.20 ± 0.00 a
15	4.13 ± 0.06 ab	4.23 ± 0.06 a	4.20 ± 0.00 a
25	4.10 ± 0.10 b	4.23 ± 0.06 a	4.20 ± 0.00 a
35	3.30 ± 0.10 c	4.20 ± 0.00 a	4.20 ± 0.00 a
Sólidos solubles totales (°Brix)			
0	11.27 ± 0.06 b	11.33 ± 0.06 a	11.37 ± 0.06 a
5	11.43 ± 0.06 a	11.47 ± 0.06 a	11.43 ± 0.06 a
10	11.33 ± 0.06 ab	11.40 ± 0.10 a	11.43 ± 0.15 a
15	11.37 ± 0.06 ab	11.47 ± 0.15 a	11.30 ± 0.10 a
25	11.43 ± 0.06 a	11.47 ± 0.06 a	11.30 ± 0.10 a
35	11.47 ± 0.06 a	11.53 ± 0.06 a	11.37 ± 0.15 a
Acidez (%)			
0	0.23 ± 0.00 d	0.23 ± 0.00 a	0.24 ± 0.00 a
5	0.23 ± 0.00 d	0.23 ± 0.01 a	0.25 ± 0.01 a
10	0.24 ± 0.00 cd	0.24 ± 0.01 a	0.24 ± 0.01 a
15	0.26 ± 0.00 c	0.24 ± 0.01 a	0.24 ± 0.00 a
25	0.33 ± 0.01 b	0.24 ± 0.00 a	0.24 ± 0.01 a
35	0.62 ± 0.02 a	0.24 ± 0.00 a	0.24 ± 0.00 a

Valores con media ± desviación estándar

Parámetros iniciales de la MJTX: pH 4.3 y °Brix 11.3

Flujo de inyección de ozono: $1.2 \text{ g O}_3 \text{ L}^{-1} \text{ min}^{-1}$

4.4.5. Efecto del ozono en los parámetros del color de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

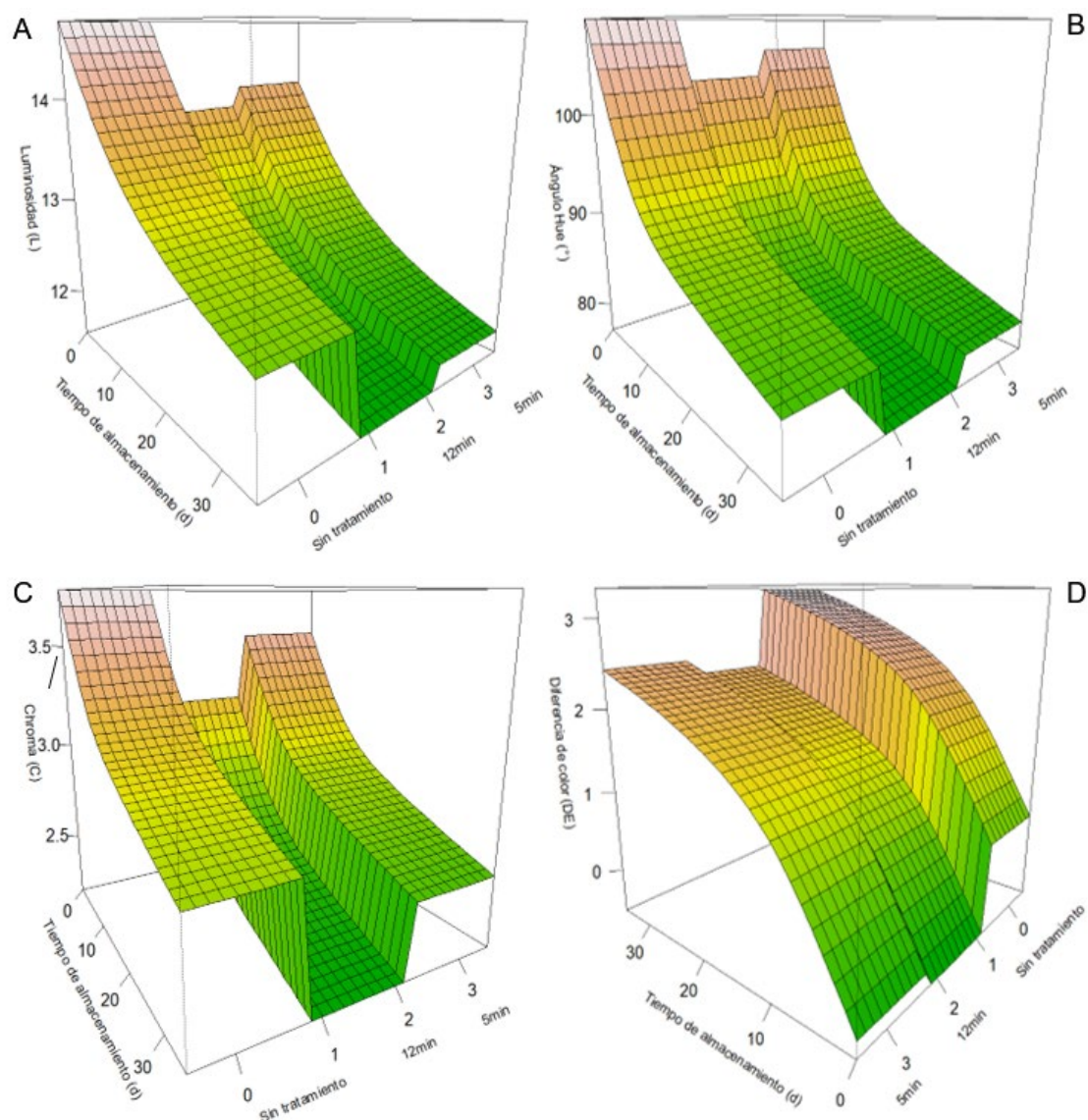


Figura 14. Cambios de los parámetros de color de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle durante su almacenamiento en refrigeración (4.5 ± 0.5 °C) con y sin tratamiento de ozono(5 y 12 min). A) Luminosidad, B) Ángulo Hue, C) Croma y D) Diferencia de color (ΔE).

La luminosidad (**Figura 14A**) muestra que la MJTX sin tratamiento pierde más brillo durante los 35 d de almacenamiento, mientras que con la exposición de 5 min de ozono la caída es menos drástica y con 12 min resulta mayor.

El ángulo Hue (**Figura 14B**) muestra que el tono inicial se encuentra en el cuadrante de los colores verdes y al terminar el almacenamiento el color se desplazó hacia el cuadrante de los colores amarillo, en 5 min y 12 min de

exposición de ozono a la MJTX ocurre el mismo desplazamiento, lo que evidencia que la MJTX presenta un amarillamiento a través del tiempo de almacenamiento y por el efecto del ozono, aunque en menor medida con la exposición de 5 min.

Croma (**Figura 14C**) disminuyó rápidamente con la exposición de 12 min de ozono en comparación con la MJTX sin tratamiento. La diferencia de color (ΔE) muestra que la MJTX sin tratamiento alcanza ΔE 3.5 unidades al día 35, mientras que en 5 min y 12 min se limita a 2.0 y 2.2, respectivamente (**Figura 14D**). Los principales cambios de color fueron entre los 10 y 15 d. Estos resultados sugieren que una exposición de ozono de 5 min mantiene la estabilidad cromática del jugo durante 10 a 15 d de refrigeración, reduciendo la decoloración y los desplazamientos de tonos perceptibles en comparación de la exposición de 12 min de ozono, sin embargo, es notable que en ambos tiempos de exposición de ozono afecta los parámetros de color en comparación con la MJTX sin tratamiento.

Comparaciones de curvas, Tukey y Kruskal-Wallis de los parámetros de color

El ajuste de modelos aditivos generalizados evidenció una influencia significativa de la exposición del ozono en el efecto de los parámetros de color de la MJTX durante 35 d de almacenamiento refrigerado. Los valores de L^* , C^* , H° y ΔE registraron $p < 0.001$ al comparar las trayectorias de las curvas de los tratamientos (5 y 12 min de exposición de ozono a la MJTX) con las curvas de la MJTX sin tratar (testigo) (**Figura 15**), se confirmó diferencia para L^* ($p \approx 0.005$) y ΔE ($p \approx 0.024$); C^* mostró una tendencia ($p \approx 0.077$) y H° ($p \approx 0.267$) aunque resultó menos robusto. La MJTX sin tratar redujo L^* desde aproximadamente 15 U hasta 12 U, mientras que 5 min de exposición finalizó en 12.4 U y 12 min en 11.8 U.

El C^* inició en 2.85 y concluyó en 2.45 tras 12 min, con el valor intermedio para 5 min, lo que sugiere que la reducción de este valor depende del tiempo de exposición del ozono a LA MJTX. El ángulo de tono partió de 110° ; sólo 12 min

provocó un descenso significativo hasta 84°, mientras que el testigo y la exposición corta convergieron cerca de 105°. La diferencia de color acumuló $\Delta E \approx 2.2$ en el testigo, se limitó a 1.5 con 5 min y alcanzó 1.2 con 12 min.

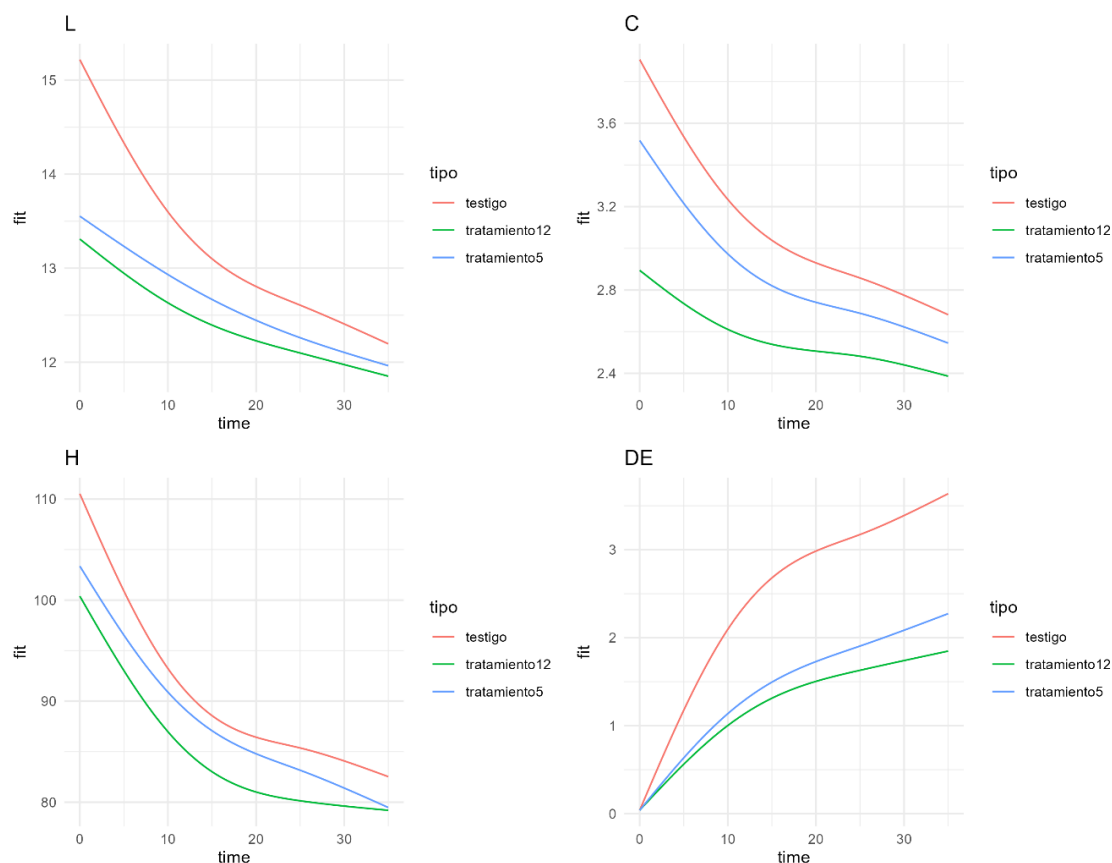


Figura 15. Curvas GAM de parámetros de color para la MJTX tratada con 5 y 12 min de exposición de ozono y sin tratar almacenados durante 35 d de frigoconservación.

El resultado de la comparación de Kruskal–Wallis confirmó diferencias para L^* , C^* y ΔE ($p < 0.001$); H° resultó marginal ($p = 0.059$). Las comparaciones de Tukey mostraron que la MJTX sin tratar se clasificó con la letra “a” y situaron a ambos tiempos de exposición de ozono de 5 y 12 min con la letra “b” para L^* y ΔE , lo que reflejó una pérdida de luminosidad y un incremento del cambio de color por la exposición del ozono al jugo.

En C^* se distinguieron tres grupos (“a” testigo, “b” 5 min, “c” 12 min), mientras que el ángulo de tono(H°) diferenció al tratamiento de 12 min (“b”) frente a la MJTX sin tratar; la exposición de 5 min quedó sin diferencia estadística (“ab”). El

ozono redujo la luminosidad y la cromaticidad e incrementó ΔE con intensidad proporcional al tiempo de exposición del ozono a la MJTX.

Los *boxplots* (Figura 16) ilustran el efecto de 5 min y 12 min de exposición a ozono sobre los parámetros de color de la mezcla tuna-xoconostle. Las letras identifican comparaciones significativas entre la MJTX sin tratar, 5 min y 12 min de exposición de ozono (Tukey HSD, $\alpha = 0.05$).

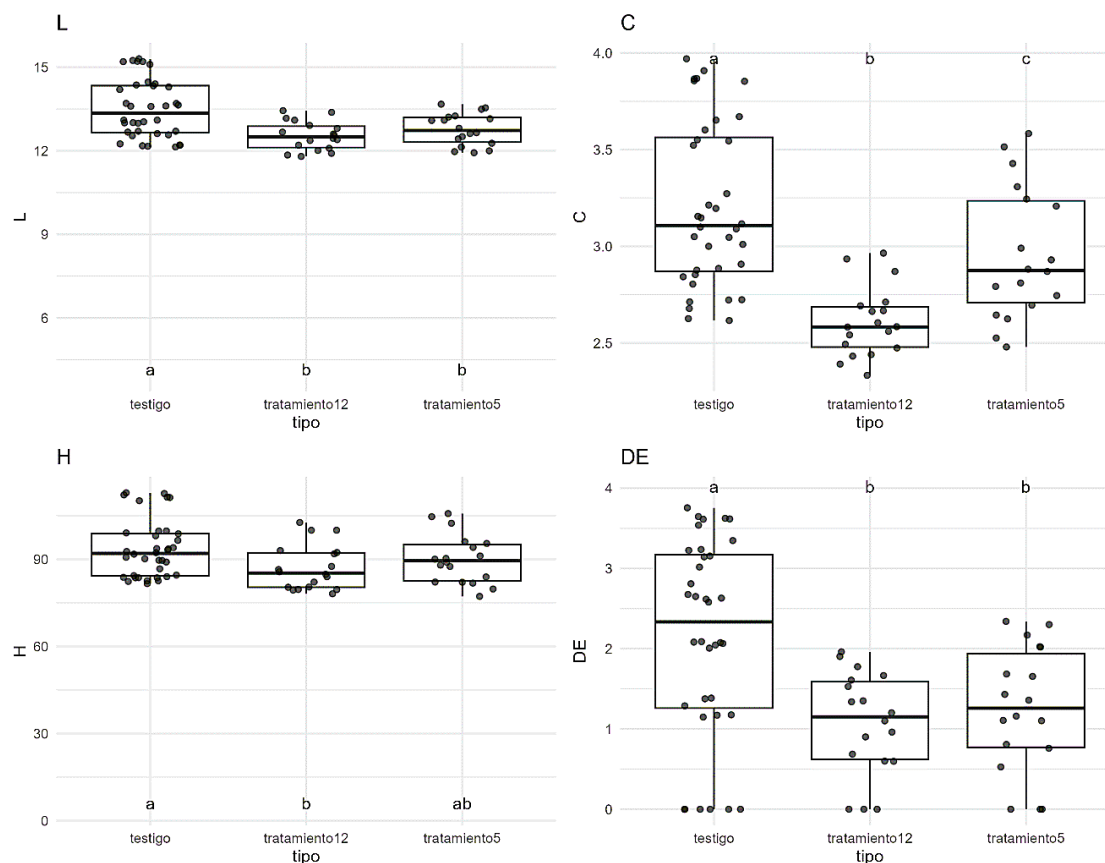


Figura 16. *Boxplots* de L^* , C , H° y ΔE con letras de Tukey para la MJTZ tratada con 5 y 12 min de exposición de ozono y sin tratar (testigo).

4.4.6. Efecto del ozono en los compuestos nutraceuticos de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación

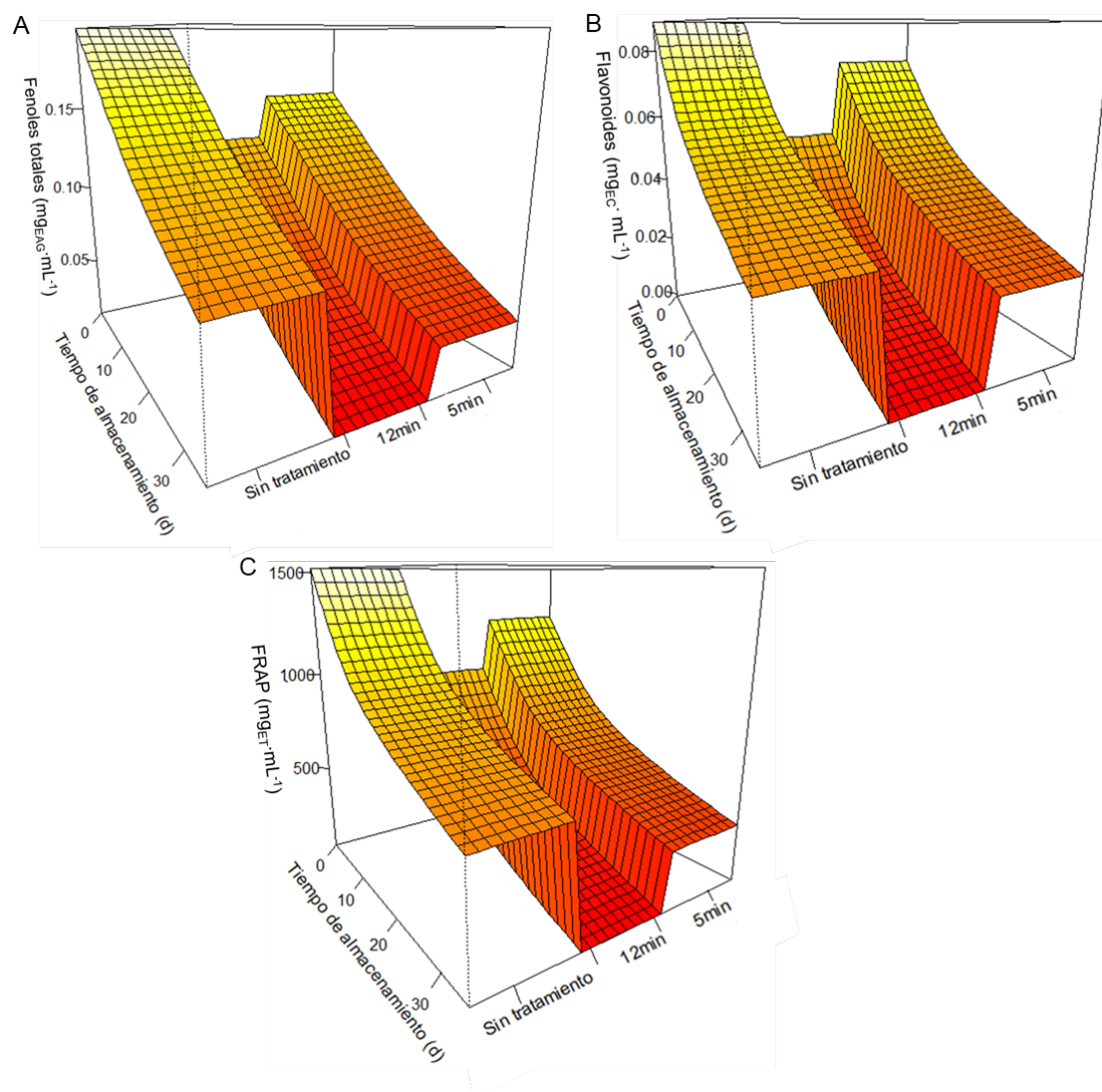


Figura 17. Efecto de 5 y 12 min de exposición de ozono y tiempo de almacenamiento en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) sobre compuestos nutracéuticos en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle.

La MJTX sin exposición de ozono es la etiqueta: sin tratamiento. Compuestos nutracéuticos: A) Compuestos fenólicos totales ($\text{mgEAG} \cdot \text{mL}^{-1}$) y B) Flavonoides ($\text{mgEC} \cdot \text{mL}^{-1}$). Actividad antioxidante (AA, $\mu\text{molET} \cdot \text{mL}^{-1}$) determinada por A) FRAP.

4.5. Conclusiones

La exposición de 5 y 12 min de ozono es eficaz para mantener la inocuidad microbiológica de la MJTX durante 35 d de almacenamiento refrigerado a 4.5 ± 0.5 °C. Ambos tratamientos lograron reducir significativamente las poblaciones de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* y evitaron el crecimiento de mesófilos aerobios, hongos y levaduras. Además, 5 y 12 min no cambia significativamente el pH, sólidos solubles totales y porcentaje de acidez durante 25 d. de almacenamiento. Sin embargo, el efecto oxidante del ozono afectó considerablemente el color del jugo, disminuyó el tono y el ΔE durante los 35 d de almacenamiento. A pesar de su efectividad microbiológica, los tiempos de exposición de ozono (5 y 12 min) dañaron el color y los compuestos nutraceuticos. Por lo tanto, el ozono es una opción viable para extender la vida útil de la MJTX desde un aspecto microbiológico, sin embargo, su aplicación debe ajustarse para minimizar los efectos negativos en el color y las compuestos nutraceuticos.

4.6. Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca doctoral (738112) otorgada a la autora Montecinos-Pedro, a la Universidad Autónoma Chapingo (Proyecto convencional 21297-C-62 2020) por el apoyo otorgado para la realización de esta investigación.

4.7. Literatura citada

- AOAC. (2005). Official Methods of Analitics of the AOAC (AOAC International, Ed.; 18th ed.). Association of Offical Analytical Chemistry.
- Asokapandian, S., Periasamy, S., & Swamy, G. J. (2018b). Ozone for Fruit Juice Preservation. *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, 511–527. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00025-4>
- Bahrami, A., Moaddabdoost Baboli, Z., Schimmel, K., Jafari, S. M., & Williams, L. (2020). Efficiency of novel processing technologies for the control of *Listeria monocytogenes* in food products. *Trends in Food Science & Technology*, 96, 61–78. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2019.12.009>
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Borchani, M., Masmoudi, M., Ben Amira, A., Abbès, F., Yaich, H., Besbes, S., Blecker, C., Garvin, A., Ibarz, A., & Attia, H. (2019). Effect of enzymatic treatment and concentration method on chemical, rheological, microstructure and thermal properties of prickly pear syrup. *LWT*, 113, 108314. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108314>
- Choi, M. R., Liu, Q., Lee, S. Y., Jin, J. H., Ryu, S., & Kang, D. H. (2012). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in apple juice with gaseous ozone. *Food Microbiology*, 32(1), 191–195. <https://doi.org/10.1016/J.FM.2012.03.002>
- Chougui, N., Louaileche, H., Mohedeb, S., Mouloudj, Y., Hammoui, Y., & Tamendjari, A. (2013). Physico-chemical characterisation and antioxidant activity of some *Opuntia ficus-indica* varieties grown in North Algeria. *Afr. J. Biotechnol.*, 12(3), 299–307.
- Corrales-García, J. J. E. (2009). Industrialization of cactus pads and fruit in Mexico: challenges and perspectives. *Acta Horticulturae*, 811 VI International Congress on Cactus Pear and Cochineal, 103–112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.811.10>
- Corrales-García, J. J. E., y Flores-Valdez, C. A. (2003). Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización. (Flores Valdez C. A., Ed.; 1era.). Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM-Programa Nopal. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/5ca298ca-9c49-4995-a51e-b41950a5676f>
- Costa, A., Lourenco, A., Civera, T., & Brito, L. (2018). *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* strains from dairy plants behave similarly in biofilm sanitizer testing. *LWT*, 92, 477–483. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.073>

- Cota-Sánchez, J. H. (2016b). Nutritional Composition of the Prickly Pear (*Opuntia ficus-indica*) Fruit. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*, 691–712. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408117-8.00028-3>
- Cruz-Bravo, R. K., Guzmán-Maldonado, S. H., Araiza-Herrera, H. A., & Zegbe, J. A. (2019). Storage alters physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant capacity of cactus pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 150(August 2018), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.01.001>
- Cullen, P. J., Tiwari, B. K., & Valdramidis, V. P. (2012). Status and Trends of Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381470-8.00001-3>
- Cullen, P. J., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Patil, S., Bourke, P., & O'Donnell, C. P. (2010). Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science & Engineering*, 32(3), 166–179. <https://doi.org/10.1080/01919511003785361>
- Cullen P.J., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Patil, S., Bourke, P., & O'Donnell, C. P. (2010). Ozone Processing for Food Preservation: An Overview on Fruit Juice Treatments. *Ozone: Science & Engineering*, 32(3), 166–179. <https://doi.org/10.1080/01919511003785361>
- FDA. (2001). Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP); Procedures for the Safe and Sanitary Processing and Importing of Juices. 66, 6137–6202.
- FDA. (2004). Guidance for Industry: Recommendations to Processors of Apple Juice or Cider on the Use of Ozone for Pathogen Reduction Purposes. Food and Drug Administration, FDA-2004-D-0531. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-recommendations-processors-apple-juice-or-cider-use-ozone-pathogen-reduction>
- Fundo, J. F., Miller, F. A., Tremarin, A., Garcia, E., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2018). Quality assessment of Cantaloupe melon juice under ozone processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47(April), 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.016>
- Garcia Loredó, A. B., Guerrero, S. N., & Alzamora, S. M. (2015). Inactivation kinetics and growth dynamics during cold storage of *Escherichia coli* ATCC 11229, *Listeria innocua* ATCC 33090 and *Saccharomyces cerevisiae* KE162 in peach juice using aqueous ozone. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 271–279. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.02.007>
- García-Mateos, R., Quiroz-González, B., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, M. C., & Leyva-Ruelas, G. (2019). Ozone-high hydrostatic pressure synergy for the stabilization of refrigerated pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 56(June), 102187. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102187>

- Gómez-Maqueo, A., Welte-Chanes, J., & Cano, M. P. (2020). Release mechanisms of bioactive compounds in fruits submitted to high hydrostatic pressure: A dynamic microstructural analysis based on prickly pear cells. *Food Research International*, 130, 108909. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108909>
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Hernández-Eugenio, G., Villa-García, M., ReyesTrejo, B., & Guerra-Ramírez, D. (2017). Influence of Polar Solutions on the Extraction of Phenolic Compounds from Capulín Fruits (*Prunus serotina*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 60(2). <https://doi.org/10.29356/jmcs.v60i2.76>
- Iqbal, A., Nadeem, M., Ainee, A., Qureshi, T. M., Khalid, W., Malik, F., Rehman, S.-U., Rehman, A., Khalid, M. Z., Ahmad, N., Nawaz, A., & Ahmed, I. A. M. (2023). Quality evaluation of ozone-processed Kinnow (*Citrus reticulata* Blanco) juice at ambient temperature. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 2420–2432. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2249266>
- Jaén-Contreras, D., Arévalo-Galarza, Ma. de L., Ramírez-Guzman, M. E., Cadena-Iñiguez, J., & Hernández-Vázquez, M. V. (2022). Quality of floral stems of *lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* Raf.) inoculated with *Bacillus subtilis* and *Glomus intraradices*. *Ornamental Horticulture*, 28(4), 414–422. <https://doi.org/10.1590/2447-536x.v28i4.2498>
- Kaavya, R., Pandiselvam, R., Abdullah, S., Sruthi, N. U., Jayanath, Y., Ashokkumar, C., Chandra Khanashyam, A., Kothakota, A., & Ramesh, S. V. (2021). Emerging non-thermal technologies for decontamination of *Salmonella* in food. *Trends in Food Science & Technology*, 112, 400–418. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.04.011>
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>
- Ledea-Lozano, O. E., Fernández-García, L. A., Gil-Ibarra, D., Tena, N., Garcés, R., Martínez-Force, E., & Salas, J. J. (2019). Characterization of different ozonized sunflower oils I. Chemical changes during ozonization. *Grasas y Aceites*, 70(4 SE-Research), e329. <https://doi.org/10.3989/gya.1166182>
- Leyva-Daniel, D. E., Escobedo-Avellaneda, Z., Villalobos-Castillejos, F., Alamilla-Beltrán, L., & Welte-Chanes, J. (2017). Effect of high hydrostatic pressure applied to a Mexican honey to increase its microbiological and functional quality. *Food and Bioprocess Processing*, 102, 299–306. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2017.01.001>
- Marque, S. R. A., & Santelli, M. (2018). Ozone, chemical reactivity and biological functions. *Tetrahedron*, 74, 6221–6261. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2018.09.023>

- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
- Öztekin, S. (2019). Application of ozone as a postharvest treatment. In M. W. S. Kalyan Barman, Swati Sharma (Ed.), *Emerging postharvest treatment of fruits and vegetables*. (p. 413). Apple Academic Press Inc. & CRC Press.
- Pandiselvam, R. Subhashini, S., Banuu, E. P. Kothakota, P. A., Ramesh, S. V., & Shahir, S. (2019). Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering*, 41(1), 17–34. <https://doi.org/10.1080/01919512.2018.1490636>
- Patil, S., Bourke, P., Frias, J. M., Tiwari, B. K., & Cullen, P. J. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* in orange juice using ozone. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), 551–557. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.05.011>
- Patil, S., Valdramidis, V. P., Cullen, P. J., Frias, J. M., & Bourke, P. (2010). Ozone inactivation of acid stressed *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* in orange juice using a bubble column. *Food Control*, 21(12 SUPPL.), 1723–1730. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.031>
- Quiroz-González, B., Rodríguez-Martínez, V., García-Mateos, M. del R., Torres, J. A., & Welti-Chanes, J. (2018). High hydrostatic pressure inactivation and recovery study of *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 169–173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.003>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Roobab, U., Aadil, R. M., Madni, G. M., & Bekhit, A. E. D. (2018). The Impact of Nonthermal Technologies on the Microbiological Quality of Juices: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 437–457. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12336>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2023). Arranca temporada de tuna con abasto garantizado y crecimiento en valor de producción. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/arranca-temporada-de-tuna-con-abasto-garantizado-y-crecimiento-en-valor-de-produccion?idiom=es>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sroy, S., Fundo, J. F., Miller, F. A., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2019). Impact of ozone processing on microbiological, physicochemical, and bioactive characteristics of refrigerated stored Cantaloupe melon juice.

Journal of Food Processing and Preservation, 43(12), e14276.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.14276>

- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C., Bunch, R., & Felker, P. (2005). Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 442–451.
<https://doi.org/10.1021/jf048751y>
- Supian, N. A. M., Shah, N. N. A. K., Shamsudin, R., & Sulaiman, A. (2022). Inactivation kinetics of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium NCTC 12023 in Chokanan mango (*Mangifera indica* L.) fruit juice by aqueous ozone treatment. *Food Research*, 6(2), 231–240.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.6\(2\).204](https://doi.org/10.26656/fr.2017.6(2).204)
- Torres, B., Tiwari, B. K., Patras, A., Wijngaard, H. H., Brunton, N., Cullen, P. J., & O'Donnell, C. P. (2011). Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. *Food Chemistry*, 124(3), 721–726. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.06.050>

5. EFECTO SINÉRGICO DE OZONO-ALTA PRESIÓN HIDROSTÁTICA EN JUGO DE TUNA MEZCLADO CON JUGO DE XOCONOSTLE

5.1. Resumen

La pasteurización térmica inactiva patógenos y enzimas de deterioro, pero degrada compuestos nutraceuticos; por ello, métodos no térmicos como altas presiones hidrostáticas (HHP) y ozonización han cobrado interés para preservar calidad. Este estudio evaluó el efecto sinérgico de ozono y HHP en jugo de tuna dulce mezclado con jugo de xoconostle (9:1; pH 4.3; 11.3 °Brix), analizando inocuidad microbiológica, propiedades fisicoquímicas y nutraceuticas. Para ello, la mezcla (MJTX) se inoculó con *Listeria innocua* y se expuso a 1 min de ozono ($1.2 \text{ g O}_3 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) seguido de 230 MPa/5 min de HHP, combinación seleccionada tras identificar presiones capaces de inactivar $\geq 5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$. Las muestras selladas se refrigeraron a $4.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y se evaluaron en días 0, 15, 35 y 45, midiendo pH, sólidos solubles totales, acidez titulable, parámetros de color (L^* , Hue, Croma, ΔE), fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante (FRAP). La combinación inactivó completamente *L. innocua* desde el día 0 sin recuperación, manteniendo la microbiota nativa (mesófilos, levaduras y mohos) sin reducciones significativas. No se observaron variaciones relevantes en pH, °Brix ni acidez ($p > 0.05$), aunque se registraron alteraciones moderadas en color y disminuciones significativas en fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante respecto al jugo sin tratar. La eficacia podría variar según el generador de ozono. La combinación ozono+HHP garantiza inocuidad microbiológica y conserva las propiedades fisicoquímicas de la MJTX durante 45 días de refrigeración, aunque reduce sus compuestos nutraceuticos.

Palabras clave: ozono, jugo, tuna, xoconostle, compuestos nutraceuticos.

SYNERGISTIC EFFECT OF OZONE AND HIGH HYDROSTATIC PRESSURE ON PRICKLY PEAR JUICE MIXED WITH XOCONOSTLE JUICE

Abstract

Thermal pasteurization inactivates pathogens and spoilage enzymes but degrades nutraceutical compounds; therefore, non-thermal methods such as high hydrostatic pressure (HHP) and ozonation have gained interest to preserve quality. This study evaluated the synergistic effect of ozone and HHP on sweet prickly pear juice mixed with xoconostle juice (9:1; pH 4.3; 11.3 °Brix), analyzing microbiological safety, physicochemical properties, and nutraceutical potential. The mixture (MJTX) was inoculated with *Listeria innocua* and exposed to 1 min of ozone ($1.2 \text{ g O}_3 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) followed by 230 MPa/5 min of HHP, the combination selected after identifying pressures capable of inactivating $\geq 5 \text{ Log}_{10} \text{ CFU mL}^{-1}$. Sealed samples were refrigerated at $4.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ and evaluated on days 0, 15, 35 and 45, measuring pH, total soluble solids, titratable acidity, color parameters (L^* , Hue, Croma, ΔE), total phenols, flavonoids, and antioxidant activity (FRAP). The treatment eliminated *L. innocua* from day 0 with no recovery, while native microbiota (mesophiles, yeasts, and molds) remained unaffected. No significant changes in pH, °Brix or acidity were observed ($p > 0.05$), although moderate alterations in color and significant decreases in phenols, flavonoids and antioxidant capacity occurred compared to untreated juice. Efficacy may vary depending on the ozone generator. The combination ozone+HHP ensures microbiological safety and preserves the physicochemical properties of MJTX for 45 days under refrigeration, although it reduces its nutraceutical compounds.

Keywords: ozone, juice, prickly pear, xoconostle, nutraceutical compounds.

5.2. Introducción

La pasteurización representa el método térmico predominante para la conservación de los alimentos y prolongar su vida útil, debido a que inactiva microorganismos patógenos y enzimas de deterioro, sin embargo, provoca la degradación de compuestos nutraceuticos y atributos sensoriales (Asokapandian, Periasamy, & Swamy, 2018). Frente a esta limitación, los consumidores muestran preferencia por procedimientos que conserven el perfil nutricional y sensorial de los productos procesados (Rawson et al., 2011; Vieira et al., 2018a).

En este contexto, los métodos de conservación no térmicos, como las altas presiones hidrostáticas (HHP) y la ozonización, han emergido como alternativas viables al procesamiento térmico tradicional (Rawson et al., 2011; Picart-Palmade et al., 2019). Estas tecnologías operan a temperatura ambiente o ligeramente elevada, permitiendo la inactivación microbiana sin inducir reacciones de oxidación por calor ni la pérdida significativa de compuestos bioactivos (Gómez-Maqueo et al., 2020). Asimismo, su aplicación redunda en una menor huella energética y en una percepción de “naturalidad” por parte del consumidor (Devia et al., 2021).

La aplicación de HHP ha demostrado inactivar microorganismos hasta 5 log UFC, al tiempo que preserva compuestos como vitamina C, polifenoles y betalaínas, así como atributos sensoriales comparables al producto fresco (Alves-Filho et al., 2018; Pérez-Andrés et al., 2018).

Por su parte, la ozonización inactiva enzimas y patógenos mediante oxidación selectiva, aunque su efectividad depende de parámetros de exposición, ya que tiempos prolongados pueden degradar compuestos bioactivos (Fundo et al., 2018; Sroy et al., 2019). Ambas técnicas evitan temperaturas extremas, reduciendo así la degradación de moléculas termolábiles responsables de color, aroma y sabor (Corrales-García, 2009).

En el caso de jugos, la HHP extiende la vida útil microbiológica sin comprometer la textura ni la estabilidad de pigmentos (Quiroz-González et al., 2018), mientras que la ozonización muestra capacidad para eliminar levaduras y bacterias con escaso impacto en pH y sólidos solubles (Jaramillo-Sánchez, García-Loredo, & Alzamora, 2018). Sin embargo, la exposición de largos periodos de exposición resulta costoso en HHP (Barbosa-Cánovas et al., 2020; Bermúdez-Aguirre & Barbosa-Cánovas, 2011) y, en el caso del ozono, puede reducir la calidad (Asokapandian et al., 2018; García-Mateos et al., 2019), por ello se propone la combinación de ozono y HHP.

Se reportó de efectos sinérgicos al combinar ozono y HHP en jugos de pitahaya se logró estabilización microbiológica durante 60 d en refrigeración (García-Mateos et al., 2019). Estrategias similares en jugos de açaí y mango que combinan ozono, ultrasonido y radiación UV han evidenciado reducciones microbianas superiores a las alcanzadas por métodos individuales (Oliveira et al., 2018; Wang et al., 2020). Picart-Palmade et al. (2019) señalan que la sinergia de métodos no térmicos optimiza la conservación de nutrientes y atributos sensoriales, al tiempo que minimiza el consumo energético.

Los frutos de cactáceas, como la tuna dulce (*Opuntia ficus-indica*) y el xoconostle (*Opuntia joconostle*) de sabor ácido, se caracterizan por su diversidad de pigmentos antioxidantes, principalmente betalaínas, y por su adaptabilidad a climas áridos (Stintzing et al., 2005; Ramírez-Rodríguez et al., 2020). México se reconoce como centro de origen y diversidad genética de *Opuntia*. Estos frutos aportan compuestos bioactivos, energía de rápida asimilación y potencial nutracéutico, lo cual los posiciona como materia prima valiosa en la industria de bebidas y conservas (Albano et al., 2015; Corrales-García, 2009).

Pese a la relevancia económica y cultural de la tuna, su naturaleza altamente perecedera restringe la oferta de derivados estables durante todo el año (Corrales-García & Flores-Valdez, 2000). La industria afronta el desafío de conservar los atributos sensoriales y nutricionales frente a los tratamientos térmicos convencionales (Borchani et al., 2019).

El consumo de la fruta ocurre primordialmente en estado fresco porque su elevado contenido de agua y azúcares, junto con la baja acidez, favorece la fermentación y el deterioro microbiológico, además, los procesos térmicos como la pasteurización provocan la degradación de betalainas, compuestos fenólicos y vitamina C, alteración que afecta color, aroma y valor nutritivo (Cruz-Bravo et al., 2019). Esta sensibilidad al calor ha limitado la comercialización de jugo de tuna industrializado a pesar de su relevante potencial funcional y organoléptico (Corrales-García, 2009).

Por ello, la evaluación de la combinación de HHP y ozono en jugo de tuna con xoconostle ofrece una solución prometedora al balancear eficiencia microbiana, preservación nutricional y viabilidad económica. Por lo anterior el primer objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de diferentes tiempos de ozono sobre las poblaciones de *Listeria innocua* en jugo de tuna mezclado con jugo de xoconostle, y en segundo lugar evaluar el efecto del ozono sobre la microbiota nativa y las propiedades fisicoquímicas y nutraceuticas en jugo de tuna mezclado con xoconostle. Además, se realizaron pruebas sensoriales para evaluar la preferencia de la MJTX tratada con la combinación de 1 min de ozono y 230 MPa durante 5 min de HHP y sin tratar.

5.3. Materiales y Métodos

5.3.1. Preparación del jugo

Se recolectaron frutos de *Opuntia* spp (tuna) y *Opuntia joconostle* (xoconostle), provenientes de los municipios de San Martín de las Pirámides y Otumba (Estado de México, México), respectivamente. Los ejemplares fueron seleccionados bajo criterios estandarizados: madurez fisiológica (etapa climática), uniformidad morfológica e integridad tisular (libres de lesiones mecánicas o microbiológicas). Previo al procesamiento, se aplicó un protocolo de desinfección mediante inmersión en solución de hipoclorito de sodio al 0.1% (v/v) por 5 min, seguido de triple enjuague con agua destilada estéril.

La preparación de los jugos implicó etapas diferenciadas. Para la tuna, se realizó un desprendimiento manual del exocarpio, mientras que en el xoconostle se ejecutó una escisión quirúrgica del epicarpio y remoción de

semillas del funículo, empleando instrumental estéril bajo condiciones asépticas. La extracción del jugo se efectuó mediante un extractor mecánico comercial (Hamilton Beach, modelo 67601, EE. UU.), operando a 1,200 rpm. Los parámetros fisicoquímicos se cuantificaron en duplicado: el jugo de tuna mostró pH 6.5 ± 0.1 y sólidos solubles de 12.5 ± 0.3 °Brix, mientras que el xoconostle registró pH 3.0 ± 0.2 y 5.1 ± 0.2 °Brix, utilizando un potenciómetro calibrado y un refractómetro digital (ABBE Atago, Japón).

Posterior a la extracción, ambos jugos se sometieron a refrigeración (2 ± 1 °C, 30 min) y desespumado por centrifugación ($3,000 \times g$, 10 min). La formulación final se obtuvo al combinar proporciones volumétricas de 9:1 (tuna:xoconostle), resultando en una mezcla con pH 4.3 ± 0.1 y 11.3 ± 0.2 °Brix. La mezcla homogénea (MJTX) se envasó al vacío en recipientes de vidrio ámbar esterilizados (450 mL) y se preservó a -20 °C en oscuridad hasta su análisis posterior, garantizando la estabilidad fisicoquímica durante el almacenamiento.

5.3.2. Reactivos

Los reactivos químicos y medios de cultivo se adquirieron de proveedores certificados bajo estándares internacionales. Los medios de crecimiento microbiano como el agar dextrosa papa (ADP), agar de soya tripticaseína (AST), caldo de soya tripticaseína (CST) y agar para métodos estándar (AME), fueron suministrados por BD Bioxon (Estado de México, México). Los compuestos inorgánicos, incluyendo hidróxido de sodio (NaOH, grados analíticos), se obtuvieron de J.T. Baker (Madrid, España). Los reactivos especializados para análisis bioquímicos y antioxidantes como el agua peptonada bufferada (APB), kanamicina (sal de disulfato de *Streptomyces kanamyceticus*), reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico (AG), carbonato de sodio anhidro (Na_2CO_3), Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina), ácido acético glacial ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$), acetato de sodio trihidratado ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), HCl concentrado (37 %), cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), catequina (C), nitrito de sodio (NaNO_2), cloruro de aluminio hexahidratado ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), acetato de potasio y persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) se comercializaron por

Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, EE. UU.), garantizando purezas $\geq 99\%$ mediante certificados de análisis.

Se utilizó agua destilada (AD) comercial para la preparación de los reactivos y medios de cultivo y el hipoclorito de sodio (Cloralex®, 6 %) el cual se compró en un supermercado local (Estado de México, México).

5.3.3. Material biológico

Con el fin de evaluar la acción biocida del ozono en la MJTX, se utilizó la cepa *Listeria innocua* ATCC 33090 proveniente del Cepario de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de México (Coyoacán, Ciudad de México, México). Dicha cepa fue adaptada para presentar resistencia a kanamicina ($50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), con el propósito de evitar la contaminación por microorganismos no deseados.

5.3.4. Preparación del inóculo

La cepa de *Listeria innocua* se cultivó en 60 mL de caldo estéril de tripticasa soya (CST). La incubación se llevó a cabo en un estante Binder (No. 14-06843, Tuttlingen, Alemania) sin agitación, a 37°C , hasta alcanzar la fase exponencial tras aproximadamente 10 h. A continuación, la suspensión celular se centrifugó en un equipo Sorvall ST 8 (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE. UU.) a $4,500 \times g$ durante 5 min. El sedimento obtenido se lavó dos veces con amortiguador fosfato salino (ABP) al 0.01 % y finalmente se volvió a suspender en 50 mL de agua destilada estéril (AD) a $20 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.3.5. Inoculación y aplicación del ozono y las altas presiones hidrostáticas a la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle

La mezcla MJTX (100 mL) se inoculó con *Listeria innocua* ($7.15 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) y se homogeneizó por 10 s en vortex. A continuación, se tomaron 1 mL de esta suspensión y se inoculó en frascos de vidrio estériles que contenían 100 mL de MJTX (unidad experimental), incubándose durante 4 h a $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ para favorecer la adaptación bacteriana antes del tratamiento combinado de ozono+HHP. Posteriormente, se introdujo una manguera de silicón quirúrgico con difusor cerámico en cada frasco y se dosificó el ozono mediante un generador semiindustrial (Biozon PTA Mini; temporizador analógico 0–30

min; Estado de México, México) a un flujo constante de $1.2 \text{ g O}_3 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, ajustando el tiempo de exposición según el protocolo. Luego, el contenido ozonizado de cada unidad se transfirió a bolsas de polietileno (FoodSaver® Heat-Seal Bag, Boca Raton, FL) y se selló al vacío con una selladora FoodSaver® Modelo V3880.

Las bolsas selladas se colocaron en una cámara de acero inoxidable de 1 L con agua a 20°C como medio transmisor de presión y se sometieron a alta presión hidrostática (Elmhurst Systems, LLC, South Albany, NY). El estudio constó de tres experimentos independientes.

5.3.6. Efecto de la combinación de diferentes tiempos de exposición de ozono y presiones hidrostáticas en la población de *L. innocua* inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle

En el primer experimento se combinaron distintos tiempos de ozonización con niveles de presión hidrostática para la MJTX (100 mL) inoculada con *Listeria innocua*, con el fin de lograr una reducción $\geq 5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$. Se probaron dos protocolos: 1 min de ozono seguido de 230 MPa de HHP durante 5 min, y 1 min de ozono seguido de 206 MPa de HHP durante 5 min. Como testigo se utilizó la MJTX inoculada sin tratamiento (0 min de ozono + 0 MPa/0 min de HHP). La variable de respuesta se expresó en $\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$, y cada condición (tratamientos y testigo) se replicó por triplicado en bolsas de 100 mL de MJTX.

5.3.7. Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la población de *L. innocua* inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada durante diferentes periodos de frigoconservación

En el segundo experimento se evaluó el impacto del protocolo de 1 min de ozono seguido de 230 MPa de HHP durante 5 min sobre MJTX inoculada con *Listeria innocua* (expresada en $\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$). Tras el tratamiento, las bolsas conteniendo MJTX se almacenaron a $4.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ durante 45 días. La viabilidad de *L. innocua* se monitoreó a 0, 15, 35 y 45 d con el fin de detectar cualquier proliferación microbiana. Este tratamiento se comparó contra un control consistente en MJTX inoculada sin someter a ozono ni HHP.

La variable respuesta se cuantificó como Log_{10} UFC mL^{-1} , analizando en cada punto de muestreo tres réplicas por condición (tratamiento y control).

5.3.8. Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado durante diferentes periodos de frigoconservación

En el tercer experimento se examinó el impacto del protocolo de 1 min de ozono seguido de 230 MPa de HHP durante 5 min sobre la microbiota nativa de la MJTX, sin inoculación previa.

Las muestras tratadas y el testigo (MJTX sin tratamiento) se conservaron a 4.5 ± 0.5 °C durante 45 días. La población de microorganismos nativos (mesófilos aerobios, levaduras y mohos) se cuantificó en los días 0, 15, 35 y 45, expresándose los resultados en Log_{10} UFC mL^{-1} , con tres réplicas por condición en cada punto de muestreo.

Paralelamente, esas mismas réplicas se emplearon para medir las propiedades fisicoquímicas como son: pH, sólidos solubles totales (°Brix), acidez titulable y parámetros de color, y para cuantificar los compuestos nutraceuticos: fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante mediante el ensayo FRAP. Estos análisis permitieron evaluar cómo el tratamiento combinado con HHP influye en la calidad y estabilidad de la MJTX durante el almacenamiento refrigerado.

5.3.9. Evaluación microbiológica

La evaluación microbiológica en los tres experimentos se realizó en triplicado para cada tratamiento y control. De cada bolsa de 100 mL de MJTX se extrajo 10 mL y se diluyó en 90 mL de APB al 0.01 %. A continuación, se efectuaron diluciones decimales sucesivas con APB al 0.01 %. De cada dilución se inocularon 100 μL en placas con AST específicas para *Listeria innocua*, incubándose a 37 °C durante 72 h. Para la cuantificación de la microbiota nativa (mesófilos aerobios totales, hongos y levaduras) se siguió la metodología de Leyva-Daniel et al. (2017).

Los recuentos se expresaron como Log_{10} UFC mL^{-1} , calculados como promedio de tres réplicas, considerando únicamente placas con entre 3 y 300 colonias y ajustando los valores según el factor de dilución aplicado.

5.3.10. Análisis fisicoquímicos

El pH se midió mediante un potenciómetro (HANNA Instruments, modelo HI 98150, Woonsocket, EE. UU.), mientras que los sólidos solubles totales ($^{\circ}\text{Brix}$) se determinaron con un refractómetro digital portátil (ATAGO, modelo PAL-1 3810, Omaeda, Japón). Ambos ensayos se llevaron a cabo siguiendo los métodos 981.12 y 920.151 de la AOAC, y la acidez titulable (%) se cuantificó según el método 942.15 de la misma institución (AOAC, 2005).

Los parámetros de color (L^* , a^* y b^*) se registraron con un colorímetro Hunter Lab (MiniScan™ XE Plus, No. 45/O-L, serie 5348, Reston, VA, EE. UU.) en una cubeta de vidrio de 100 mL. A partir de estos valores se calcularon el cambio total de color (ΔE), la croma (C) y el ángulo de matiz (Hue) conforme al procedimiento de McGuire (1992).

5.3.11. Análisis de potencial nutracéutico

Los compuestos nutracéuticos analizados incluyeron el fenol total, los flavonoides y la capacidad antioxidante. Para cada ensayo, se pipetearon 15 mL de MJTX en tubos Falcon y se centrifugaron a $4,500 \times g$ durante 15 min (Frontier 5718R, Ohaus, Parsippany, EE. UU.). Con el sobrenadante obtenido se aplicaron los protocolos específicos de cada determinación, ajustados a microplacas de 96 pozos. Las lecturas se hicieron por espectrofotometría en un lector de microplacas Synergy 2 (software Gen5, Biotek Instruments Inc., Winooski, VT, EE. UU.). La metodología detallada de cada análisis se presenta en los apartados siguientes.

Contenido fenólico total

El contenido de fenoles totales se cuantificó empleando el método de Folin-Ciocalteu (Hernández-Rodríguez et al., 2017; Singleton & Rossi, 1965). En cada pozo de la microplaca se dispusieron 25 μL de MJTX, 125 μL de agua destilada, 20 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu previamente diluido 1:10 y 30 μL de Na_2CO_3 al 20 %; como blanco se utilizó agua destilada. Tras incubar las

muestras en oscuridad durante 30 min, se midió la absorbancia a 760 nm. La cuantificación se basó en una curva patrón de ácido gálico con ecuación $y = 44.393x - 0.003$ ($R^2 = 0.999$). Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de ácido gálico por mililitro ($\text{mg}_{\text{EAG}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Flavonoides

La determinación de flavonoides se realizó según Kubola y Siriamornpun (2011). Se mezclaron 0.5 mL de MJTX, 2.5 mL de AD y 0.15 mL de NaNO_2 al 5 %, dejándose reposar 6 min. Después se adicionaron 0.3 mL de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 10 % y, tras 5 min de incubación, se incorporó 1 mL de NaOH al 5 %.

La mezcla se agitó en vortex ($3,000 \times g$, 3 min; Vortex Synergy, WVR International) y se dispensaron 200 μL en los pozos de una microplaca para lectura a 510 nm. La cuantificación se basó en una curva estándar de catequina ($y = 14.206x - 0.0011$; $R^2 = 0.987$) y los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de catequina por mililitro ($\text{mg}_{\text{EC}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Actividad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó mediante el ensayo FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*; Benzie & Strain, 1996). Para el ensayo FRAP, se preparó el reactivo inmediatamente antes de su uso mezclando acetato de sodio trihidratado (300 mM, pH 3.6), TPTZ (10 mM en HCl 40 mM) y cloruro férrico hexahidratado (20 mM) en proporción 10:1:1. En cada pocillo se dispusieron 20 μL de MJTX, 60 μL de agua destilada y 180 μL del reactivo FRAP, se incubaron 10 min y luego se registró la absorbancia a 595 nm.

La cuantificación de la actividad antioxidante para este ensayo se realizó con una curva patrón de Trolox ($y = 0.0291x - 0.0188$; $R^2 = 0.994$). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox por mililitro ($\mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{mL}^{-1}$).

5.3.12. Evaluación sensorial

Se realizaron dos evaluaciones sensoriales discriminativas. La primera consistió en una prueba de diferencia de control, considerada como una prueba de diferencia simple que permite cuantificar la magnitud de la diferencia entre muestras (Hernández-Montes, 2007).

En esta prueba participaron 111 panelistas con edades entre 14 y 26 años, quienes evaluaron dos muestras de la MJTX: una sometida al tratamiento combinado de ozono y HHP (1 min O₃ + 230 MPa/5 min HHP) y otra sin tratamiento, cada una con un volumen de 15 mL. La asignación de las muestras a los panelistas se realizó de forma aleatoria y balanceada. Cada participante probó ambas muestras y asignaron una puntuación en una escala de diez puntos, donde 0 representó ausencia de diferencia y 9 reflejó una diferencia muy grande entre las muestras.

La segunda evaluación correspondió a una prueba 2-AFC no direccional enfocada en determinar la preferencia, en la que cada panelista eligió una de dos opciones sin posibilidad de empate (Bi, 2006; Hernández-Montes, 2007). Esta prueba tuvo la participación de 120 panelistas de entre 14 a 25 años. A cada uno se les presentó dos muestras aleatorizadas, una tratada con ozono+HHP y otra sin tratar, y se les pidió indicar el código de la muestra de su preferencia (Bi, 2006; Hernández-Montes, 2007). En ambas pruebas se diseñó una hoja maestra con las combinaciones de orden y con código de tres dígitos previamente aleatorizados.

5.3.13. Análisis estadístico

La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales (100 mL de MJTX) se realizó mediante un diseño completamente al azar. Para evaluar el impacto combinado de ozono y HHP sobre las poblaciones de *Listeria innocua* y la microbiota nativa, la variable de respuesta fue el Log₁₀ UFC mL⁻¹. Se aplicó los supuestos de normalidad, después un análisis de varianza (ANOVA) y, cuando se detectaron diferencias significativas ($\alpha = 0.05$), se efectuó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

El ANOVA se basa en un modelo lineal de efectos fijos que descompone la variabilidad observada en componentes atribuibles al tratamiento y al error experimental.

El modelo lineal asumido fue:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + e_{ij}$$

Donde:

y_{ij} : Log_{10} UFC mL^{-1} de la j -ésima réplica bajo el i -ésimo tratamiento.

μ : media general.

τ_i : efecto del i -ésimo tratamiento (por ejemplo, 1 min de O_3 + 230 MPa/5 min de HHP).

e_{ij} : error experimental.

Se empleó un ANOVA seguido de comparaciones de Tukey ($\alpha = 0.05$) para las variables fisicoquímicas (pH, sólidos solubles totales en °Brix y acidez titulable).

Para los parámetros de color (L^* , Croma (C), ángulo Hue (°), diferencia de color ΔE) y las variables nutraceuticas (fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante), se utilizó un Modelo Aditivo Generalizado (GAM), que permite modelar relaciones no lineales sin necesidad de transformaciones previas. En este enfoque, la dependencia con el tiempo de almacenamiento se captura mediante funciones de suavizamiento (“splines”) definidas por nudos, y cada segmento se ajusta con polinomios locales (Jaén-Contreras et al., 2022; Meng et al., 2024).

El GAM empleado se formuló así:

$$g(y_{ij}) = B_i + I_{\text{tipo}} + f(\text{días}) + e_{ij}$$

Donde:

B_i : variable de respuesta (L^* , C, Hue, ΔE ; fenoles, flavonoides, actividad antioxidante).

$I(\text{tipo})$: factor de tratamiento (control o 1 min de O_3 + 230 MPa/5 min de HHP).

$f(\text{días})$: función de suavizamiento en tiempo de almacenamiento.

e_{ij} : error residual.

Asimismo, se realizaron comparaciones de curvas del modelo GAM, comparaciones de Tukey y comparaciones de Kruskal–Wallis. Todos los análisis se realizaron en RStudio v. 2023.06.1.

5.4. Resultados y discusión

5.4.1. Efecto de la combinación de diferentes tiempos de exposición de ozono y presiones hidrostáticas en la población de *L. innocua* inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle

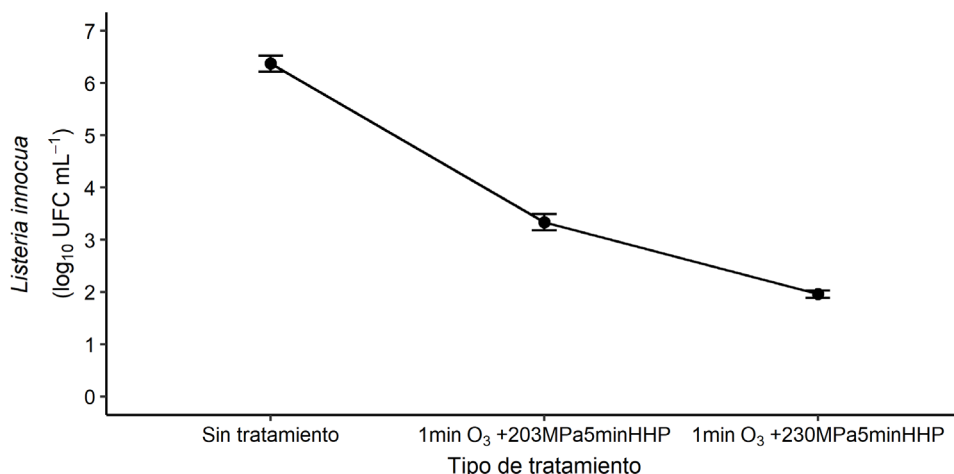


Figura 18. Población de *Listeria innocua* en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle después de la aplicación de ozono+HHP.

La combinación de ozono + HHP que redujo la mayor cantidad de población de *L. innocua* en la MJTX fue la aplicación de 1 min O₃ + 230 MPa/5 (Figura 18). En estudios previos (Capítulo 3 y 4) mostraron que al aplicar 406 MPa/5 min de HHP y 5 min de ozono inactiva esta cepa hasta niveles indetectables, por lo que estos resultados indican que si bien no se logra la inactivación total de la cepa esta combinación logra una reducción de la población de *L. innocua* al aplicar menor tiempo de exposición de ozono y un 43 % menos de los niveles de HHP. Sin embargo, no se logró la reducción establecida de 5 Log₁₀ UFC mL⁻¹ de la FDA (2001).

5.4.2. Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la población de *L. innocua* inoculada en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C)

La MJTX sin tratamiento presentó una carga inicial de aproximadamente 4 Log₁₀ UFC mL⁻¹ y mantuvo casi esa población a lo largo de todo el periodo, lo que refleja la capacidad de este psicotrofo para permanecer viable en un

medio de pH 4.3, aunque sin proliferar. Por su parte, la MJTX sometida a ozono más HHP no mostró detección de *L. innocua* en ningún día de almacenamiento debido a que esta cepa sufrió daño irreversible que impidió su recuperación. La **Figura 19** presenta la evolución poblacional de *L. innocua* ($\log_{10}$ UFC mL^{-1}) en la MJTX sin tratamiento y con 1 min de O_3 seguido de 230 MPa durante 5 min de HHP, durante 45 d de almacenamiento en refrigeración.

La eficacia de esta combinación podría atribuirse por la acción oxidativa del ozono, que afecta componentes lipídicos y proteicos de la membrana celular de los microorganismos (Afsah-Hejri et al., 2020) y en el estrés mecánico inducido por la alta presión, capaz de desestabilizar las interacciones macromoleculares y alterar funciones enzimáticas (Gutiérrez et al., 2023).

Esta sinergia provoca daños irreversibles en la estructura y fisiología bacteriana, impidiendo tanto la supervivencia como la recuperación de la población inicial bajo condiciones de refrigeración.

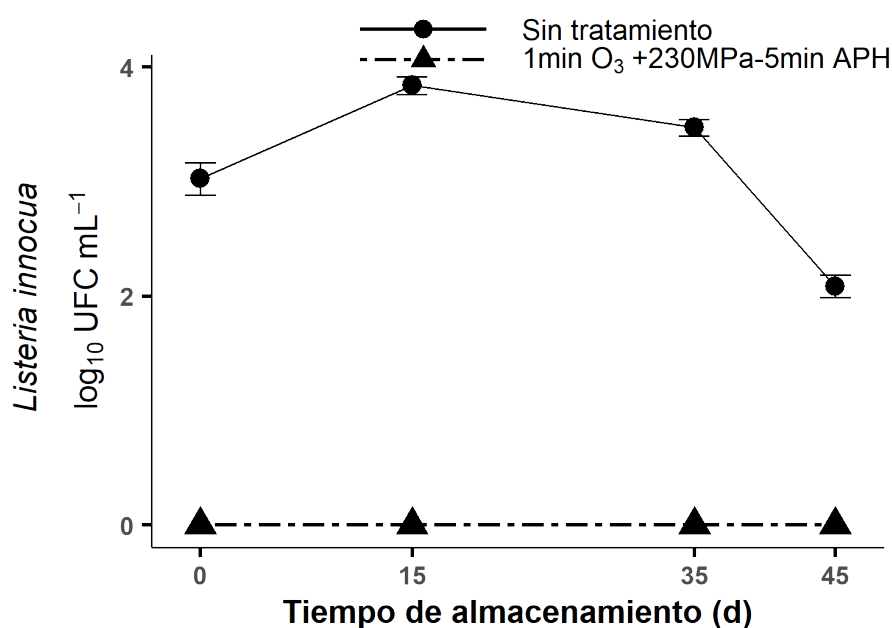


Figura 19. Población de *Listeria innocua* en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) durante 45 d después de aplicar 1 min de O_3 + 230 MPa durante 5 min de HHP.

5.4.3. Efecto de la combinación de exposición de ozono y la alta presión hidrostática sobre la microbiota nativa presente en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

La población de los mesófilos aerobios ($3 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$) incrementó de manera continua hasta aproximarse a $7.5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ al final del almacenamiento. Las levaduras y mohos experimentaron un crecimiento aún más intenso, partiendo de unos $3.5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ y superando los $11 \text{ Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ al día 45. En ambos casos, el mayor aumento poblacional se observó entre los días 15 y 35. La **Figura 20** muestra la dinámica de la microbiota nativa en la MJTX refrigerada ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 45 d.

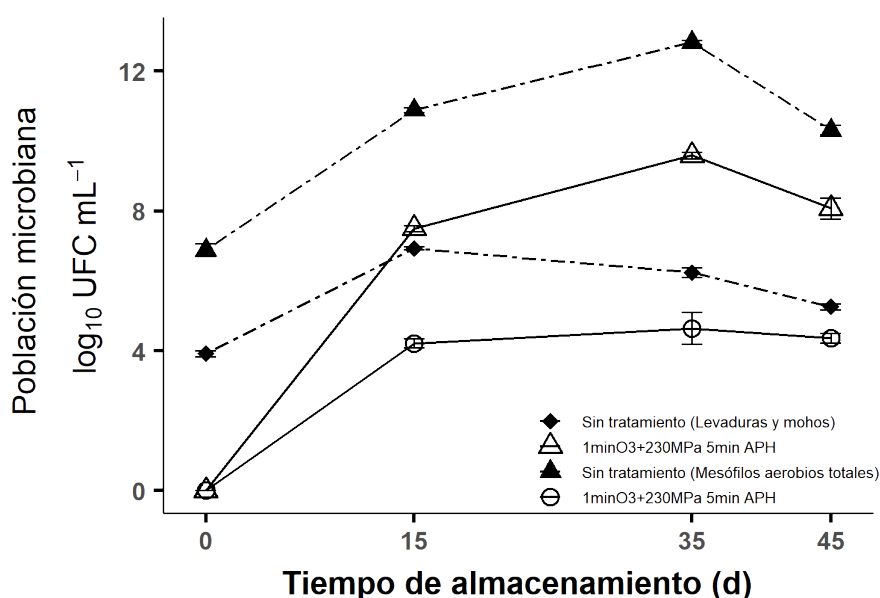


Figura 20. Efecto de la combinación de ozono y HHP (1 min de O_3 + 230 MPa durante 5 min de HHP) sobre la microbiota nativa (mesófilos aerobios, levaduras y mohos) en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenada en frigoconservación ($4.5 \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 45 d.

No se detectaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre las muestras tratadas y los controles en ninguno de los días de almacenamiento, lo que indica que la combinación de ozono + HHP no afecta la viabilidad ni limita el desarrollo de los microorganismos autóctonos de la mezcla. En relación con las levaduras y hongos su crecimiento podría explicarse debido a su adaptación al medio ya que debido a que al ser afectadas de manera subletal activan mecanismos de defensa, entre los que se hallan la síntesis de

proteínas de choque térmico, la modificación de la composición lipídica de la membrana plasmática, la regulación de la actividad de la ATPasa y la adaptación de los sistemas de intercambio iónico (Birch & Walker, 2000). Estos datos sugieren que, si bien este protocolo garantiza la inocuidad frente a patógenos como *L. innocua*, no ejerce efecto sobre la microbiota nativa, la cual requiere de tratamientos adicionales o combinaciones distintas para su control.

5.4.4. Efecto de la combinación de ozono y alta presión hidrostática sobre las propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

En la MJTX sin tratamiento el pH experimenta un descenso significativo a partir del día 35 con un valor de $3,23 \pm 0,05$ y se mantiene bajo el día 45 con $3,17 \pm 0,05$, lo cual refleja acidificación posiblemente como resultado de la actividad enzimática y microbiana. Por su parte la MJTX tratada con ozono + HHP conserva un pH estable en un rango de 4,20 a 4,27 sin diferencias estadísticamente significativas a lo largo de los 45 días de almacenamiento. Estos resultados podrían atribuirse a que en el caso de la aplicación de 230 HHP no aporta la energía suficiente como para alterar de forma permanentes los enlaces covalentes ni desplazar irreversiblemente los equilibrios de disociación ácido-base, procesos que exigen aporte energético para romper o formar dichos enlaces (Gutiérrez et al., 2023; Pokhrel et al., 2022).

Cuadro 2. Propiedades fisicoquímicas de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle tratado con la combinación de ozono+HHP (1 min de O₃ + 230 MPa-5 min de HHP) durante diferentes tiempos de almacenamiento en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C).

Tiempo (d)	pH		SST ^d (°Brix)		Acidez titulable (%)	
	Sin tratamiento	O ₃ + HHP ^c	Sin tratamiento	O ₃ + HHP	Sin tratamiento	O ₃ +HHP
0	4.3 ± 0.00 a ^a	4.27 ± 0.05 a	11.3 ± 0.06 a	11.2 ± 0.00 a	0.23 ± 0.00 b	0.23 ± 0.00 a
15	4.27 ± 0.05 a	4.23 ± 0.05 a	11.2 ± 0.06 a	11.2 ± 0.00 a	0.23 ± 0.00 b	0.22 ± 0.00 b
35	3.23 ± 0.05 b ^b	4.20 ± 0.00 a	10.4 ± 0.10 b	11.2 ± 0.00 a	0.25 ± 0.00 a	0.21 ± 0.00 c
45	3.17 ± 0.05 b	4.20 ± 0.00 a	10.2 ± 0.06 b	11.2 ± 0.05 a	0.27 ± 0.00 a	0.21 ± 0.00 c

^a Valores con media ± desviación estándar; Parámetros iniciales de la MJTX: pH 4.3 y °Brix 11.3.

^b Medias con letras minúsculas por columna indican diferencias estadísticas (Tukey, α = 0.05).

^c Combinación de ozono y alta presión hidrostática.

^d Sólidos solubles totales.

3.4.1 Parámetros de color

La **Figura 21** ilustra la respuesta tridimensional de los parámetros de color de la MJTX frente al tratamiento combinado de ozono e HHP a lo largo de 45 d de frigoconservación.

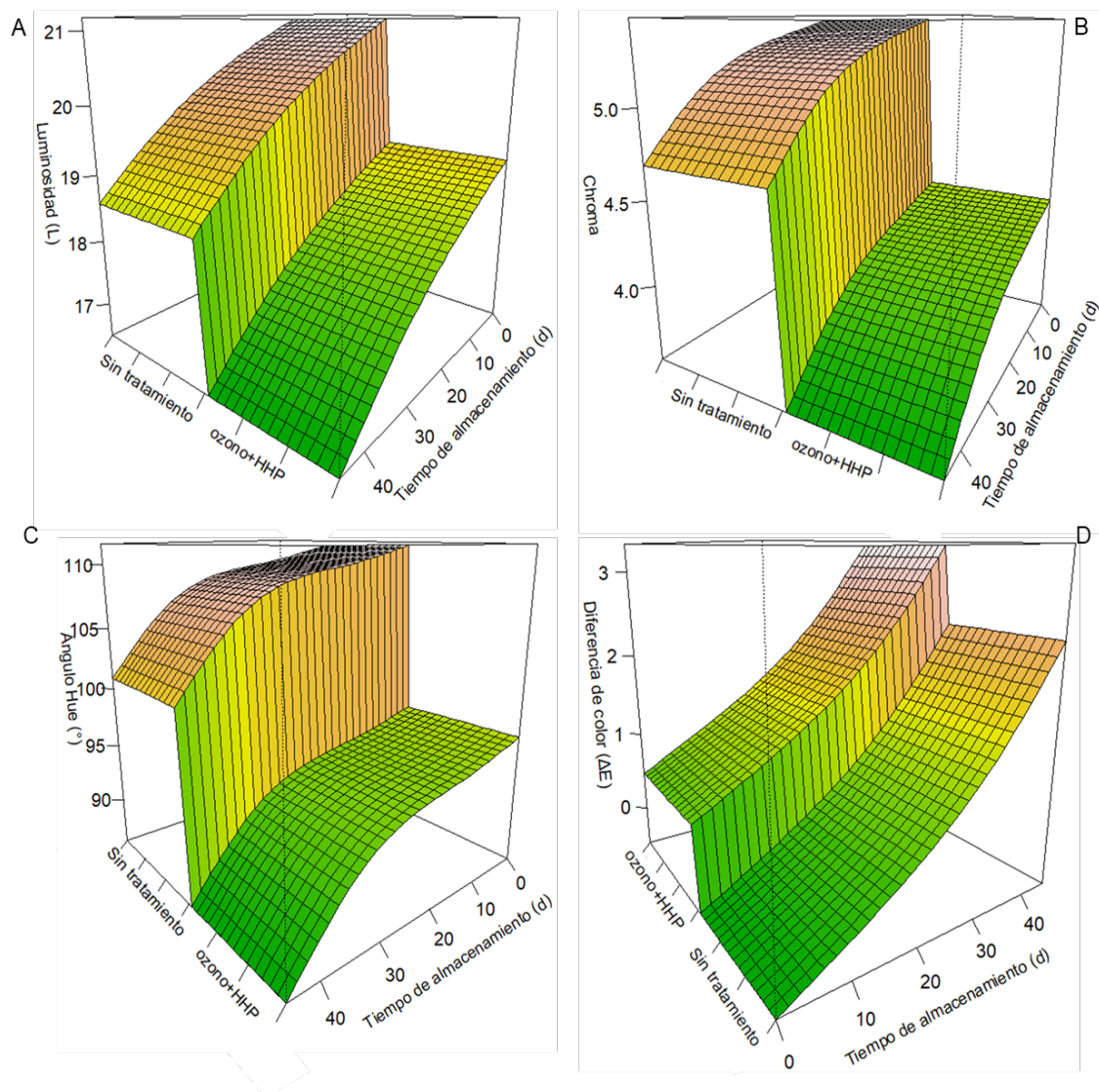


Figura 21. Cambios de los parámetros de color de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle tratado con 1 min de O_3 + 230 MPa-5 min de HHP y almacenado en diferentes periodos de frigoconservación. A) Luminosidad, B) Ángulo Hue, C) Croma y D) Diferencia de color (ΔE).

A) Luminosidad (L^*): En el control sin tratamiento, L^* se mantuvo relativamente estable cerca de 19–20 unidades, mientras que en la muestra tratada observó un descenso progresivo desde ~19 hasta ~16 unidades al final del periodo. Este decrecimiento podría ser provocado por la oxidación de los pigmentos provocados por la fuerte actividad oxidante del ozono debido a que provoca un oscurecimiento (Patil et al., 2011; Torres et al., 2011).

B) Ángulo Hue ($^\circ$): El matiz en la MJTX sin tratar presentó un ligero aumento, estabilizándose alrededor de 110° tras 15 d. En contraste, la combinación ozono+HHP indujo una caída inicial del ángulo Hue desde $\sim 105^\circ$ hasta $\sim 90^\circ$ durante los primeros 20 d, lo que indica una tendencia hacia tonos amarillentos o verdosos posiblemente por efecto de la presión hidrostática debido a la degradación de clorofilas por la ruptura parcial del sistema de dobles enlaces conjugados del anillo porfirínico al extraerse Mg^{2+} y formarse feofitina, lo que desplaza el tono verde hacia el amarillo (Zhao et al., 2013).

C) Croma (C): La saturación cromática de la MJTX sin tratar se situó en ~5.0 y mostró un leve incremento con el tiempo. En las muestras sometidas al tratamiento, C disminuyó de ~5.0 a ~3.8 unidades, lo cual refleja una pérdida de vivacidad en el color atribuible a la degradación de pigmentos responsables de la intensidad cromática, como lo son las clorofilas en caso de la MJTX.

D) Diferencia de color (ΔE): La ΔE permaneció cercana a cero para el control, mientras que alcanzó valores superiores a 3.0 en el tratamiento tras 45 d el cual es perceptible, debido a que a partir de >3.0 – 6.0 ΔE el cambio de color puede ser claramente visible superando el umbral perceptible para el ojo humano (D'Arrigo et al., 2024). Este incremento acumulativo confirma que el efecto combinado de ozono+HHP genera alteraciones cromáticas suficientemente marcadas como para ser visualmente detectables. En conjunto, los resultados de color muestran que la ozono+HHP impacta de manera significativa los atributos visuales de la MJTX durante su almacenamiento en frigoconservación.

Comparaciones de curvas, Tukey y Kruskal-Wallis de los parámetros de color

El ajuste de modelos aditivos generalizados demostró que la aplicación combinada de 1 min de ozono y 230 MPa durante 5 min de HHP provocó cambios significativos en la cinética de los parámetros de color de la MJTX durante 45 d de almacenamiento refrigerado. Las curvas de L^* , C^* , H° y ΔE (**Figura 22**) fueron diferentes a la MJTX sin tratar ($p < 0.001$), lo que confirma que la sinergia modifica de manera sustancial la evolución cromática de la MJTX.

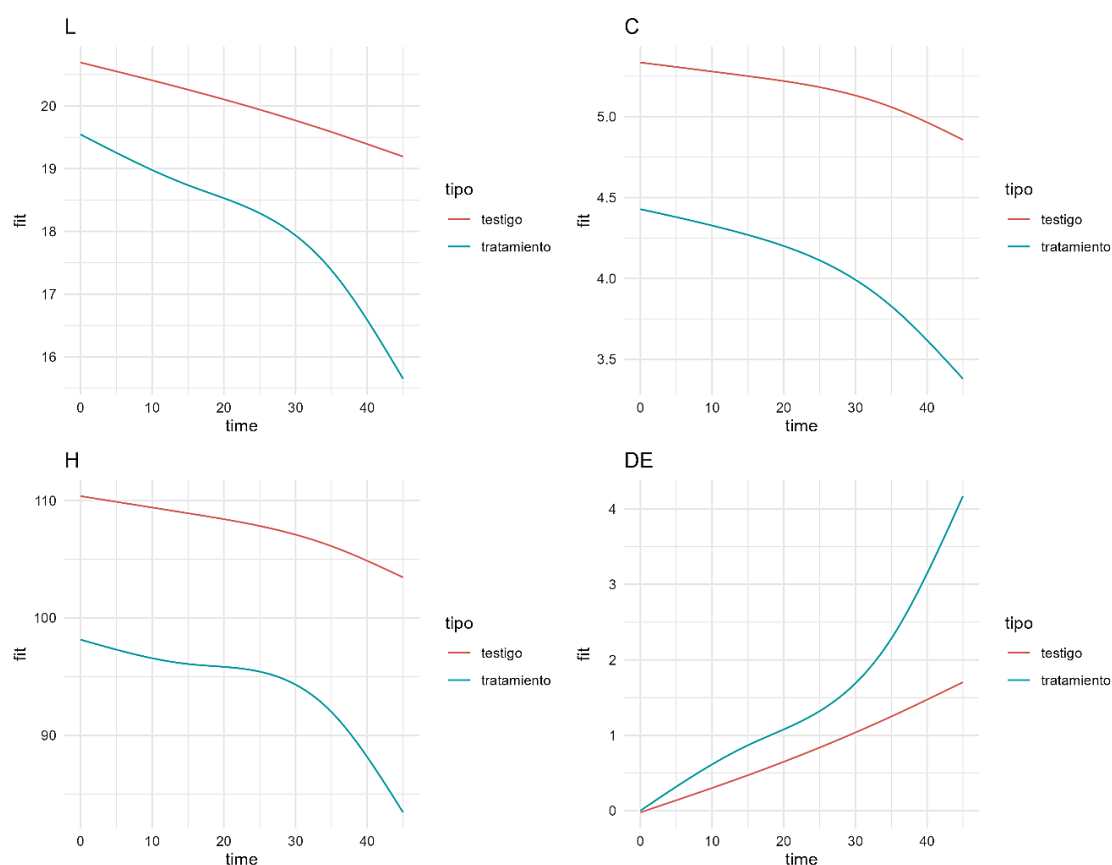


Figura 22. Curvas GAM de parámetros de color para la MJTX tratada con ozono+ HHP y sin tratar almacenados en refrigeración durante 45 d.

El jugo sin tratar (testigo) mantuvo una L^* cercana a 20 U, mientras que la sinergia provocó un descenso continuo que concluyó en 16 U, ampliándose la distancia entre ambas curvas a partir del día 20.

La cromaticidad de la MJTX sin tratar disminuyó de 5.2 U a 4.6 U, en tanto que la combinación de ozono+HHP redujo C^* hasta 3.4 U. El ángulo de tono del jugo sin tratar descendió gradualmente de 110° a 105° , pero el tratamiento sinérgico lo llevó hasta 84° , mostrando un pronunciado cambio de tono que se intensificó a partir de los 20 d.

La diferencia de color ascendió en la MJTX sin tratar hasta 1.7, en contraste con el aumento la MJTX tratada, que superó un ΔE de 4 al día 45, valor perceptible a simple vista y, por tanto, crítico para la apariencia.

El contraste global de Kruskal–Wallis confirmó diferencias en L^* , C^* y H° ($p < 0.001$), mientras que la dispersión en ΔE impidió detectar significancia a pesar de la tendencia creciente.

Las comparaciones de Tukey mostraron que la MJTX sin tratar la clasificó con “a” y “b” a la MJTX tratada en luminosidad (L^*), cromaticidad (C^*) y tono (H°), lo que ratifica la magnitud del efecto; para ΔE ambas series compartieron la misma letra debido a la variabilidad, aunque las medias difieren notablemente.

El ΔE de la MJTX sin tratar aumenta moderadamente hasta ~ 1.7 ; la MJTX tratada el incremento es exponencial, alcanzando valores superiores a 4 al día 45. Un $\Delta E > 3$ ya es perceptible a ojo humano; aquí la sinergia multiplica la diferencia, afectando severamente la apariencia.

En la **Figura 23**, se resume la combinación de la MJTX tratada con la combinación de ozono+HHP y la MJTX sin tratar (testigo). Las diferencias estadísticas finales en L, C y H se marcan con letras de agrupamiento (Tukey HSD, $\alpha = 0.05$); ΔE refleja alta variabilidad.

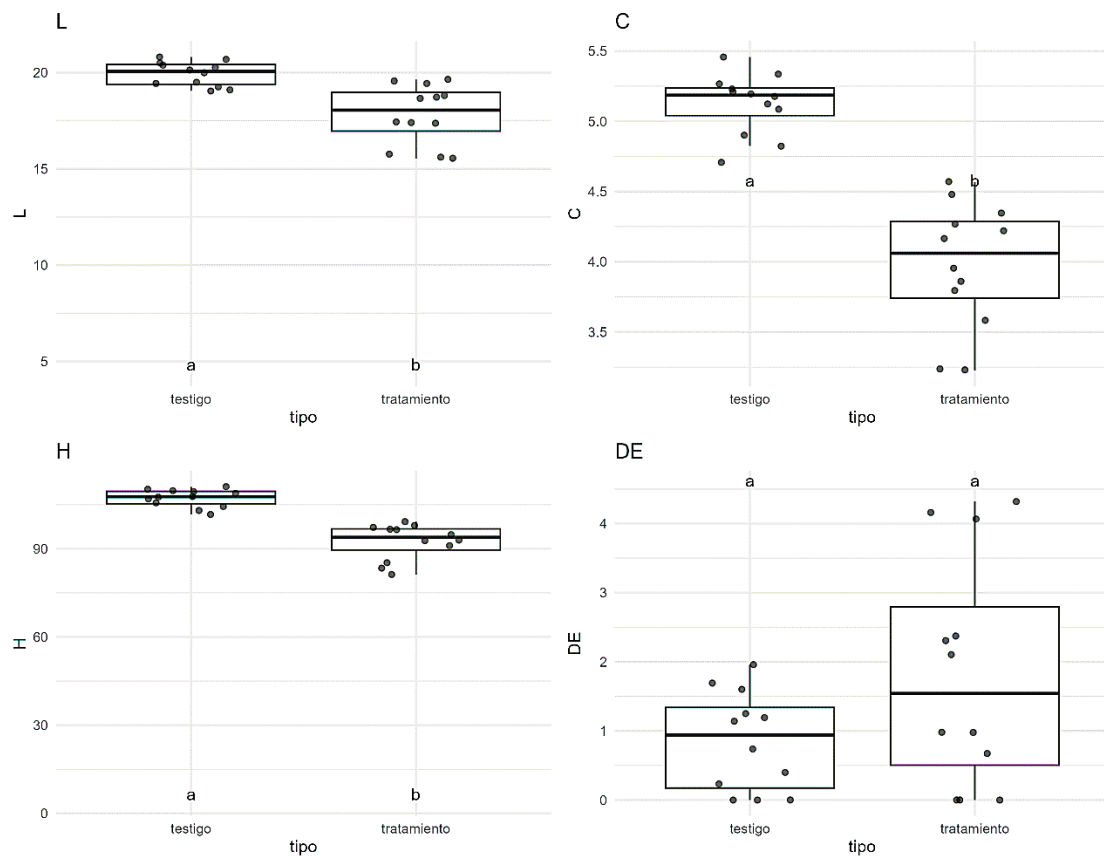


Figura 23. Box-plots de L^* , C , H° y ΔE con letras de Tukey para la MJTZ tratada con la combinación de 1 min de ozono y 230 MPa durante 5 min de HHP y sin tratar (testigo).

5.4.5. Efecto la combinación del ozono y la alta presión hidrostática sobre los compuestos nutraceuticos de la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle almacenado en frigoconservación

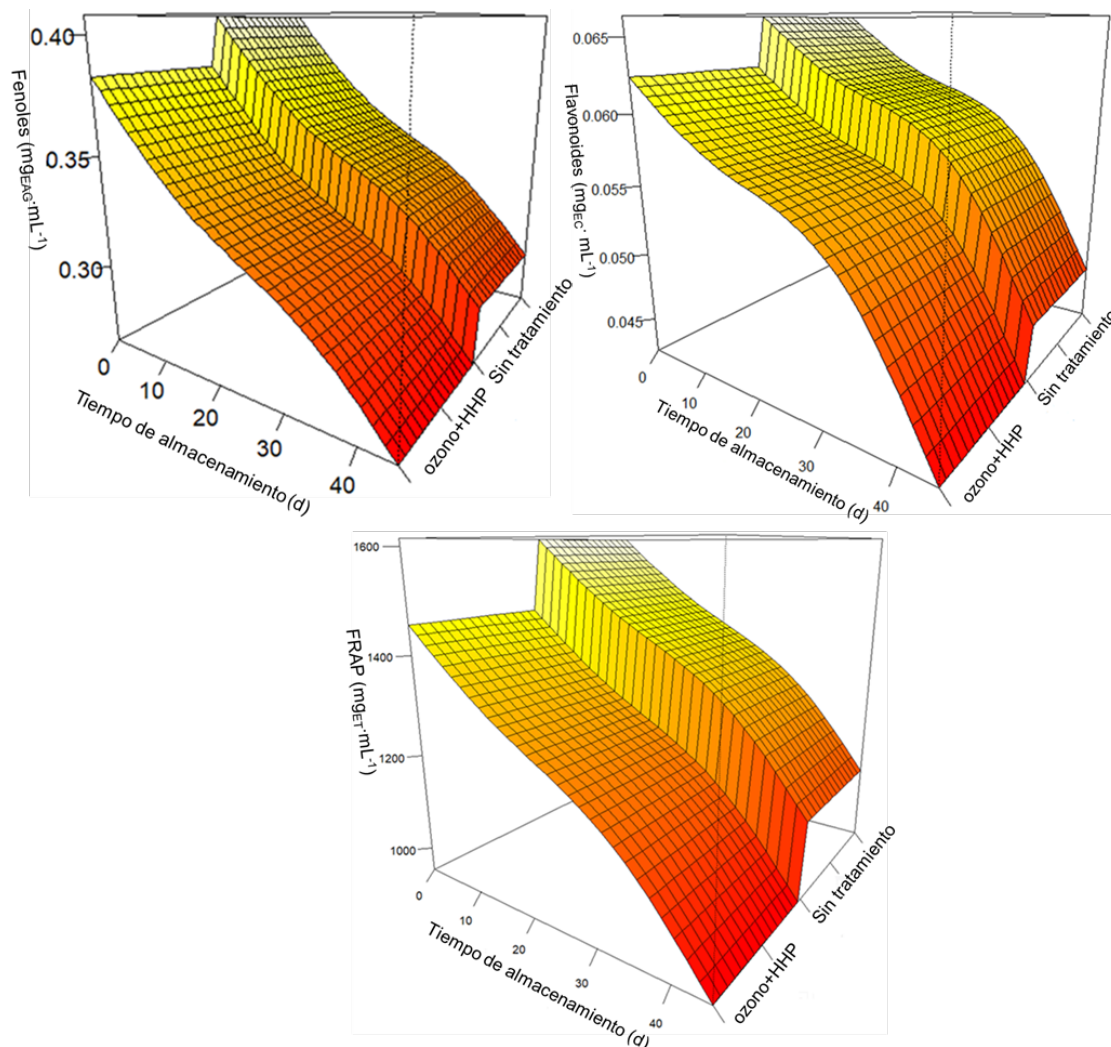


Figura 24. Efecto de la combinación de 1 min de O₃ + 230 MPa/5 min de HHP y tiempo de almacenamiento en frigoconservación (4.5 ± 0.5 °C) sobre compuestos nutraceuticos en la mezcla de jugo de tuna con jugo de xoconostle.

La MJTX sin exposición de ozono es la etiqueta: sin tratamiento. Compuestos nutraceuticos: A) Compuestos fenólicos totales (mgEAG·mL⁻¹) y B) Flavonoides (mgEC·mL⁻¹). Actividad antioxidante (AA, $\mu\text{mol}_{\text{ET}}\cdot\text{mL}^{-1}$) determinada por C) FRAP.

A) Fenoles totales ($\text{mg}_{\text{EAG}}\cdot\text{mL}^{-1}$): El control mantiene un nivel cercano a $0.38 \text{ mg}_{\text{EAG}}\cdot\text{mL}^{-1}$ a lo largo de todo el periodo, con una ligera pendiente descendente hacia $0.36 \text{ mg}_{\text{EAG}}\cdot\text{mL}^{-1}$ al día 45. En contraste, la muestra tratada inicia en el mismo valor, pero cae de forma pronunciada hasta los $0.30 \text{ mg}_{\text{EAG}}\cdot\text{mL}^{-1}$ al final del almacenamiento. El descenso más acelerado ocurre entre los días 15 y 35, Sandate-Flores et al. (2017) mencionan que los fenoles totales no son afectados por la HHP, por lo que sugiere que el ozono podría provocar esta reducción debido a su capacidad oxidante (Cullen et al., 2012).

B) Flavonoides ($\text{mg}_{\text{EC}}\cdot\text{mL}^{-1}$): En la MJTX sin tratar, los flavonoides oscilan alrededor de $0.065 \text{ mg}_{\text{EC}}\cdot\text{mL}^{-1}$ con variaciones mínimas ($< 0.002 \text{ mg}$) durante los 45 d. Sin embargo, el tratamiento reduce gradualmente su concentración hasta aproximadamente $0.045 \text{ mg}_{\text{EC}}\cdot\text{mL}^{-1}$. La mayor tasa de pérdida se aprecia después del día 20, probablemente por la oxidación provocada por la exposición del ozono, ya que puede reaccionar directamente con los grupos aromáticos o generar radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) que atacan el anillo bencénico. Estas reacciones siguen un mecanismo de ozonólisis, el cual provoca la ruptura de los dobles enlaces y la formación de quinonas, reduciendo drásticamente la concentración de fenoles y flavonoides libres en las matrices acuosas de alimentos (Botondi et al., 2021; Diao et al., 2019).

C) Actividad antioxidante (FRAP, $\mu\text{mol}_{\text{ET}}\cdot\text{mL}^{-1}$): La capacidad reductora del jugo sin tratar se mantiene estable cerca de $1,600 \mu\text{mol}_{\text{ET}}\cdot\text{mL}^{-1}$. La muestra sometida a ozono+HHP muestra una disminución continua hasta rondar los $1,100 \mu\text{mol}_{\text{ET}}\cdot\text{mL}^{-1}$ al día 45. La caída inicial durante los primeros 10 d es moderada, pero entre el día 10 y 35 se intensifica, evidenciando que la combinación de tensiones mecánicas y oxidativas debilita la capacidad antioxidante disponible. Lo anterior podría deberse a que el ozono al actuar como un agente oxidante eleva la reactividad frente a los compuestos fenólicos y la vitamina C; la ruptura del anillo aromático por ozonólisis origina quinonas y oligómeros de menor capacidad reductora, lo cual reduce la AA (Alothman et al., 2010; Botondi et al., 2021).

Por otro lado, la aplicación de HHP altera la permeabilidad de la membrana celular y de las matrices, liberando compuestos antioxidantes internos y favoreciendo la formación de especies reactivas de oxígeno bajo presión, aunque la HHP inactiva enzimas oxidativas como PPO y POD, el aumento de radicales libres y la exposición prolongada durante el almacenamiento provocan una oxidación progresiva de fenoles y vitamina C (Pérez-Lamela et al., 2021), lo que podría reducir la AA en la MJTX

5.4.6. Evaluación sensorial

El análisis de varianza de la prueba diferencia con control mostró que la combinación de ozono+HHP (1 min O₃ + 230 MPa/5 min de HHP) modificó significativamente la magnitud percibida entre la MJTX ($F = 112.88$; $p < 0.001$) y la variabilidad entre panelistas no fue significativa ($F = 1.16$; $p = 0.225$). La prueba de Dunnett mostró que la MJTX tratada es mayor (3.84 ± 0.36) en la escala de diez puntos que la MJTX sin tratar. La prueba LSD corroboró la diferencia estadística, ya que la MJTX tratada presentó un valor de media estadística mayor (6.94 ± 2.77 a) que la MJTX sin tratamiento (3.12 ± 2.79 b).

En la prueba 2-AFC no direccional participaron 110 panelistas; solo 22 prefirieron la MJTX tratada con la combinación de ozono + HHP. Este valor es inferior al valor de 66 respuestas mínimas correctas exigido para $\alpha = 0.05$ y con $N = 110$ según Bi (2006). Por lo tanto, la preferencia fue por la MJTX sin tratamiento. La potencia corregida fue de 0.85, lo que respalda la fiabilidad estadística del resultado obtenido de esta prueba. En conjunto, el tratamiento ozono+HHP intensificó la percepción de diferencia sensorial, aunque no incrementó la preferencia del consumidor frente a la MJTX sin tratar.

5.5. Conclusiones

La aplicación de la combinación de ozono (1 min) y alta presión hidrostática (230 MPa/5 min) inactivó efectivamente *Listeria innocua* y evitó su recuperación durante 45 d de almacenamiento refrigerado, sin embargo, no inactivó el crecimiento de la microbiota nativa. Este tratamiento mantuvo estable el pH, sólidos solubles totales y acidez titulable; pero, afectó negativamente la

luminosidad, cromaticidad y tono, generando cambios visuales perceptibles tras 15-20 d. Además, se observó una reducción significativa del contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante, especialmente a partir del día 15-20, la combinación de capacidad oxidativa del ozono y el estrés provocado por la presión hidrostática generó rupturas celulares, lo que pudo haber permitido el aumento de la difusión de oxígeno en la MJTX y por lo tanto disminución de los compuestos nutraceuticos y degradación del color. Por otro lado, el tratamiento si presentó la percepción sensorial de diferencia, no obtuvo la preferencia del consumidor. Estos hallazgos indican que la combinación de ozono y HHP reduce la población microbiológica de *L. innocua*, sin embargo, no reduce la microbiota nativa de la MJTX, por ello esta combinación requiere de cambios en los tiempos de exposición de ozono y niveles de presión hidrostática para lograr preservar el color y los compuestos nutraceuticos de la MJTX.

5.6. Agradecimientos

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca doctoral (738112) otorgada a la autora Montecinos-Pedro, a la Universidad Autónoma Chapingo (Proyecto convencional 21297-C-62 2020), a la I.A. Mariana Ramírez Gilly y al Dr. Alberto Tecante Coronel por facilitar el uso del equipo de alta presión hidrostática en la Facultad de Química de la UNAM.

5.7. Literatura citada

- Afsah-Hejri, L., Hajeb, P., & Ehsani, R. J. (2020). Application of ozone for degradation of mycotoxins in food: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1777–1808. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12594>
- Albano, C., Negro, C., Tommasi, N., Gerardi, C., Mita, G., Miceli, A., de Bellis, L., & Blando, F. (2015). Betalains, phenols and antioxidant capacity in cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] fruits from Apulia (South Italy) genotypes. *Antioxidants*, 4(2), 269–280. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX4020269>
- Allothman, M., Kaur, B., Fazilah, A., Bhat, R., & Karim, A. A. (2010). Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), 666–671. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.08.008>
- Alves-Filho, E. G., Silva, L. M. A., de Brito, E. S., Wurlitzer, N. J., Fernandes, F. A. N., Rabelo, M. C., Fonteles, T. V., & Rodrigues, S. (2018). Evaluation of thermal and non-thermal processing effect on non-prebiotic and prebiotic acerola juices using ¹H qNMR and GC–MS coupled to chemometrics. *Food Chemistry*, 265(February), 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.038>
- Asokapandian, S., Periasamy, S., & Swamy, G. J. (2018). Ozone for Fruit Juice Preservation. *Fruit Juices: Extraction, Composition, Quality and Analysis*, 511–527. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802230-6.00025-4>
- Barbosa-Cánovas, G. V., Yildiz, S., Oner, M. E., & Candoğan, K. (2020). Selected Novel Food Processing Technologies Used as Hurdles. In *Food Engineering Series* (pp. 629–657). https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_24
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Bermúdez-Aguirre, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2011). An Update on High Hydrostatic Pressure, from the Laboratory to Industrial Applications. *Food Engineering Reviews*, 3(1), 44–61. <https://doi.org/10.1007/s12393-010-9030-4>
- Bi, J. (2005). *Sensory Discrimination Tests and Measurements: Statistical Principles, Procedures and Table* (J. Bi, Ed.; 1st). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470277669>
- Borchani, M., Masmoudi, M., Ben Amira, A., Abbès, F., Yaich, H., Besbes, S., Blecker, C., Garvin, A., Ibarz, A., & Attia, H. (2019). Effect of enzymatic treatment and concentration method on chemical, rheological, microstructure and thermal properties of prickly pear syrup. *LWT*, 113, 108314. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108314>

- Botondi, R., Barone, M., & Grasso, C. (2021). A Review into the Effectiveness of Ozone Technology for Improving the Safety and Preserving the Quality of Fresh-Cut Fruits and Vegetables. *Foods*, 10(4), 748. <https://doi.org/10.3390/foods10040748>
- Corrales-García, J. J. E. (2009). Industrialization of cactus pads and fruit in Mexico: challenges and perspectives. *Acta Horticulturae*, 811 VI International Congress on Cactus Pear and Cochineal, 103–112. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.811.10>
- Corrales-García, J. J. E., & Flores-Valdez, C. A. (2003). Nopalitos y tunas, producción, comercialización, poscosecha e industrialización. (Flores Valdez C. A., Ed.; 1era.). Universidad Autónoma Chapingo, CIESTAAM-Programa Nopal. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/items/5ca298ca-9c49-4995-a51e-b41950a5676f>
- Cruz-Bravo, R. K., Guzmán-Maldonado, S. H., Araiza-Herrera, H. A., & Zegbe, J. A. (2019). Storage alters physicochemical characteristics, bioactive compounds and antioxidant capacity of cactus pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 150(August 2018), 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.01.001>
- Cullen, P. J., Tiwari, B. K., & Valdramidis, V. P. (2012). Status and Trends of Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. *Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381470-8.00001-3>
- D'Arrigo, M., Delgado-Adámez, J., Rocha-Pimienta, J., Valdés-Sánchez, M. E., & Ramírez-Bernabé, M. R. (2024). Integral Use of Red Wine Pomace after Hydrostatic High Pressure: Application of Two Consecutive Cycles of Treatment. *Foods*, 13(1), 149. <https://doi.org/10.3390/foods13010149>
- Devia, G., Forli, S., Vidal, L., Curutchet, M. R., & Ares, G. (2021). References to home-made and natural foods on the labels of ultra-processed products increase healthfulness perception and purchase intention: Insights for policy making. *Food Quality and Preference*, 88, 104110. <https://doi.org/10.1016/J.FOODQUAL.2020.104110>
- Diao, E., Wang, J., Li, X., Wang, X., Song, H., & Gao, D. (2019). Effects of ozone processing on patulin, phenolic compounds and organic acids in apple juice. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 957–965. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03561-0>
- FDA. (2001). Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP); Procedures for the Safe and Sanitary Processing and Importing of Juices. 66, 6137–6202.
- Flávia, A., Oliveira, A., Mar, J. M., Santos, S. F., Joel, L., Júnior, S., Kluczkowski, A. M., Bakry, A. M., Araújo, J. De, Cássia, R. De, Nunomura, S., Sanches, E. A., & Campelo, P. H. (2018). Non-thermal combined treatments in the processing of açai (*Euterpe oleracea*) juice. *Food Chemistry*, 265(April), 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.081>

- Fundo, J. F., Miller, F. A., Tremarin, A., Garcia, E., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2018). Quality assessment of Cantaloupe melon juice under ozone processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47(April), 461–466. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.04.016>
- García-Mateos, R., Quiroz-González, B., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, M. C., & Leyva-Ruelas, G. (2019). Ozone-high hydrostatic pressure synergy for the stabilization of refrigerated pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 56(June), 102187. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102187>
- Gómez-Maqueo, A., Welte-Chanes, J., & Cano, M. P. (2020). Release mechanisms of bioactive compounds in fruits submitted to high hydrostatic pressure: A dynamic microstructural analysis based on prickly pear cells. *Food Research International*, 130, 108909. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108909>
- Gutiérrez, Á. L., Rico, D., Ronda, F., Caballero, P. A., & Martín-Diana, A. B. (2023). The Application of High-Hydrostatic-Pressure Processing to Improve the Quality of Baked Products: A Review. *Foods*, 13(1), 130. <https://doi.org/10.3390/foods13010130>
- Hernández-Montes, A. (2007). Evaluación sensorial de productos agroalimentarios. Universidad Autónoma Chapingo.
- Hernández-Rodríguez, G., Espinosa-Solares, T., Hernández-Eugenio, G., Villa-García, M., ReyesTrejo, B., & Guerra-Ramírez, D. (2017). Influence of Polar Solutions on the Extraction of Phenolic Compounds from Capulín Fruits (*Prunus serotina*). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 60(2). <https://doi.org/10.29356/jmcs.v60i2.76>
- Jaén-Contreras, D., Arévalo-Galarza, Ma. de L., Ramírez-Guzman, M. E., Cadena-Iñiguez, J., & Hernández-Vázquez, M. V. (2022). Quality of floral stems of *lisianthus* (*Eustoma grandiflorum* Raf.) inoculated with *Bacillus subtilis* and *Glomus intraradices*. *Ornamental Horticulture*, 28(4), 414–422. <https://doi.org/10.1590/2447-536x.v28i4.2498>
- Jaramillo-Sánchez, G. M., García Loredó, A. B., Gómez, P. L., & Alzamora, S. M. (2018). Ozone Processing of Peach Juice: Impact on Physicochemical Parameters, Color, and Viscosity. *Ozone: Science & Engineering*, 40(4), 305–312. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1417111>
- Kubola, J., & Siriamornpun, S. (2011). Phytochemicals and antioxidant activity of different fruit fractions (peel, pulp, aril and seed) of Thai gac (*Momordica cochinchinensis* Spreng). *Food Chemistry*, 127(3), 1138–1145. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.115>
- Leyva-Daniel, D. E., Escobedo-Avellaneda, Z., Villalobos-Castillejos, F., Alamilla-Beltrán, L., & Welte-Chanes, J. (2017). Effect of high hydrostatic pressure applied to a Mexican honey to increase its microbiological and functional quality. *Food and Bioprocess Processing*, 102, 299–306. <https://doi.org/10.1016/J.FBP.2017.01.001>

- McGuire, R. G. (1992). Reporting of Objective Color Measurements. *HortScience*, 27(12), 1254–1255. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.27.12.1254>
- Meng, C., Xu, W., Qiao, Y., Qin, L., Su, P., & Liao, X. (2024). Predicting vulnerability through hybrid modeling combining GAM and XGBoost - A case of affected population vulnerability to tropical cyclone in Hainan Province. *International Journal of Disaster Risk Reduction*, 111, 104732. <https://doi.org/10.1016/J.IJDRR.2024.104732>
- Patil, S., Valdramidis, V. P., Tiwari, B. K., Cullen, P. J., & Bourke, P. (2011). Quantitative assessment of the shelf life of ozonated apple juice. *European Food Research and Technology*, 232(3), 469–477. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1416-2>
- Pérez-Andrés, J. M., Charoux, C. M. G., Cullen, P. J., & Tiwari, B. K. (2018). Chemical Modifications of Lipids and Proteins by Nonthermal Food Processing Technologies. *Journal Agric. Food Chemical*, 66, 5041–50544. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b06055>
- Pérez-Lamela, C., Franco, I., & Falqué, E. (2021). Impact of High-Pressure Processing on Antioxidant Activity during Storage of Fruits and Fruit Products: A Review. *Molecules*, 26(17), 5265. <https://doi.org/10.3390/molecules26175265>
- Picart-Palmade, L., Cunault, C., Chevalier-Lucia, D., Belleville, M.-P., & Marchesseau, S. (2019). Potentialities and Limits of Some Non-thermal Technologies to Improve Sustainability of Food Processing. *Frontiers in Nutrition*, 5. <https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00130>
- Pokhrel, P. R., Boulet, C., Yildiz, S., Sablani, S., Tang, J., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2022). Effect of high hydrostatic pressure on microbial inactivation and quality changes in carrot-orange juice blends at varying pH. *LWT*, 159, 113219. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113219>
- Quiroz-González, B., Rodríguez-Martínez, V., García-Mateos, M. del R., Torres, J. A., & Welti-Chanes, J. (2018). High hydrostatic pressure inactivation and recovery study of *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 50, 169–173. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.003>
- Ramírez-Rodríguez, Y., Martínez-Huélamo, M., Pedraza-Chaverri, J., Ramírez, V., Martínez-Tagüña, N., & Trujillo, J. (2020). Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands Cactaceae Fruits: Recent findings and research opportunities. *Food Chemistry*, 312, 126073. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.126073>
- Rawson, A., Patras, A., Tiwari, B. K., Noci, F., Koutchma, T., & Brunton, N. (2011). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 44(7), 1875–1887. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.02.053>

- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Sroy, S., Fundo, J. F., Miller, F. A., Brandão, T. R. S., & Silva, C. L. M. (2019). Impact of ozone processing on microbiological, physicochemical, and bioactive characteristics of refrigerated stored Cantaloupe melon juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), e14276. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.14276>
- Stintzing, F. C., Herbach, K. M., Mosshammer, M. R., Carle, R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh, C. C., Bunch, R., & Felker, P. (2005). Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia* spp.) Clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 442–451. <https://doi.org/10.1021/jf048751y>
- Torres, B., Tiwari, B. K., Patras, A., Wijngaard, H. H., Brunton, N., Cullen, P. J., & O'Donnell, C. P. (2011). Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. *Food Chemistry*, 124(3), 721–726. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.06.050>
- Vieira, F. N., Lourenço, S., Fidalgo, L. G., Santos, S. A. O., Silvestre, A. J. D., Jerónimo, E., & Saraiva, J. A. (2018). Long-Term Effect on Bioactive Components and Antioxidant Activity of Thermal and High-Pressure Pasteurization of Orange Juice. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(10), 2706. <https://doi.org/10.3390/molecules23102706>
- Wang, J., Liu, Q., Xie, B., & Sun, Z. (2020). Effect of ultrasound combined with ultraviolet treatment on microbial inactivation and quality properties of mango juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105000. <https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2020.105000>
- Zhao, L., Wang, S., Liu, F., Dong, P., Huang, W., Xiong, L., & Liao, X. (2013). Comparing the effects of high hydrostatic pressure and thermal pasteurization combined with nisin on the quality of cucumber juice drinks. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 27–36. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2012.10.004>

6. CONCLUSIONES

La presente investigación tuvo como objetivo general evaluar el efecto sinérgico del ozono (O₃) y las altas presiones hidrostáticas (HHP) en la estabilización microbiológica, sensorial y nutracéutica de la mezcla de jugo de tuna (*Opuntia* spp.) y xoconostle (*Opuntia joconostle*) (MJTX) en una proporción 9:1. Para alcanzar este fin, se exploraron los efectos individuales de las HHP y el ozono, así como su combinación, sobre microorganismos diana (*Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae*) y la microbiota nativa, además de sus impactos en las características fisicoquímicas, el contenido de compuestos nutracéuticos y la aceptabilidad sensorial del jugo durante su almacenamiento refrigerado.

6.1. Altas Presiones Hidrostáticas (HHP)

El tratamiento con HHP a 406 MPa durante 5 minutos destacó como el más eficaz y equilibrado. Este tratamiento logró la inactivación completa de *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* (esta última a 256 MPa), sin recuperación microbiana durante 45 días de almacenamiento refrigerado (4.5 ± 0.5 °C). Adicionalmente, mantuvo la microbiota nativa en niveles indetectables. Crucialmente, este tratamiento preservó notablemente las características fisicoquímicas (pH, sólidos solubles, acidez) y nutracéuticas (fenoles, flavonoides, actividad antioxidante) del jugo, siendo comparables al jugo fresco durante al menos 35 días. Aunque introdujo una diferencia sensorial perceptible, no alteró significativamente la preferencia del consumidor. Las HHP se perfilan como una excelente alternativa para extender la vida útil de la MJTX hasta 45 días con inocuidad y buena conservación de calidad.

6.2. Ozonización (O₃)

La ozonización demostró ser efectiva para la inactivación microbiana. Una exposición de 5 min fue suficiente para eliminar *L. innocua* y la microbiota nativa, mientras que *S. cerevisiae* requirió 12 min, sin recuperación en 35 días de refrigeración. Los parámetros fisicoquímicos (pH, sólidos solubles, acidez) se mantuvieron estables por aproximadamente 25 d. Sin embargo, el poder oxidante

del ozono impactó negativamente el color del jugo y redujo considerablemente los compuestos nutraceuticos desde el momento de la aplicación y durante el almacenamiento. Aunque microbiológicamente eficaz, la ozonización requiere ajustes para minimizar la degradación de la calidad sensorial y nutricional.

6.3. Combinación de Ozono+HHP

La combinación de 1 min de ozono seguido de 230 MPa/5 min de HHP inactivó eficazmente *L. innocua* durante 45 d. Este es un hallazgo relevante en términos de optimización de procesos para enteropatógenos específicos, debido a que se aplicó un nivel de presión inferior a la que se requirió para uso de forma individual (406 MPa) en la misma cepa. No obstante, esta sinergia presentó limitaciones importantes: no controló el crecimiento de la microbiota nativa. Aunque el pH, los sólidos solubles y la acidez se mantuvieron estables, el tratamiento afectó negativamente los parámetros de color de forma perceptible después de 15-20 d y provocó una reducción significativa en los compuestos nutraceuticos a partir del mismo periodo. La diferencia sensorial fue percibida, pero no mejoró la preferencia del consumidor. La combinación ozono+HHP es prometedora para la inactivación de *L. innocua* con parámetros más suaves, pero necesita optimización para preservar la calidad general y controlar la microbiota nativa en el jugo de tuna mezclado con jugo de xoconostle.

6.4. Consideraciones finales

De las tecnologías evaluadas, las HHP (406 MPa/5 min) individualmente ofrecieron el mejor balance entre la extensión de la vida útil microbiológica y la preservación de la calidad fisicoquímica, nutraceutica y sensorial del jugo de tuna y xoconostle. Si bien la combinación de métodos no térmicos busca sinergias beneficiosas, la configuración ozono+HHP estudiada, aunque efectiva contra *L. innocua* a presiones reducidas, comprometió otros aspectos cruciales de la calidad del jugo. La ozonización por sí sola, aunque potente microbiológicamente, resultó demasiado agresiva para los delicados compuestos del color y los nutraceuticos de la MJTX. La investigación subraya la importancia de seleccionar

y ajustar cuidadosamente los parámetros de procesamiento no térmico en función del producto y los objetivos de calidad específicos.