



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**CALIDAD Y ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA DEL JUGO DE TUNA
BLANCA (*Opuntia albicarpa*), OZONIZADO Y PRESURIZADO**

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS:

EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

PRESENTA:

VIDAL MÉNDEZ FRANCISCO



Enero de 2015

Chapingo, Texcoco Estado de México.



CALIDAD Y ESTABILIDAD DEL JUGO DE TUNA BLANCA (*Opuntia albicarpa*), OZONIZADO Y PRESURIZADO

Tesis realizada por Francisco Vidal Méndez bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptado como requisito para obtener el grado de:

MAESTRO EN:

CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA

DIRECTOR:



DR. J. JOEL CORRALES GARCÍA

CODIRECTOR:



DRA. MA. ROSARIO GARCÍA MATEOS

ASESOR:



DRA. MA. CARMEN YBARRA MONCADA

Chapingo, Texcoco Estado de México, Enero 2015

DEDICATORIA

A mi mamá Ángela, A mis hermanos, Naty, Mimi, Cande, lito Robertín... Por todo el amor, cariño y apoyo que me han brindado.

A mis amigos Julieta, Heidi, Alfredo, por su bonita amistad y a esta persona especial que ha estado a mi lado y que me ha brindado su cariño y apoyo... Angélica

AGRADECIMIENTOS

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haber financiado mis estudios de posgrado.

* A la Universidad Autónoma Chapingo por abrirme sus puertas al conocimiento y darme la oportunidad de cumplir una meta más en mi vida profesional.

* Al Dr. Joel Corrales por su paciencia y ayuda invaluable en la realización de este trabajo de investigación.

* A la Dra. Rosario García Mateos por su tiempo y gran ayuda en la realización y término de este trabajo.

* A la Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada por su apoyo y buena disposición.

*A Departamento de Alimentos y Biotecnología Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) en especial al Dr. Alberto Tecante y a la I.A. Mariana Ramírez por su valiosa disposición y ayuda.

DATOS BIOGRÁFICOS

Francisco Vidal Méndez, nació el 3 de mayo de 1989 en Tuxtepec, Oaxaca. Originario de Isla San Miguel Soyaltepec, Estado de Oaxaca. De 2004-2011 realizó sus estudios en la Universidad Autónoma Chapingo (UACH). En 2012 obtuvo el título de Ingeniero Agroindustrial con el tema de tesis “Estudio de Factibilidad Técnico-Económico para la Instalación de un Molino de Trigo en Jilotepec, Estado de México. En 2012 ingresa a la Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria del Departamento de Ingeniería Agroindustrial.

**Calidad y estabilidad microbiológica del jugo de tuna blanca (*Opuntia albicarpa*),
ozonizado y presurizado**
**Quality and microbiological stability of white cactus pear juice (*Opuntia albicarpa*),
ozonated and pressurized**

Vidal M.,F¹.; Corrales G., J.J².

RESUMEN

Los tratamientos térmicos son los métodos usados convencionalmente por la industria alimentaria para inactivar microorganismos y enzimas, estos últimos aceleran la descomposición natural de los productos perecederos y ponen en peligro al consumidor. Sin embargo, las desventajas de los tratamientos térmicos, son exponer los alimentos a elevadas temperaturas, esto es perjudicial en los atributos de calidad de los alimentos, por lo cual estos tratamientos no se aplican en jugo de tuna debido a la alta termolabilidad de los compuestos químicos responsables de su aroma y sabor. El de la presente investigación fue evaluar métodos no térmicos para estabilizar microbiológica, sensorial, y nutracéuticamente el jugo de tuna. El jugo se obtuvo manualmente, se sometió a tratamientos de presurización (100-400 MPa·5 min.) y Ozonización (180 mg de O₃·hr⁻¹ por 3,6 y 8 min). Se cuantificó los efectos letales en las bacterias mesófilas aerobias (BMA), coliformes, *Staphylococcus aureus*, y la presencia de hongos y levaduras, así como las características fisicoquímicas (pH, actividad antioxidante, SST, acidez). Hubo reducción significativa de (6.5 log₁₀UFC mL⁻¹ a 2.9 log UFC mL⁻¹) de BMA siendo el nivel 400 y ozonizado a 8 min los tratamientos que redujeron significativamente el log₁₀UFC mL⁻¹, el ozonizado a 8 min de exposición logró eliminar totalmente el log₁₀UFC mL⁻¹ de *S. aureus*. De igual manera tuvo efecto positivo en la ausencia de los hongos y levaduras, sin embargo redujo la actividad antioxidante de 4.66 a 1.33 mg ET ·100 mL m. Acidez de 5.65 a 2.77 % y los parámetros de color (136.26 a 126.32) y chroma (6.39 a 5.15). **Palabras clave:** capacidad antioxidante, unidades formadoras de colonias (log UFC), no climatéricos.

Tesista¹

Director de tesis²

ABSTRACT

Heat treatments are methods conventionally used by the food industry to inactivate microorganisms and enzymes. The latter accelerate natural decomposition of perishable products and endanger the consumer. However, thermal treatments have the disadvantage of exposing food to high temperatures that are detrimental to quality attributes of the food. For this reason, these treatments are not applied to cactus pear juice due to the high thermolability of the chemical compounds responsible for its aroma and flavor. The objective of this study was to evaluate non-thermal methods for stabilizing microbiological, sensory, and nutraceutical attributes of cactus pear juice. Juice obtained manually was subjected to pressurization treatment (100-400 MPa · 5 min) and ozonation (180 mg O₃ · 3.6 hr⁻¹ and 8 min). Lethal effects on aerobic mesophilic bacteria (AMB), coliforms, *Staphylococcus aureus*, and fungi and yeasts, as well as the physicochemical characteristics (pH, antioxidant activity, TSS, acidity) were quantified. Significant reduction (6.5 log₁₀cfu mL⁻¹ to 2.9 log₁₀CFU mL⁻¹) of AMB at level 400 and ozonated 8 min significantly reduced the log₁₀CFU mL⁻¹. The 8 min ozonated exposure succeeded in completely eliminating the logUFC mL⁻¹ of *S. aureus*. Similarly, it had positive effects on the absence of fungi and yeasts but reduced antioxidant activity (4.66- 1.33 mg ET ·100 mL m.), acidity 5.65- 2.77 %, and color parameters hue (136.26- 126.32) and chroma (6.39 -5.15). **Keywords:** antioxidant capacity, colony forming units (log₁₀CFU), perishable.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Fisiología de la tuna	4
2.2 Países productores de tuna en el mundo	4
2.3 Países consumidores	5
2.4 Distribución geográfica de la tuna en México	5
2.5 Variedades.....	6
2.6 Canales de comercialización.....	7
2.7 Composición química	10
2.8 Descripción de algunos parámetros de calidad en la tuna.....	10
2.9 Patrón de respiración.....	11
2.10 Maduración y cosecha.....	12
2.10.1 Maduración	12
2.10.2 Cosecha	12
2.11 Desespinado	13
2.12 Encerado	14
2.13 Selección y empaque.....	14
2.14 Almacenamiento y transporte	14
2.15 Tecnología postcosecha	15
2.16 Fisiología postcosecha de la tuna.....	15
2.17 Industrialización de la tuna	16
2.17.1 Jugo de tuna	17
2.18 Desarrollo histórico de la tecnología de la alta presión	18
2.18.1 Unidad de medida de las altas presiones hidrostáticas.....	21
2.18.2 Sistemas y métodos de presurización.....	22

2.18.3 Métodos de presurización	27
2.19. Factores críticos de proceso	30
2.20 Tipo de microorganismo	31
2.21 Inactivación de microorganismos	31
2.22 Efecto de las altas presiones en las células	35
2.23 Factores físicos-químicos en la inactivación de microorganismos por la presión	38
2.24 Efecto de las altas presiones en levaduras y hongos	39
2.3 Aplicaciones del ozono en la industria alimentaria.....	41
2.4 Breve reseña histórica del ozono	41
2.5 Efectos del ozono.....	42
2.6 Evaluación sensorial	43
2.61 Calidad sensorial de alimentos presurizados.....	44
2.7 Combinación de la alta presión con otros tratamientos	45
2.8 Aplicaciones comerciales.....	46
3 JUSTIFICACIÓN	48
4 OBJETIVOS	49
5 MATERIALES Y MÉTODOS	50
5.1 Fase experimental	50
5.1.1 Material vegetal.....	50
5.1.2 Extracción del jugo de tuna.....	50
5.1.3 Tratamientos y unidades experimentales	51
5.2 Variables respuesta	53
5.2.1 Parámetros microbiológicos.....	53
5.2.2 Presencia o ausencia de coliformes totales	56
5.2.3 Presencia o ausencia de hongos y levaduras	57
5.3 Variables físicos y químicos	57
5.3.1 Color	57
5.3.2 pH.....	58
5.3.3 Sólidos solubles totales	58
5.3.4 Acidez titulable	58
5.3.5 Actividad antioxidante	59
5.4 Evaluación sensorial del jugo natural y del jugo ozonizado	60

5.5 Análisis estadístico.....	60
6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
6.1 Parámetros microbiológicos.....	62
6.1.1 Bacteria mesófilas aerobias (BMA)	62
6.1.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	66
6.1.3 Coliformes totales	70
6.1.4 Hongos	73
6.1.5 Levaduras.....	74
6.2 Parámetros fisicoquímicos	77
6.2.1 Sólido solubles totales (SST), pH, AT (acidez titulable)	77
6.2.2 Color	78
6.2.3 Actividad antioxidante	79
6.3 Evaluación sensorial del jugo natural sin tiempo de ozonizado y jugo tratado durante 3, 6 y 8 minutos exposición con ozono.....	82
6.3.1 Aceptación global	83
7 CONCLUSIONES	85
8 LITERATURA CITADA	87
Anexo 1. FORMATO PARA EVALUAR LA ACEPTABILIDAD DE ATRIBUTOS DEL JUGO DE TUNA.....	98
Anexo 2. FORMATO PARA EVALUAR LA ACEPTABILIDAD GLOBAL DEL JUGO DE TUNA	99

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
Cuadro 1.	Zonas productoras de tuna en México.	6
Cuadro 2.	Variedades de tuna producidas en México.	6
Cuadro 3	Composición de la pulpa y cáscara de la tuna.	10
Cuadro 4.	Efecto de las altas presiones en algunos alimentos.	20
Cuadro 5.	Sensibilidad de algunos microorganismos patógenos (formas vegetativas o esporuladas) a la alta presión.	33
Cuadro 6.	Condiciones de tratamientos de las altas presiones para algunos microorganismos.	37
Cuadro 7.	Algunos alimentos comerciales tratados a altas presiones.	46
Cuadro 8	Estructura de los tratamientos obtenidos y diluciones consideradas para el análisis microbiológico	54
Cuadro 9.	Tratamientos ensayados	61
Cuadro 10.	Número promedio de unidades formadoras de colonias por mL ($\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) de bacterias mesófilas aerobias en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado con diferentes niveles alta presión hidrostática y diferentes tiempos de ozonizado.	64
Cuadro 11.	Número promedio de unidades formadoras de colonias por mL ($\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) de <i>Staphylococcus aureus</i> en jugo (recién extraído) de tuna blanca, tratado con diferentes niveles alta presión hidrostática y diferentes tiempos de ozonizado.	68
Cuadro 12.	Tabla de contingencia para determinar la presencia o ausencia de coliformes totales en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado con diferentes niveles de alta presión y diferentes tiempos de ozonizado.	72
Cuadro 13.	Tabla de contingencia para determinar la presencia o ausencia de levaduras en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado con de diferentes niveles de alta presión y diferentes tiempos de ozonizado.	76

Cuadro 14.	Parámetros fisicoquímicos pH, SST y acidez titulable (% de ácido cítrico, AT) en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado a diferentes tiempos de Ozonizado.	78
Cuadro 15.	Parámetros de color L, a, b, Hue (ángulo de tono) y cromaticidad en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado a diferentes tiempos de ozonizado.	79
Cuadro 16.	Miligramos equivalentes de trolox por cada 100 mL de muestra y porcentaje (%) de inhibición en jugo (recién extraído) de tuna blanca a diferentes tiempos de ozonizado.	80
Cuadro 17.	Medias de aceptación por atributos (color, sabor, aroma) y aceptación global en jugo natural (recién extraído) de tuna (TEST) y del jugo (recién extraído) tratado a diferentes tiempos de ozonizado (3, 6 y 8 min) empleando una escala hedónica.	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
Figura 1.	Canales de comercialización de tuna para el mercado nacional.	8
Figura 2.	Canal de comercialización de tuna para exportación.	9
Figura 3.	Generación de alta presión por compresión indirecta del medio de presión.	23
Figura 4.	Esquema de un sistema alimenticio de altas presiones.	24
Figura 5.	Ilustración esquemática de un equipo discontinuo de alta presión para procesamiento productos alimenticios empacados.	26
Figura 6.	Generación de alta presión por compresión directa (a) e indirecta (b) de un medio de transmisión de presión	28
Figura 7.	Método de presurización por intensificador o reforzador (a). Método de presurización a través de un pistón (b)	30
Figura 8.	Mondado de tuna (a). Extracción del jugo con ayuda de un extractor de jugo casero (b).	50
Figura 9.	Obtención de jugo con pulpa (a). Filtrado de jugo (b).	51
Figura 10.	Envasado del jugo (a). Aplicación de las altas presiones (b).	52
Figura 11.	Ozonizado del jugo de tuna (a). Equipo de generador de ozono (b).	52
Figura 12.	Homogenización de las muestras (a). Diluciones por muestra (b).	54
Figura 13.	Siembra en placa de BMA y <i>Staphylococcus aureus</i> .	56
Figura 14.	Muestras inoculadas en medio caldo Lauril sulfato con MUG	56
Figura 15.	Determinación de acidez titulable.	58
Figura 16.	Unidades formadoras de colonias por mL ($\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) de bacterias mesófilas aerobias en jugo (reciente extraído) de tuna blanca tratada con diferentes niveles: (a) de alta presión 100, 200, 300 y 400 MPa y (b) ozonizado durante diferentes tiempos (3, 6 y 8 min).	65

Figura 17.	Unidades formadoras de colonias por mL ($\log_{10}$ UFC mL ⁻¹) de <i>Staphylococcus aureus</i> en jugo (reciente extraído) de tuna blanca tratada con diferentes niveles: (a) de alta presión 100, 200, 300 y 400 MPa y (b) ozonizado durante diferentes tiempos 3, 6 y 8 min	69
Figura 18.	Detección de gas (presencia de coliformes) en tubos Durham	73
Figura 19.	Miligramos equivalentes de trolox por cada 100g de muestra (mg ET 100g ⁻¹ de muestra) en jugo (recién extraído) de tuna blanca ozonizado durante (3, 6 y 8 min).	81
Figura 20.	Porcentaje de inhibición correspondiente en los mg ET 100 g ⁻¹ de muestra en jugo (recién extraído) de tuna ozonizado durante (3,6 y 8 min).	82

1. INTRODUCCIÓN

El nopal configura una de las imágenes que caracteriza con propiedad a la cultura mexicana. México es el mayor productor del mundo del cultivo de nopal tunero, posee la mayor cantidad de variedades, ofreciendo tunas amarillas, blancas, rojas y anaranjadas, basadas en la riqueza de su material genético, lo extenso de sus recursos agroclimáticos y la tradición del cultivo y uso de esta planta por los campesinos mexicanos (Mondragón *et al.*, 2009).

La actividad metabólica de las tunas en postcosecha se considera baja por tratarse de frutos no-climatéricos. Sin embargo, sufren deterioro causado principalmente por los daños, lesiones, infecciones patológicas ocasionadas durante su corte y manejo postcosecha y las fisiopatías o enfermedades fisiológicas (daños por frío) causadas por la frigoconservación cuando las bajas temperaturas y los tiempos de exposición exceden los límites biológicos de cada especie y variedad (Flores *et al.*, 1995b).

Existe también pérdida por sobreproducción, debido a los bajos precios del mercado y las pérdidas se dan principalmente por falta de consumo alternativo como jugos de tuna (Flores *et al.*, 1995a).

Desde tiempos prehistóricos, el hombre ha desarrollado distintos sistemas para conservar los alimentos y lograr que estos guarden sus propiedades nutrimentales. Primero utilizó

ceniza, miel y sal para evitar el deterioro de las bayas y raíces. Más tarde, aprendió a utilizar la desecación y el ahumado, así como la nieve y el frío de las cavernas para guardar los alimentos y consumirlos en épocas de escasez (Del Pozo *et al.*, 2007).

Más tarde, en 1850, Pasteur demostró que los microorganismos eran los principales responsables del deterioro de los alimentos y que dicha alteración podía evitarse mediante un tratamiento térmico. Este proceso, conocido como pasteurización, se sigue utilizando en la actualidad en muchos alimentos. Los esfuerzos realizados en los últimos años han sido dirigidos al desarrollo de tratamientos térmicos que garanticen la estabilidad y seguridad de los alimentos sin afectar a su calidad. Con este objetivo se han diseñado los tratamientos de ultra pasteurización térmica por sus siglas en inglés (UHST Ultra High Temperature Short Time), seguidos de un envasado aséptico (Del Pozo *et al.*, 2007).

Estos procesos, que permiten el tratamiento de alimentos líquidos en tan solo unos segundos a temperaturas de hasta 150 °C, son menos agresivos para el valor nutritivo y las características sensoriales de los alimentos. Sin embargo, esto no ha sido suficiente ya que en la actualidad la demanda se enfoca hacia alimentos funcionales y productos que conserven su calidad nutrimental, organoléptica y sensorial con una degradación mínima o nula. En los últimos años también se han generado necesidades de procesamiento de nuevos productos que hasta hace poco resultaban imposibles de encontrar en el mercado (Del Pozo *et al.*, 2007).

La necesidad de mantener la calidad sensorial de un alimento ha tomado mayor importancia en la búsqueda de nuevas alternativas de tratamientos menos drásticos, por

lo que para esta investigación se propone el uso de altas presiones (presurización) y la ozonificación, técnica muy común usada en la purificación de agua para consumo humano. Cao *et al.* (2011) considera que el uso de la alta presión hidrostática, mejor conocida como HHP por sus siglas en inglés (High Hydrostatic Pressure), es la técnica más viable desde el punto de vista comercial. Dentro de las nuevas tecnologías, únicamente la HHP ha demostrado la inactivación de esporas y de algunas enzimas; de esta manera se mantiene en el producto tratado, sus características originales, como frescura, sabor, olor, color, debido a que las moléculas pequeñas como compuestos volátiles, pigmentos, vitaminas, y otros compuestos asociados a la calidad sensorial, nutrimental y nutracéutica no son afectados (Del Pozo *et al.*, 2007). El ozono es un potente agente germicida capaz de eliminar bacterias, virus, hongos y quistes parásitos, todo ello sin provocar la formación de compuestos tóxicos ni dejar residuos, puesto que se descompone espontáneamente en Oxígeno (Galindo y Lissette, 2006). La tuna juega un papel muy importante para los mexicanos, es un símbolo de identidad y cultura, el nopal se encuentra en la bandera que es nuestro símbolo patrio; por otra parte el considerar su conservación y diversificación de la producción al tratar de elaborar un producto como lo es el jugo de tuna, se pretende que al consumirse, se evoque su origen, se conserven todas las características de calidad: nutricional, sensorial y fisicoquímica, que pierde fácilmente con cualquier tratamiento térmico.

2. MARCO TEÓRICO

La familia *Cactaceae* es endémica del continente americano, lo que significa que antes que el hombre distribuyera plantas de esta familia, no existía en Europa, África, Asia ni en Oceanía (Corrales y Flores, 2003).

El fruto de la tuna así como el nopal verdura (nopalito) han sido alimentos tradicionales en la dieta del pueblo mexicano desde la antigüedad. En la postcosecha de tunas y nopalitos se incluyen dos grandes aspectos que siempre van relacionados: la fisiología y la tecnología. La primera aborda aspectos del funcionamiento biológico de los productos en postcosecha (cambios morfológicos, bioquímicos y metabólicos); la segunda tiene que ver con el manejo tecnificado de los productos, considerando su fisiología, su naturaleza perecedera y, además, las exigencias comerciales para mantener al máximo posible sus atributos de calidad al mínimo costo (Corrales, 2000).

2.1 Fisiología de la tuna

La fisiología postcosecha de la tuna es un proceso que da continuidad a los procesos fisiológicos de precosecha, es decir, a la fisiología del desarrollo del fruto. El fruto de tuna deriva de un ovario ínfero, unilocular, con placentación parietal (Corrales, 2000).

2.2 Países productores de tuna en el mundo

Si bien es cierto que ni el número de productores que aprovechan comercialmente al nopal y ni las superficies de plantaciones comerciales resultan tan significativas como en

otras cadenas productivas en el contexto agropecuario del país, si lo es la producción que aportan.

En el mundo son cada día más los países que están desarrollando el cultivo del nopal tunero, destacando entre ellos: México, Chile, Argentina, Bolivia, Perú, Colombia, Estados Unidos, Sudáfrica, Marruecos, Argelia, Egipto, Jordania, Pakistán, Israel, Grecia, Italia, España y Portugal (Muñoz, 2009).

2.3 Países consumidores

Debido a la globalización el mercado internacional del consumidor de tuna está abierto a cualquier país, pero esto hace que se demanden productos de excelente calidad, que para el caso de México, son pocos los estados que poseen la infraestructura y los medios para poder producir bajo estas características. El principal destino de las exportaciones de México es el mercado estadounidense, principalmente con destino a los connacionales, en los últimos años los productores mexicanos han mostrado un gran interés en el mercado oriental en específico Japón (Muñoz, 2009).

2.4 Distribución geográfica de la tuna en México

Los nopales tuneros se cultivan principalmente en las zonas áridas del altiplano, donde la economía de muchos pobladores depende en gran medida de la tuna. En dichas poblaciones, se consume o se vende la fruta silvestre recolectada o producida. Existen tres zonas productoras de tuna en México, constituida a su vez por nueve estados (Cuadro 1).

Los productores de las regiones Sur y Centro no dependen al 100% de una variedad, algunas huertas producen la burrona, cristalina y rojo pelón, además de las recomendadas para el estado de Puebla.

Cuadro 1. Zonas productoras de tuna en México.

Zona	Estados productores
Centro-Norte	Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco, Guanajuato, Aguascalientes
Centro	Hidalgo, Estado de México
Sur	Puebla y Oaxaca.

Fuente: Mondragón (1994).

2.5 Variedades

En el Cuadro 2 se muestran las principales variedades de nopal tunero presentes en México. La mayoría se encuentran clasificadas con los nombres regionales. Las variedades de nopal cultivadas para producir tuna, se desarrollan con la intervención del hombre durante miles de años en los agostaderos y los huertos familiares (Corrales, 2003).

Cuadro 2. Variedades de tuna producidas en México.

Estado productor	Variedades de tuna
Zacatecas	Burrona, Cristalina, Rojo pelón, Rubí, Reyna, Torreoja, Amarilla, Monteza, Amarilla Huesona, Picochulo y Cardón.
Jalisco	Torreojo, Amarilla Huesona, Picochulo y Cardón, Gavia, Rojo pelón, Rubí, Reyna.
San Luis Potosí	Miquihuana, Cardón, Cristalina, Torreoja, Morada, Picochulo.
Aguascalientes	Cardón
Guanajuato	Reyna, Rojo pelón, Cardón.
Querétaro	Esmeralda y Cardón.
Durango	Cardón
Hidalgo	Alfajayucan
Puebla	Villanueva
Tamaulipas	Miquihuana

Fuente: Elaboración propia con datos SIAP (2004).

2.6 Canales de comercialización

La comercialización de la tuna es sin duda la fase más importante de toda la cadena de producción-consumo, pues generalmente es aquí donde se establece la rentabilidad del producto (Flores *et al.*, 1995).

La forma de comercialización de la tuna en México es variada, en algunas regiones como Puebla, existen productores que son propietarios de locales donde comercializan su producto, y en algunos casos estos mismos compran la fruta a otros productores de la misma región para venderla en los mercados de Chiapas, Oaxaca, Guerrero, Veracruz, Jalisco, Nuevo León y Guanajuato (Corrales y Flores, 2003). En la comercialización de la tuna se pueden distinguir dos canales bien diferenciados entre sí: el mercado interno y el mercado externo (Figura 1). En el mercado interno los canales de comercialización más frecuentes identificados para la tuna comienzan con un acopiador que normalmente posee los equipos para desespinar y empacar el producto. Ocasionalmente algunos productores cuentan con su propia desespinaadora. Los mayoristas o transportistas generalmente adquieren la fruta desespinaada y empacada para venderla a las centrales de abastos de los grandes centros de consumo (Flores *et al.*, 1995).

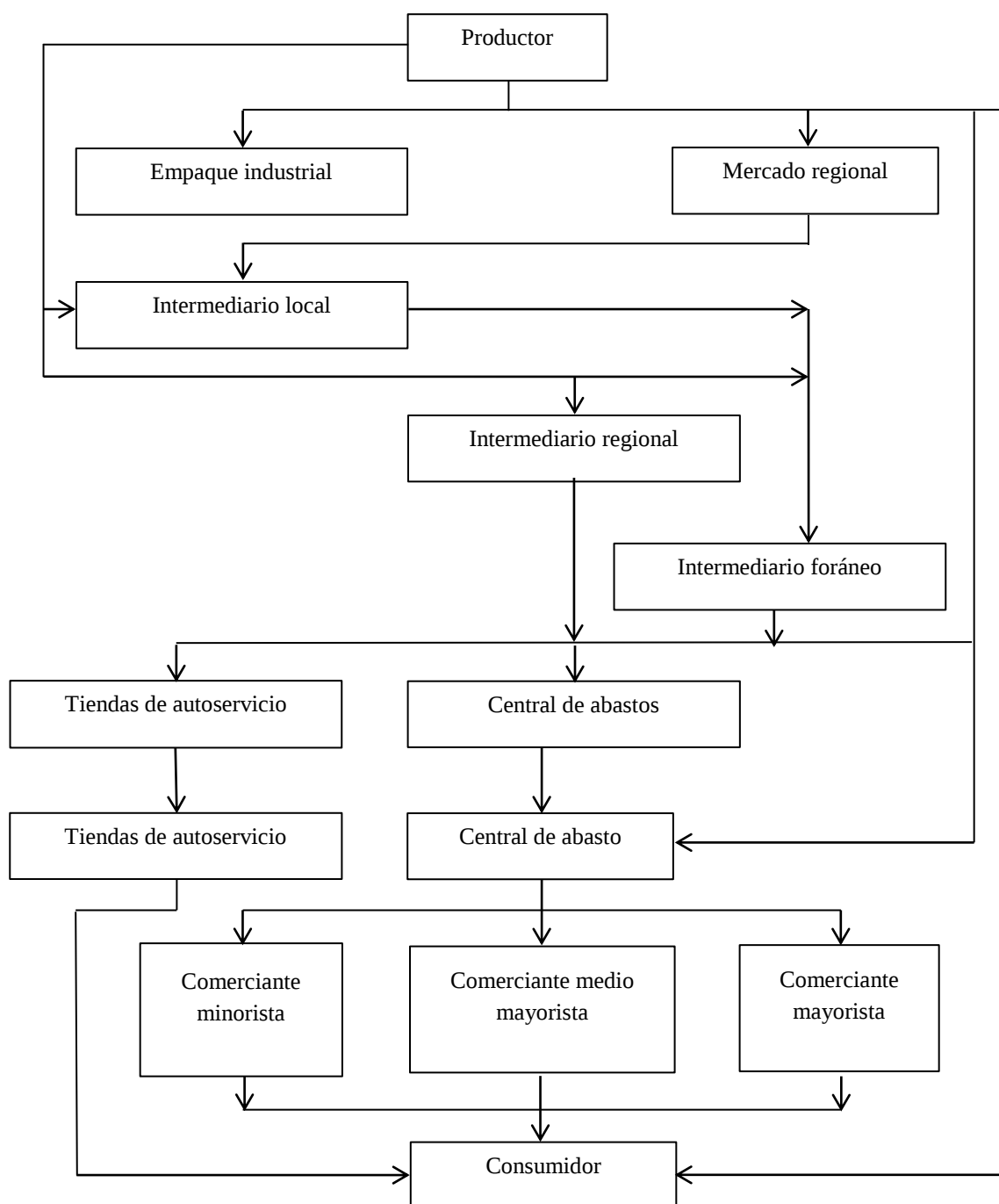


Figura 1. Canales de comercialización de tuna para el mercado nacional.

Fuente: ASERCA, 1999.

La comercialización de tuna se realiza de diferentes formas complementarias: a) en ocasiones entregan en plantas para mercado nacional o exportación. b) la mayoría son entregados en bodegas de los mercados nacionales o exportación o bien en las bodegas de las grandes cadenas de tiendas de autoservicio (Figura 2). El mercado externo es el siguiente: en el proceso de exportación, los agentes más importantes en el sector interno son el productor y el exportador, en el sector externo el receptor (bróker) y el mayorista, junto a estos existen una serie de agentes denominados exportadores indirectos cuyos aportes son principalmente en lo referente a transporte y embalajes, en forma indirecta intervienen agentes como son el Banco de México de Comercio Exterior (BANCOMEXT), agentes aduanales y otros (Flores *et al.*, 1995 y ASERCA, 1999).

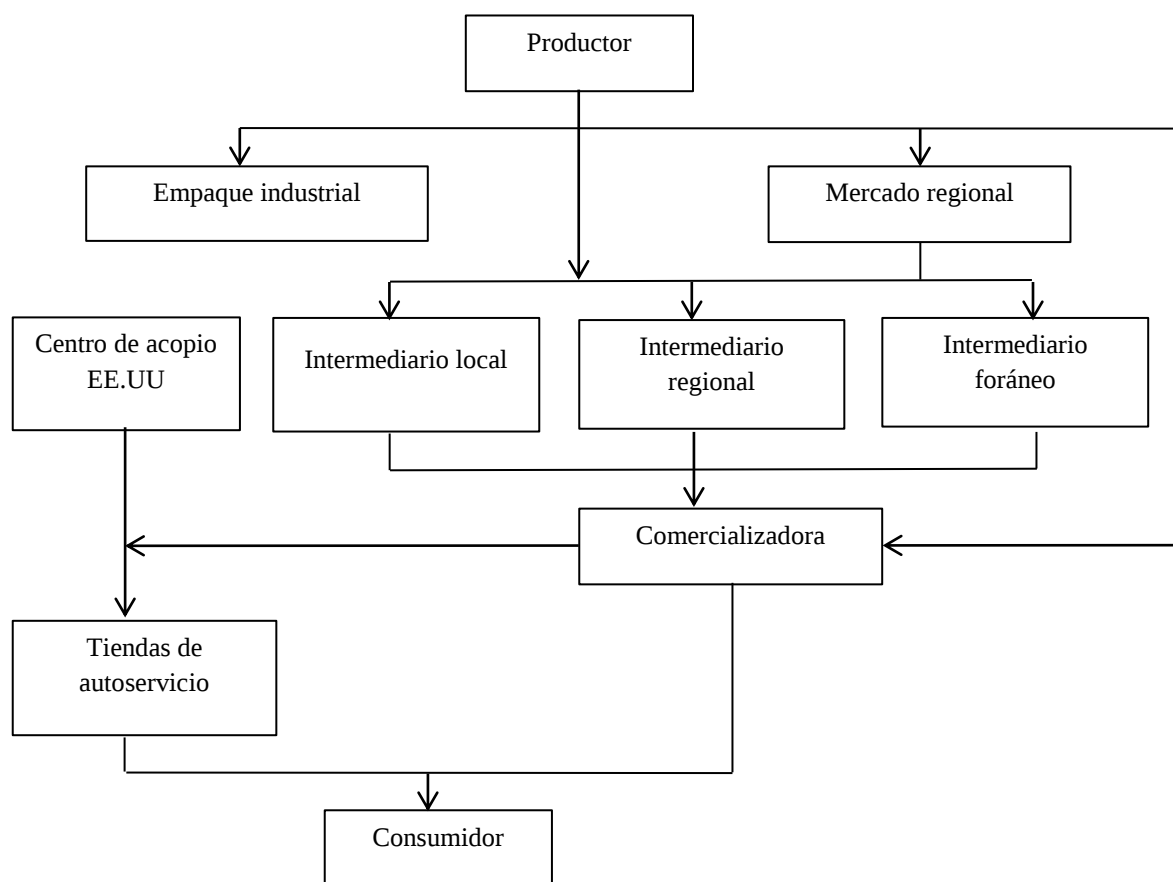


Figura 2. Canal de comercialización de tuna para exportación. Fuente: ASERCA, 1999.

2.7 Composición química

La tuna contiene aproximadamente el 83% de agua y el 10% se sucrosa, el resto es ácido tartárico, ácido cítrico, mucílago y otros mucopolisacáridos. La semilla contiene aceite, ácidos grasos, albumen y almidón. En materia seca, la mayor composición de la pulpa y de la piel son alcohol y carbohidratos solubles. La pulpa contiene glucosa 35% y fructosa 29%, mientras que la cáscara y semilla es de 5.1% y 8.3% y 11.8% respectivamente. Las fibras de la pulpa son ricas en pectina (14.4%), la cáscara y las semillas son ricas en celulosa (2.09%) y contiene 3.4% de potasio (Muñoz, 2009). En el Cuadro 3 se muestran la composición de la pulpa y cáscara de la tuna.

Cuadro 3. Composición de la pulpa y cáscara de la tuna.

Características	Pulpa	Cáscara
pH	6.04 ± 0.34	5.52 ± 0.14
Acidez (% ácido cítrico)	0.06 ± 0.05	0.17
Sólidos solubles (°Brix a 20 °C)	13.87 ± 1.37	9.96 ± 2.36
Viscosidad (mPa s)	129.47 ± 55.6	--
Glucosa(g · 100g ⁻¹ materia seca)	7.19 ± 1.07	2.17 ± 1.36
Fructosa (g · 100g ⁻¹ materia seca)	6.15 ± 1.86	1.8 ± 1.12
Sacarosa (g · 100g ⁻¹ materia seca)	0.08 ± 0.08	0.32 ± 1.18
Glucosa·fructosa ⁻¹	1.23 ± 0.23	1.37 ± 0.57

Fuente: Sáenz (2009).

La calidad de los frutos depende de varios factores entre ellos se encuentran principalmente el cultivar y los manejos pre-cosecha que se le dan al cultivo, las condiciones ambientales y factores fisiológicos. El potencial de crecimiento del fruto está determinado por la efectiva polinización (Barbera *et al.*, 1992).

2.8 Descripción de algunos parámetros de calidad en la tuna

Madurez. La madurez de la tuna está determinada por el contenido de sólidos solubles totales (°Brix) el cual no debe ser menor a 12 % en todas las variedades comerciales y

se verifica de acuerdo a la metodología establecida por las normas mexicanas (NMX-FF-015).

Color. El color de la tuna deber ser correspondiente a tipo comercial, clasificándose de la siguiente manera:

Tuna blanca: Debe presentar en la cáscara un color verde-amarillo claro que cubra como mínimo el 25% de su superficie al momento de su cosecha; además que el receptáculo de las frutas debe ser plano.

Tuna amarilla: El fruto debe presentar en su cáscara un color anaranjado pálido claro que cubre como mínimo el 25% de su superficie al momento de la cosecha, además el receptáculo debe estar ligeramente hundido.

Tuna anaranjada: El fruto debe presentar en su cáscara un color anaranjado que cubra como mínimo el 25% de su superficie al momento de la cosecha.

Tuna roja: El fruto debe presentar en su cáscara un color rojo que cubra como mínimo el 25% se su superficie al momento de su cosecha, además que el receptáculo del fruto debe estar hundido.

2.9 Patrón de respiración

La tuna presenta un patrón respiratorio típico de un fruto no climatérico, tal como lo indican algunos autores (Cantwell, 1995; Corrales *et al.*, 1997). Las variedades sin semilla presentan consistentemente mayores tasas de respiración que las normales. Esto indica que, las tunas sin semilla presentan un metabolismo más activo (Kader, 2002) y tendrían menor vida de anaquel.

2.10 Maduración y cosecha

2.10.1 Maduración

La maduración es una serie de procesos que ocurren desde las últimas etapas de crecimiento y desarrollo hasta las primeras etapas de senescencia, dando como resultado características estéticas y de calidad, debido a cambios en composición química, color, textura y otros atributos sensoriales (Kader, 2005).

Los frutos climatéricos como la tuna (Kader, 2002), acumulan directamente monosacáridos durante su crecimiento y por tanto, durante la maduración no existen incrementos significativos de su tasa respiratoria; sin embargo, al igual que los frutos climatéricos sufren cambios de manera más lenta, estos cambios son: acumulación de azúcares y de sólidos solubles, reducción de la concentración de ácidos orgánicos, cambio de color y reblandecimiento de los tejidos que ocurren cuando el fruto está aun vascularizado con la planta. Estos frutos no responden a tratamientos de etileno excepto en términos de degradación de clorofila y tienen que ser cosechados completamente maduros para alcanzar el mejor sabor y dulzor (Kader, 2005).

El color es consecuencia de los pigmentos presentes en la tuna; los pigmentos verdes en su mayoría son clorofila, principalmente del tipo a y b ubicada en los tilacoídes de los cloroplastos (Inglese *et al.*, 2002).

2.10.2 Cosecha

La cosecha de la tuna se lleva a cabo manualmente, para lo cual existen dos modalidades: a) corte con giro o torsión del fruto y b) corte auxiliado con cuchillo, la tuna se daña menos cuando se corta con cuchillo (Corrales, 2003). La época de cosecha

que se reporta es a partir del marzo, es cuando la fruta comienza a tomar una coloración amarilla y termina en agosto; en la zona centro es de julio a septiembre; y en la región centro-norte, desde finales de agosto hasta principios de noviembre (Muñoz, 2009).

La cosecha para el mercado nacional normalmente se realiza arrancando la fruta mediante una torsión previa. Aunque esta práctica provoca daños en los tejidos permitiendo la incidencia de bacterias o virus que disminuyen la vida de anaquel del producto. Después de la cosecha las tunas se van recolectando en recipientes de campo que generalmente son botes de lámina o cubetas de plástico. Las tunas deben depositarse en estos recipientes con todo cuidado, porque pueden sufrir daño mecánico por impacto (Corrales, 2003).

Para el mercado de exportación, la cosecha se realiza cortando la fruta en la base, con herramientas como lo son cuchillos, permitiendo mayor tiempo de vida de anaquel, por lo que se considera la práctica más recomendada.

2.11 Desespinado

Consiste en remover los aguates del fruto, lo que resulta absolutamente necesario para poderlo comercializar. Esta operación se puede realizar en forma manual o mecánica (Corrales, 2003). El desespinado mecánico (cepillado) de la fruta afecta adversamente la conservación de la calidad e incrementa la tasa de pérdida de agua y las pudriciones (Inglese *et al.*, 2002).

En algunas regiones productoras del centro y sur de México, esta operación aún se realiza en forma manual, barriendo al fruto con ramas o escobas hasta eliminar totalmente los aguates, para ello, las tunas se extienden sobre el pasto y se dejan secar al

sol hasta que se evapora el rocío para facilitar la remoción de los aguates, de lo contrario, éstos se quedan adheridos al agua del rocío y al fruto (Corrales, 2003).

2.12 Encerado

Consiste en aplicar una emulsión de cera a las tunas, ya sea por inmersión o aspersión. Éstos se han venido utilizando desde hacía varios años con el propósito de controlar la pérdida de agua por transpiración, disminuir la intensidad de los cambios propios de la maduración y/o senescencia, como la respiración, y proporcionar un mejor aspecto visual a los frutos (mayor brillo), (Corrales, 2003).

2.13 Selección y empaque

La tuna se selecciona por tamaño y calidad, esta operación la deben realizar las personas que están suficientemente capacitadas para reconocer y separar frutos con daños mecánicos, podridos o malformados. La finalidad de empacar la tuna es proporcionarle las condiciones adecuadas para que durante el transporte al mercado no se dañe. La envoltura individual en papel muy delgado, pero resistente (tissue paper) da mayor protección y presentación al producto, además de que se conserva en mejores condiciones y disminuye el contagio de pudriciones ente los frutos (Corrales, 2003).

2.14 Almacenamiento y transporte

En la mayoría de las frutas y como en la tuna, el factor más importante para reducir el deterioro es la temperatura baja, sin embargo, la frigoconservación de tuna también puede causar daños por frío, dependiendo de algunos factores, como la temperatura, el tiempo de exposición y la variedad (Chávez y Saucedo, 1985).

2.15 Tecnología postcosecha

El manejo postcosecha que se le da a estos es y ha sido desde el principio muy sencillo y poco tecnificado, sin embargo, el esquema productivo ha crecido y los sistemas de distribución y de comercialización se han complicado: solamente algunas explotaciones comerciales en México (especialmente aquellas que comercializan sus productos en el mercado de exportación y la de otros países como Italia, Estados Unidos y Chile, han desarrollado tecnológicamente este manejo (Corrales, 2003). En la postcosecha de tuna se incluyen dos grandes aspectos que siempre van relacionados: la fisiología y la tecnología. La primera aborda aspectos del funcionamiento biológico de los productos en postcosecha (cambios morfológicos, bioquímicos y metabólicos): la segunda tiene que ver con el manejo tecnificado de los productos, considerando su fisiología, su naturaleza perecedera y, además, las exigencias comerciales para mantener al máximo posible sus atributos de calidad al mínimo costo (Corrales, 2003).

2.16 Fisiología postcosecha de la tuna

La fisiología postcosecha de la tuna es un proceso que da continuidad de los procesos fisiológicos de precosecha, es decir, a la fisiología del desarrollo del fruto. La tuna es un fruto no climatérico con baja respiración ($15\text{-}20 \text{ mL CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1}$ a 20°C) y baja velocidad de producción de etileno (Cantwell, 1995).

Los cambios postcosecha de las características internas como son el pH, acidez titulable, sólidos solubles, concentración de acetaldehído son bajos, así como el ácido ascórbico puede decrecer dependiendo de las condiciones de almacenamiento (Inglese *et al.*, 2002).

La firmeza de los frutos de tuna (medida en la cáscara, después de remover la cutícula) fue disminuyendo lentamente durante unos meses de almacenamiento a 20°C (Cantwell, 1986). En general, los cambios postcosecha en la firmeza de la tuna son menores a los que presentan otros frutos (Tucker, 1993). La pérdida de peso en postcosecha, esta, se debe principalmente a pérdida de agua por transpiración. En el caso de la tuna si esta llega a ser mayor del 8 % su aspecto se ve deteriorado por marchitez o arrugamiento, al grado de que los frutos dejan de ser atractivos para el consumidor (Corrales, 2003).

Corrales (2009) encontró en tunas variedad blanca, después de 10 días de almacenamiento al medio ambiente un incremento del ángulo de tono (Hue), y en variedades denominadas “anaranjadas” y “rojas” una disminución del ángulo de tono, es decir, que se tornaron más rojas.

La tasa de respiración que se presenta en la tuna en postcosecha es relativamente baja, en comparación con lo que se presenta otros frutos y además tiende a declinar, por lo que este fruto ha sido caracterizado como no climatérico (Cantwell, 1995).

La tuna cosechada en cualquiera de los estados de madurez, verde, intermedio o completamente maduro, produce niveles similares de CO₂ (Cantwell, 1995).

Cuando las frutas se remueven del almacenamiento refrigerado y se colocan en condiciones que simulan la exposición para la venta, usualmente se detecta incrementos agudos en las tasas de respiración y producción de etileno (Inglese *et al.*, 2002).

2.17 Industrialización de la tuna

Las principales razones de ser de la industrialización y del procesamiento de los productos perecederos son: conservarlos en buen estado por más tiempo para su

comercialización en mercados diversos y distantes; ampliar su disponibilidad a lo largo del año: regular los precios en casos de sobreoferta del mercado en fresco; dar valor agregado a los productos, generar empleos que beneficien y arraiguen a los productores. Por lo anterior, la industrialización de la tuna despierta mucho interés, dado que tecnológicamente es posible, además de que puede ser económicamente viable y rentable, dependiendo de algunos factores mercadotécnicos y organizacionales, especialmente por el beneficio que representa para los productores agrícolas marginales de las zonas desérticas (Corrales y Flores, 2003).

2.17.1 Jugo de tuna

El jugo de tuna es el producto que queda al eliminar de la tuna la cáscara, semilla y pulpa. El proceso consiste en eliminar la cáscara y la semilla en una despulpadora, donde se obtiene el jugo grueso, al que se le separan los sólidos mediante un proceso mecánico, quedando el jugo, el cual puede ser utilizado así o clarificado (Corrales y Flores, 2003).

En las empresas jugueras el proceso se realiza como sigue: la tuna se recibe desespina en cajas de madera o plástico, después se seleccionan, se le elimina la cáscara y se pasa al despulpador para la separación de semilla y obtener la pulpa y el jugo, mismos que se centrifugan, posteriormente se elimina el precipitado; la parte acuosa se esteriliza y se le adiciona aditivos y conservadores (en ocasiones otros jugos de fruta), se envasa en latas o frascos, luego estos se agotan, se tapan y se esterilizan. El enfriado es al ambiente, antes de empacar (Corrales y Flores, 2003).

El jugo de tuna se utiliza ampliamente en Chile y recientemente en México, sin embargo, debido a su baja acidez y alto contenido de azúcar es fácilmente fermentable y su vida comercial es corta, por lo que su conservación ha sido objeto de estudio.

En 1964, Villareal *et al.*, estableció las siguientes condiciones para enlatar jugo de la tuna blanca, variedad Alfajayucan: el pH del jugo de ajustó a un valor de 4.5 con ácido cítrico y después se conservó con base en dos métodos: a) Congelamiento a -15°C en atmósfera de nitrógeno, con lo cual se conservó hasta por un período de 7 meses; b) Calentamiento a vapor durante 30 minutos, a 71°C para el engargolado y posterior esterilización a 100 °C durante 110-120 minutos. Sin embargo Sáenz (1997) señala que el jugo de tuna resiste poco el tratamiento térmico, ya que éste ocasiona pérdida de sabor y aroma.

En Estados Unidos de Norte América se producen en Texas, Arizona y California, diferentes mezclas que llevan jugo de tuna adicionado con jugo de limón o de fresa y banana. Estas mezclas se utilizan para preparar el rita-tuna, un coctel margarita que lleva tequila y jugo de tuna (Corrales y Flores, 2003).

2.18 Desarrollo histórico de la tecnología de la alta presión

La primera aplicación de las altas presiones en un alimento fue investigada por Hite en 1989 que intentó esterilizar leche mediante presurización. Este trabajo fue el primero que demostró la reducción de la población microbiana mediante la aplicación de las altas presiones, también estudiaron los efectos de las altas presiones en frutas y hortalizas (Téllez-Luis *et al.*, 2001).

A comienzos del siglo XX resurge el interés por la investigación de las altas presiones debido sobre todo a sus aplicaciones potenciales en la industria. Es cuando aparecen los trabajos del investigador que más contribuyó en este campo: Brigman, laureado con el premio Nobel de física en 1964. Sus trabajos se centran en analizar las propiedades de los materiales una vez sometidos a altas presiones, así como en desarrollar procedimientos de aplicación de altas presiones y en diseñar nuevos equipos de generación de alta presión.

La aplicación de presión con fines industriales, estaba ligada casi exclusivamente a la industria militar, hasta que, a principios del siglo XIX, Perkins realizó los primeros estudios sobre la compresibilidad del agua. No hasta finales del siglo pasado cuando Cailletet y Amagat realizan las primeras investigaciones sobre el diseño de equipos de alta presión, y también desarrollan métodos para la medición de valores de altas presiones (Téllez-Luis *et al.*, 2001).

Otros autores dignos de mención en este campo son Poulter, por un lado, y Mc Farland, por otro. Sus trabajos se centran en el diseño de los cilindros, vasijas o cámaras donde se van a presurizar las muestras. La cámara, que tiene forma cilíndrica es el elemento más importante de todo el equipo de presurización y también la pieza más cara; es de acero y su espesor depende de la presión máxima de operación, del diámetro y del número de ciclos de trabajo. Posteriormente, Zander investiga sobre el diseño de equipos probando nuevos materiales (Téllez-Luis *et al.*, 2001).

No es hasta la década de los ochenta cuando realmente se empieza a investigar de forma exhaustiva las relaciones entre alta presión y alimentos. Hoover, en 1993, enumera

algunos trabajos realizados hasta entonces. Según este autor, las investigaciones sobre matrices alimentarias comenzaron en USA, en 1982 en la Universidad de Delaware. En 1986 se iniciaron líneas similares de investigación Kyoto, Japón, lo que trae como resultado la creación de la sociedad japonesa de alta presión y el lanzamiento al mercado de los primeros presurizados. Japón fue el país pionero en cuanto a la producción y comercialización de alimentos presurizados de tipo ácido, como jugos y derivados de frutas (Letward *et al.*, 1995).

El primer tipo de producto alimenticio presurizado fue mermelada de fresa, frambuesa, kiwi y manzana, se lanzaron al mercado por la compañía japonesa Meidi-Ya Food Co. Se pusieron a la venta en abril de 1990 (Askar, 1998). Hoy en día se comercializan más productos y en menor medida, en Estados Unidos y Europa. En el Cuadro 4 se exponen las mejoras que experimentan distintos tipos de alimentos tras la aplicación de las altas presiones (Téllez-Luis *et al.*, 2001).

Cuadro 4. Efecto de las altas presiones en algunos alimentos.

Producto alimenticio	Condiciones de tratamiento	Función de la alta presión	Referencia
Maíz	500 MPa, 5 min.	Destrucción de la estructura cristalina del almidón	Hibi <i>et al.</i> , 1993
Zanahoria	400 MPa, -20 °C.	Mejora en la textura y estructura histológica	Fuchigami <i>et al.</i> , 1997
Sorgo	500 MPa, 5 min.	Mejora en la calidad de la malta de sorgo	Dewar <i>et al.</i> , 1994
Kino-tofu (extracto de soya)	400 MPa, -20°C.	Mejora de la textura y estructura	Fuchigami y Teramoto <i>et al.</i> , 1997

histológica

Kommyaku (gel protéico)	700 MPa, -20°C.	Mejora de la textura del gel	Fuchigami y Teramoto <i>et al.</i> , 1997
Carne de res cruda	100-150 MPa, 30-40 min, -20°C.	Acelera la maduración, mejora la vida útil y provoca ablandamiento	Cheftel, 1995
Pastel de arroz	400-150 MPa, 1º min, 45-70 °C.	Reducción de la carga bacteriana de la materia prima	Cheftel, 1995
Salchichas y pasteles de pescado	400 MPa	Gelatinización, disminución de la carga bacteriana	Cheftel, 1995
Mermeladas, yogur, salsas, gelatinas de frutas, geles	400 MPa, 10-30 min, 20°C	Pasteurización, facilita la penetración de azúcar y la formación de geles	Cheftel, 1995
Jugo de toronja	120-400MPa, 2-20 min, 20°C.	Reducción del sabor amargo	Cheftel Continuación...
Jugo de mandarina	300-400 MPa, 2-3 min, 20°C.	Mejora el aroma	Cheftel, 1995
Jugo de guayaba	400-600 MPa, 10 min.	Aumenta la viscosidad de forma más suave que la pasteurización	Yen y Lin, 1998
Lechuga y tomate	300 Mpa, 10 min, 20°C	Reduce en 1 log la población microbiana	Arroyo <i>et al.</i> , 1997

*El tratamiento se realizó a temperatura ambiente si no se especifica la temperatura.

Fuente: Tellez-Luis *et al.*, 2001.

2.18.1 Unidad de medida de las altas presiones hidrostáticas

En el sistema internacional de medidas la unidad de presión es el pascal o N/m^2 , pero ésta es una unidad muy pequeña para medir presiones altas. En la actualidad se utilizan muchas unidades por lo que es muy útil conocer los factores de conversión de las

mismas, pues según las aplicaciones y el país se emplea unas u otras: $100 \text{ MPa} = 1 \text{ Kbar}$
 $= 10.2 \text{ Kg}_f/\text{mm}^2 = 987 \text{ atm} = 14504 \text{ lbf/in}^2 (\text{psi}) = 6.475 \text{ t}_f/\text{in}^2$ (Farkas y Hoover, 2000).

2.18.2 Sistemas y métodos de presurización

Un sistema de alta presión consiste de un recipiente de alta presión y sus cerraduras, sistemas de generación de presión, dispositivo de control de temperatura y sistema de manejo del material. Una vez que esté cargado y cerrado, el recipiente es llenado con un medio de transmisión de presión. El aire es removido del recipiente por medio de un llenador rápido que consta de una bomba de baja presión para llenado y drenado rápido, en combinación con una válvula automática de aireación, y luego es generada la alta presión hidrostática (Téllez-Luis *et al.*, 2001).

La alta presión puede ser generada por compresión directa o indirecta o por calentamiento del medio de presión (Figura 3) (López- Malo y Palou, 1999). En la mayoría de los sistemas industriales de alta presión isostática (presión aplicada uniformemente a través de un producto en estado de reposo, independientemente del tamaño y forma; puede ser aplicada a distintas temperaturas, tomando el nombre del método, según sea: Presión isostática en frío (PIF), en calor (PIC) y en temperaturas templadas (PIT).

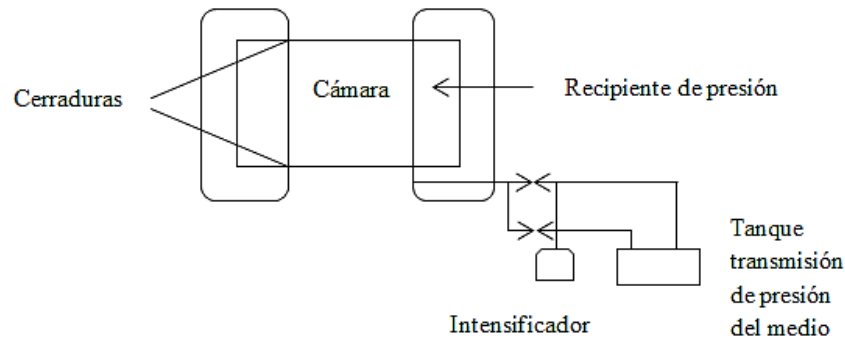


Figura 3. Generación de alta presión por compresión indirecta del medio de presión.
Fuente: Lopez-Malo y Palou, 1999

Varios autores (Mertens y Deplace, 1993; Barbosa-Cánovas *et al.*, 1998), proponen tres procesos básicos donde se usan las altas presiones con o sin variaciones de temperatura. En la industria se empleará uno u otro en función de la aplicación a que se destine.

En los sistemas de presión isostática en frío (PIF) los materiales en polvo se colocan en un molde de elastómero y se someten a las altas presiones. Las presiones aplicadas oscilan entre 50 y 600 MPa, se operan a temperatura ambiente y el tiempo de tratamiento oscila entre 1 y 30 minutos. El volumen del recipiente, cilindro o cámara de presurización puede variar entre algunos cm^3 y más de 1m^3 . Esta técnica se empleó inicialmente en la industria de metales, cerámica, carbón-grafito y plástico. Hoy día estos sistemas son los más utilizados en la industria de alimentos, donde el medio o agente presurizante utilizado es agua potable mezclada con un pequeño porcentaje de aceite como anticorrosivo y lubricante. La empresa Flow Internacional ingenió un concepto que es compatible con líneas de producción alimenticia que involucran productos bombeados (Figura 5). Esta unidad de producción en línea utiliza un dispositivo llamado aislador. El alimento es bombeado dentro de un recipiente, luego

presurizado y después del tiempo de sostenimiento, el alimento es descargado del recipiente dentro de una estación llenadora aséptica. El proceso se repite, hasta completar la producción de día. Las unidades múltiples pueden estar secuenciadas tanto que, mientras una unidad es llenada, otras están en varios estados de operación para producir una salida casi continua (López-Malo y Palou, 1999).

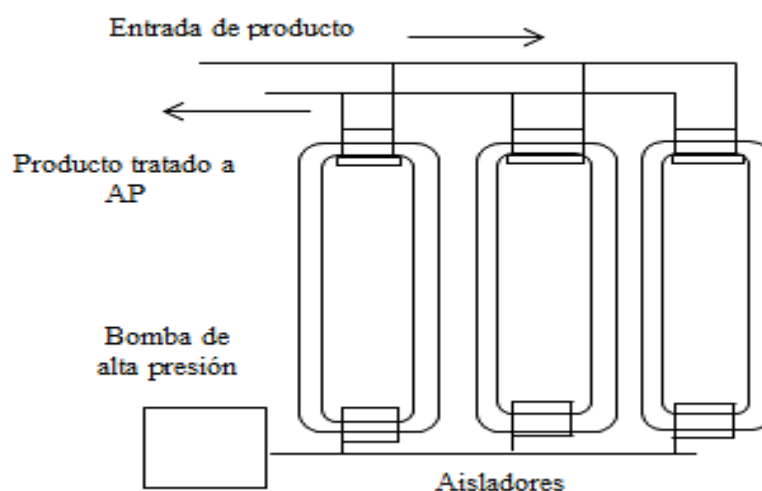


Figura 4. Esquema de un sistema alimenticio de altas presiones.

Fuente: López-Malo y Palou, 1999.

El primer equipo de alta presión para procesar alimentos fue diseñado por Mitsubishi Heavy Industries Ltd. En Japón (Pothakamury *et al.*, 1995) con tiempos de tratamiento de 5 a 20 minutos y presiones aplicadas inferiores a 400 MPa y no mayores de 900 MPa. Los otros sistemas se diferencian básicamente por el intervalo de temperatura aplicada. Así, los sistemas de presión isostática templada (PIT) emplean temperaturas que oscilan entre 20 °C y 200 °C y el medio de presurización es un gas.

El equipo semicontinuo y en lotes puede ser adaptado para operar de manera constante, para la programación de una serie de ciclos de tratamientos de corta duración

prioritariamente para descargar el alimento tratado. Estudios preliminares (Alemán *et al.*, 1996) mostraron un incremento en el porcentaje de inactivación de levaduras con tratamientos de presión constante. El tiempo total a la exposición fue igual en duración para un tratamiento individual a presión.

Yuste *et al.*, (2001) reportaron el efecto de las altas presiones en bacterias mesófilas y psicrotrofas presentes en carne de aves de corral, donde las muestras empacadas al vacío fueron sujetas a ciclos por alternancia de presiones moderadas (60 MPa) y altas presiones (450 MPa) una vez o por diversos tiempos, de forma que el tiempo total bajo la alta presión fue de 15 minutos. Fue también llevado a cabo de un tratamiento continuo 450 MPa por 15 min a 20 °C. Se encontraron reducciones logarítmicas de 3.2 a 3.8 UFC g⁻¹, lo que nos dice que estos presentan mayor sensibilidad a la presión.

Ellos utilizaron un equipo de presión isostático discontinuo, ilustrado esquemáticamente en la Figura 5.

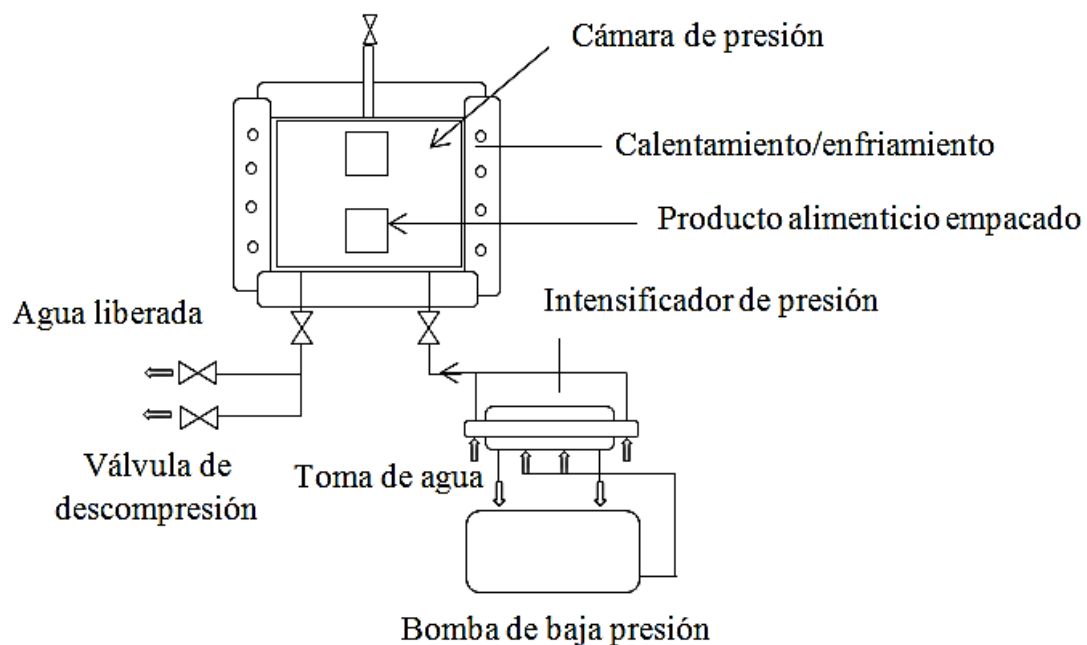


Figura 5. Ilustración esquemática de un equipo discontinuo de alta presión para procesamiento de productos alimenticios empacados.

Fuente: Yuste *et al.*, 2001.

Alemán *et al.*, (1998) inocularon cubos de piña fresca, con 10^4 y 10^5 UFC g^{-1} de *Saccharomyces cerevisiae*, que fueron empacados en bolsas de polietileno selladas a temperatura ambiente para tratamientos de ultra alta presión estática y pulsada. La presión pulsada consiste en la aplicación de presión intermitente. Los tratamientos estáticos incluyeron 100, 300 y 600 s a 270 MPa y 9000 s a 340 MPa, mientras que los no estáticos incluyeron 100, 300 y 600 s a 270 MPa usando intervalos de tiempo de 0.5 s y 10 s y mantenidas a 4 °C por 60 días.

El tratamiento estático a 270 y 340 MPa por 9000 s resultó en cuentas menores de 240 UFC g^{-1} en bacterias y levaduras durante 60 días. Los postratamientos pulsados para 100 s a 270 MPa, utilizando intervalos de tiempo de 0.5 s y 10 s, fueron efectivos que un

tratamiento estático a 100 s y 270 MPa. Este estudio confirmó la superioridad de la AP no estática sobre los tratamientos de presión estáticos.

López-Caballero *et al.* (2000) analizaron los efectos de la presión continua a 10 minutos y la presión pulsada en tiempos de 5 minutos (400 MPa a 7 °C) sobre la flora microbiana, bases volátiles totales, pH, textura en ostras purificadas y no purificadas. Los tratamientos de AP redujeron el número de todos los microorganismos objetivo (cuentas viables totales, microorganismos productos de ácido sulfúrico, bacterias, ácido láctico y coliformes), en algunos casos, por arriba de las 10 000 UFC. La diferencia entre las cuentas microbianas del control y de las ostras presurizadas, permaneció estable durante 41 días de almacenamiento a 2 °C y su deterioro fue acompañado por un incremento de bases volátiles totales, principalmente en muestras no presurizadas. El pH fue constante en las muestras presurizadas y cayó ligeramente en las no presurizadas.

2.18.3 Métodos de presurización

La alta presión se puede producir por distintos métodos: compresión directa, compresión indirecta o por calentamiento del medio presurizante (agua).

La compresión directa emplea un pistón para presurizar; la PH es generada por la presurización del medio a través del extremo del pistón de diámetro pequeño (Figura 7(a)). Este extremo del pistón, es manejado por una bomba de baja presión. Este método de compresión directa permite una rápida compresión, pero las limitaciones de sellado dinámico a alta presión, entre el pistón y la superficie interna del recipiente, restringen el uso de este método a laboratorios o sistemas de planta de piloto.

La compresión indirecta se utiliza un intensificador de AP para bombear un medio presurizante desde un depósito hacia la cámara de presurización, y así se alcanza la presión deseada (Figura 6 (b)). Como ya se había mencionado anteriormente, la mayoría de los sistemas industriales de presión isostática (frío, calor) utilizan este método.

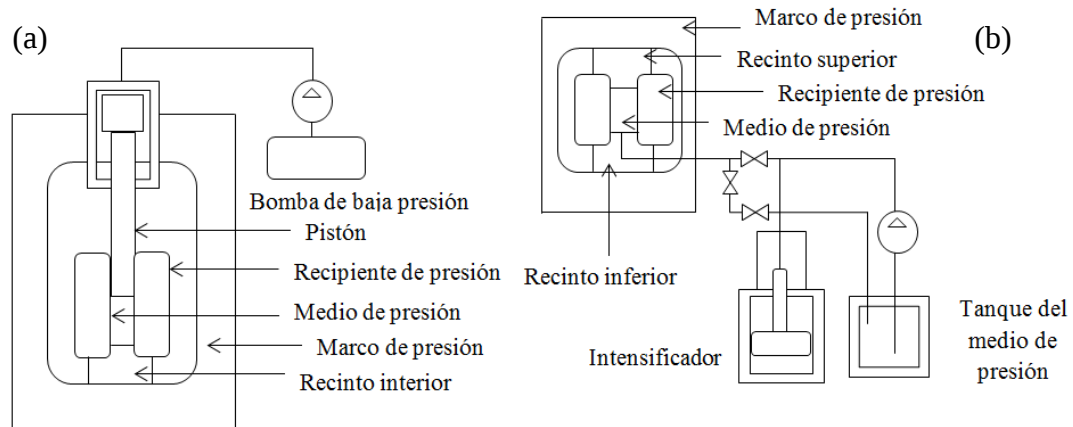


Figura 6. Generación de alta presión por compresión directa (a) e indirecta (b) de un medio de transmisión de presión. Fuente: Palou *et al.*, 1999

El tercer proceso (calentamiento del medio de presión), se basa en la propiedad de expansión del medio presurizante (agua) cuando se le aplica temperatura, produciéndose una elevación de la presión. El efecto se logra cuando se combina la AP con altas temperaturas. Este método requiere del control muy preciso de temperaturas dentro del volumen interno de la cámara de presurización (Barbosa-Cánovas *et al.*, 1997).

Los sistemas de procesamiento isostático pueden ser operadores como enfriadores isostáticos, calentadores isostáticos y sistemas de calentadores isostáticos, mencionados anteriormente, dependiendo de la aplicación (Palou *et al.*, 1999). A continuación se describe cada uno de ellos.

La presión isostática con enfriamiento (PIE) es esencialmente una técnica para dar forma, utilizada en metales, cerámica, carbón, grafito e industrias plásticas. El método es el siguiente: los materiales pulverizados son llenados en un molde de elastómero y sujetos a alta presión. En este método, el equipo de alta presión trabaja a temperatura ambiente y utiliza agua pura, agua emulsificada o aceites como medios de presurización. La presión aplicada está en el intervalo de 50 a 600 MPa.

El proceso de presión isostático con enfriamiento utiliza configuraciones de “bolsas húmedas” o “bolsas secas” (Barbosa-Cánovas *et al.*, 1997). En el proceso de bolsa húmeda, el llenado y sellado del molde de formación se llevan a cabo al exterior la cámara. Posteriormente se introduce en la cámara y se comprime directamente a través del medio de presión para la formación del molde (en la Figura 8 se muestran los moldes de formación básicos que, generalmente, se elaboran de una combinación de caucho y metales).

El método de bolsa húmeda es especialmente competente para la producción en pequeña escala de productos de gran tamaño o de configuración complicada. Hay dos maneras de presurización (Figura 7): (a) El tipo de presurización reforzadora o intensificadora. El equipo se instala independientemente de la cámara de presión; y (b) el tipo de presurización directa a través de un pistón. La cerradura superior es reemplazada por un pistón que comprime directamente al medio de presión (Kobe, 2000).

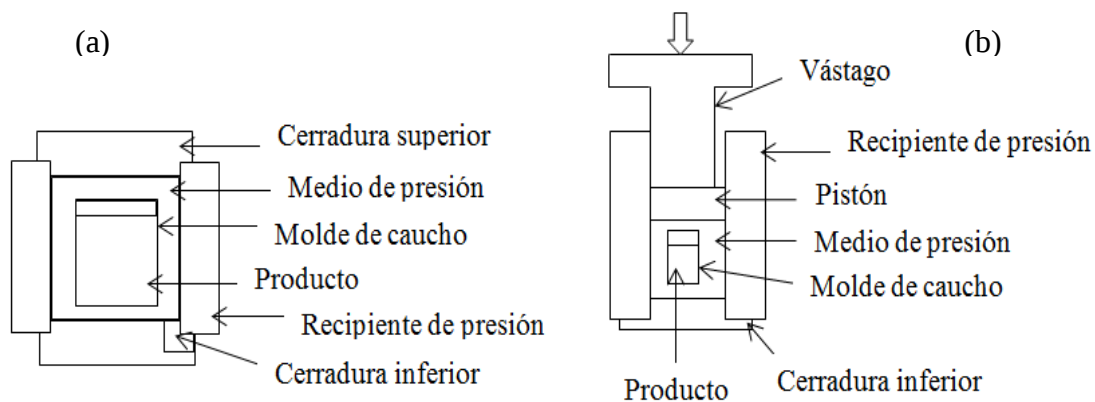


Figura 7. Métodos de presurización por intensificador o reforzador (a). Método de presurización directa a través de un pistón (b).

Fuente: Kobe, 2000.

En el caso del proceso de bolsa seca, la presión se transmite a través de un molde de caucho internalizado en la cámara de presión para sellar al medio de la presión. El molde de caucho se llena con el pulverizado para posteriormente aplicar la presión y así llevar a cabo la formación del molde. Puesto que este método ahorra energía y se puede controlar automáticamente de una manera fácil, es especialmente conveniente para producción en masa de productos de configuración simple (Kobe, 2000).

2.19. Factores críticos de proceso

Los factores críticos de proceso en el procesamiento a alta presión incluye el tipo de microorganismo, tiempo para alcanzar la presión del tratamiento, tiempo de descompresión, temperatura del tratamiento (incluyendo calentamiento adiabático), pH del producto, composición del producto, actividad de agua del producto, entre otros (CFSAN, 2001).

2.20 Tipo de microorganismo

El tipo de microorganismo es muy importante para la aplicación de la alta presión por que con base en sus características van a estar dadas las condiciones del procesamiento. De todos los microorganismos que existen, el grupo de las bacterias se encuentra encabezando la lista de las más resistentes a la presión que son las gram-positivas, debido a que su pared celular (capa inmediata externa a la membrana) es mucho más gruesa (10 a 80 nm de espesor) y más homogénea que la pared de las gram-negativas (tienen una capa interna de 2 a 3 nm de espesor) y una capa interna similar a una membrana unitaria de 7 a 8 nm de espesor) y su composición química también varía, la pared de las gram-positivas está compuesta por péptidoglicano con ácidos teicoicos y polisacáridos, mientras que la de las gram-negativas además de los peptidoglicanos, contiene fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridos (Stanier *et al.*, 1996).

Casi todas las bacterias pueden crecer hasta valores de 20 a 30 MPa. A todos aquellos microorganismos que pueden crecer a presiones sensiblemente más altas (40-50 MPa) se les denomina barófilos; aquellos incapaces de crecer a presiones de 30 a 40 MPa se les conoce como barófobos, y a los que crecen en el intervalo de 1 a 50 MPa se les llama euribáricos. Los microorganismos barodúricos o barotolerantes sobreviven a presiones de 50 a 200 MPa, sin embargo entran en un estado de latencia, no se desarrollan (Galazka y Letward, 1995).

2.21 Inactivación de microorganismos

Al estudio de los efectos de la presión en organismos vivos se les denomina barobiología. Las presiones más altas de la atmosférica se les llaman hiperbáricas. La alta presión induce cambios en los sistemas biológicos-morfológicos, bioquímicos y

genéticos, así como cambios en la membrana y pared celular de los microorganismos (Barbosa-Cánovas *et al.*, 1998).

Los efectos de la presión sobre los microorganismos en alimentos, están determinados por el efecto de la presión sobre el agua, la temperatura durante el tratamiento de presión, los constituyentes de alimento y las propiedades y el estado fisiológico de los microorganismos.

El mayor grado de inactivación sobre los microorganismos se lleva a cabo en la etapa logarítmica de crecimiento. En general, los microorganismos gram- negativos son los más sensibles a las altas presiones; les siguen las levaduras y los hongos, los gram- positivos y por último las esporas; los virus son muy resistentes a las altas presiones, aunque depende del tipo de virus (Smelt, 1998). La mayoría de los autores coinciden en que las esporas bacterianas son las formas de vida más resistentes a la presurización (Farkas y Hoover, 2000). Presiones de 400 a 600 MPa inactivan las células negativas mientras que para eliminar las esporas se necesitan mayores presiones.

Ya en la primera mitad del siglo pasado se comprobó que la inactivación de ciertas esporas requiere presiones de 1200 MPa. Otros autores más recientes rebajan esta presión a 1000 MPa (Sangronis *et al.*, 1997) y en algunos casos se requieren valores de hasta 1500 MPa a temperaturas ambiente (Smelt, 1998). En el Cuadro 5 se reportan las condiciones de presurización necesarias para reducir la población de ciertos microorganismos patógenos, en distintos substratos.

Cuadro 5. Sensibilidad de algunos microorganismos patógenos (formas vegetativas o esporuladas) a la alta presión.

Microorganismos	Sustrato	Condiciones de presurización*	Reducción logarítmica de la población microbiana	Referencia
<i>Vibrio Parahaemolyticus</i>	Tampón Fosfato +3 % De NaCl, pH 7	170 MPa, 30 min, 23 °C	6	Styles <i>et al.</i> , 1991
	Productos Marino (almeja Enlatada)	170 MPa, 10 min, 23 °C	<5	Styles <i>et al.</i> , 1991
<i>Yersinia Enterocolitica</i>	Tampón Fosfato a pH 7	325 MPa, 10 Min	6	Shigehisa <i>et al.</i> , 1991
	Cerdo	325 MPa, 10 Min, 25 °C	6	Shigehisa <i>et al.</i> , 1991
<i>Campilobacter Jejuni</i>	Cerdo	300 MPa, 10 Min, 25 °C	6	Shigehisa <i>et al.</i> , 1991
<i>Salmonella typhimurium</i> 7136	Alimento infantil a base de pollo	340 MPa, 10 min, 23 °C	4	Metrich <i>et al.</i> , 1989
	Tampón fosfato +0.9 % de NaCl, pH 7 cerdo	340 MPa, 10 min, 23 °C	3	
<i>Salmonella bareilly</i>	Tampón fosfato a pH 7	300 MPa, 20 Min	8	Takahashi <i>et al.</i> , 1991
<i>Escherichia coli</i> 0157: H7	Tampón fosfato a pH 7	700 MPa, 13 min.	6	Takahashi <i>et al.</i> , 1991
			2	Patterson <i>et al.</i> , 1995
	leche UHT	800 MPa, 10 min.	2	Takahashi <i>et al.</i> , 1995
			5	Takahashi <i>et al.</i> , 1991
	leche UHT	600 MPa, 30 min.		
	leche UHT	700 MPa, 30 min.		
	Carne de ave			
<i>Listeria monocytogenes</i> (Scott A)	Tampón fosfato pH 7	340 MPa, 20 min.	<6	Styles <i>et al.</i> , 1991
	leche cruda	340 MPa, 60 min, 23 °C	6	Styles <i>et al.</i> , 1991
	Leche UHT	340 MPa, 80	6	

			min, 23 °C		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cerdo	600 MPa, 10 min, 25 °C	6		Taakaahashi <i>et al.</i> , 1991 Utakahashi <i>et al.</i> , 1991
	Leche UTH	600 MPa, 30 min.	2		
	Leche pasteurizada	586 MPa, 3 ciclos de 1 min, 5°C	5		
<i>Esporas de bacillus stearothermophilus</i>	Leche UHT	600 MPa, 60 min, 70 °C	4		Shigehisa <i>et al.</i> , 1991 Shigehisa <i>et al.</i> , 1991
<i>Esporas bacillus subtilis 168</i>	Agar nutritivo pH 6-7	404 MPa, 15 min, 25 °C	<0.5		Shigehisa <i>et al.</i> , 1991 Shigehisa <i>et al.</i> , 1991
	agar nutritivo, pH 6-7	404 MPa, 1 min, 70 °C	5		
<i>Esporas de clostridium sporogenes 3679</i>	Medio clostrodial	404 MPa, 30 min, 25 °C	<0.5		Shigehisa <i>et al.</i> , 1991 Shigenisa <i>et al.</i> , 1991
	PA agar, pH 7		<3		
	medio clostrodial	404 MPa, 300 min, 25°C			
	pH 4				

*Si no se especifica, el tratamiento se realizó a temperatura ambiente (20 °C).

Fuente: Téllez-Luis *et al.*, 2001.

La inactivación de los microorganismos por AP puede ser debida a un incremento en la permeabilidad de la membrana, la inhibición de las reacciones productoras de energía y la desnaturalización de las enzimas esenciales para el desarrollo y producción de la célula (Pothakamury *et al.*, 1995).

El objeto de estudio de Alpas *et al.* (2000) fue determinar la interacción entre la AP, temperaturas de presurización, tiempo y pH durante la presurización sobre muerte y daños en cepas de cuatro patógenos, producidos por los alimentos, resistentes y sensibles a la presión: *Staphylococcus aureus* 485 y 765, *Listeria monocytogenes* CA y OH₂.

Escherichia coli o 157: H7 933 y 931, *Salmonella enteritidis* FDA y *Salmonella typhimurium* E21274.

En general, la pérdida de viabilidad de todos los patógenos aumentó al incrementarse los niveles de presión y temperatura. Todas las cepas, excepto *S. aureus*, mostraron una reproducción de más de ocho ciclos logarítmicos (10 000 000) cuando se presurizó a 345 MPa a 50 °C por 5 minutos.

Este estudio indicó, que la APH aplicada en conjunto con el calentamiento suave y acidificación puede ser un método efectivo para la inactivación de cepas resistentes y sensibles a la presión (de los cuatro patógenos mencionados arriba y desarrollados por el mal manejo en los alimentos) en soluciones acido-orgánicas. Las combinaciones de tratamientos indican posibles aplicaciones de pasteurización para alimentos líquidos que tengan un pH bajo.

2.22 Efecto de las altas presiones en las células

Los ácidos nucleicos son más resistentes que las moléculas de proteína. La estructura del ADN es en gran parte el resultado de enlaces de hidrógeno. Debido que la AP favorece los enlaces de hidrógeno, las moléculas del ADN son más estables a la AP que las proteínas, mientras que temperaturas elevadas provocan la desnaturalización de moléculas de ADN. Por ejemplo, a presiones hasta de 1013 MPa a temperatura ambiente no se observa desnaturalización del ADN, en soluciones de ADN de *Bacillus subtilis*; sin embargo, la transcripción y replicada se rompe con alta presión debido al efecto sobre las enzimas (Barbosa-Canovas *et al.*, 1998).

La alta presión desnaturaliza las proteínas y reduce el tamaño de los fosfolípidos en la membrana celular. La desnaturalización de proteínas inhibe la captación de aminoácidos esenciales para el crecimiento de la célula. La alta presión aumenta la permeabilidad de la membrana celular, y los contenidos de la célula se liberan fuera de ella, rompiendo el funcionamiento de la célula. Si la presión aplicada es relativamente baja, la célula recupera la permeabilidad original. La destrucción de la pared celular es irreversible cuando la presión aplicada es relativamente alta y provoca la inactivación celular (Barbosa-Cánovas *et al.*, 1998).

La morfología celular resulta alterada, y los ribosomas son destruidos. Se producen cambios en el complejo lipoproteico de las membranas celulares, y una consecuencia de ello es el aumento de fluidez de la membrana. Se ha demostrado la salida de ácidos nucleicos de las células expuestas a presiones de 200 a 400 MPa. También, la adenosintrifosfata (ATPasa) es inactivada, lo que implica déficit de ATP celular, pero las enzimas de las frutas son barorresistentes (Jay, 2000).

Otros ejemplos de la alteración morfológica son: compresión del gas de las vacuolas (a 0.6 MPa puede colapsarse), alargamiento de las células y formaciones de filamentos, separación de la membrana de la pared celular, contracción de la pared celular con la formación de poros, modificación del citoesqueleto, modificaciones de los núcleos y de los orgánulos intracelulares, coagulación de la proteína citoplasmática y liberación de constituyentes intracelulares fuera de la célula. También provoca modificaciones bioquímicas y genéticas al inactivar enzimas involucradas en la replicación y transcripción del ADN. Algunos de estos cambios, están expuestos por distintos autores en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Condiciones de tratamientos de las altas presiones para algunos microorganismos.

Microorganismo	Condiciones	Efecto observado	Referencia
<i>Escherichia coli.</i>	40 MPa	Aumenta de 5 a 100 veces la longitud celular	Zobell y Cobet. 1962
<i>Vibrio spp.</i>	40 MPa	Aumenta de 5 a 8 veces la longitud de los filamentos	Zobell, 1970
<i>Bacillus mycoides</i>	27 MPa	Células 2 a 3 veces más largas	Zobell, 1970
<i>Serratia marcescens</i>	60 MPa	Aumenta de 130 a 2000 veces la longitud de los filamentos	Zobell, 1970
<i>Pseudomonas</i>	300-450 MPa	Alargamiento de las células	Kiss <i>et al.</i> , 1969
<i>E. coli</i> , <i>Vibrio</i> y <i>pseudomonas</i>	20-40 MPa	Inmovilización y pérdida de flagelos	Zobell y Cobet, 1962, Zobell, 1970
La mayoría de las bacterias	20-30 MPa	Crecen normalmente	Zobell, 1970
Algunos microorganismo (barófilos)	40-50 MPa	Crecen normalmente	Zobell, 1970
Microorganismos barodúricos	50-200 MPa	Sobreviven pero no crecen	Zobell, 1970
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	150-400 MPa	Ausencia de daños mecánicos en las células	Butz <i>et al.</i> , 1990
<i>Candida tropicales</i>	200 MPa	Separación de la pared y disgregación de la capa intermedia entre la pared y membrana	Osumi <i>et al.</i> , 1992

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	100 MPa	Alteraciones mitocondrias, citoplasma y membrana celular	en Shimada <i>et al.</i> , 1993
---------------------------------	---------	--	---------------------------------

Fuente: Téllez-Luis *et al.*, 2001.

2.23 Factores físicos-químicos en la inactivación de microorganismos por la presión

El desarrollo de las bacterias depende, entre varios factores, de la temperatura, del pH, de la composición del medio de desarrollo y de la actividad del agua del mismo. La alta presión altera el pH del medio disminuyéndolo. Los microorganismos son más susceptibles a la inactivación de un medio no nutritivo que en uno enriquecido, el cual es más protector debido a la presencia de aminoácidos esenciales y vitaminas.

La presencia de nutrientes que afectan a la actividad de agua del medio como son el azúcar y la sal ejercen una marcada influencia en la resistencia a la AP debida, probablemente, a las condiciones fisiológicas del microorganismo al reducirse la actividad del agua. Esta resistencia puede disminuir al aumentar la temperatura y el tiempo de presurización. Un ejemplo de ello se observó en el estudio realizado sobre la aplicación de AP en mermelada de fresa donde la destrucción de *Saccharomyces cerevisiae* fue menos efectiva y requirió niveles de presión más altos cuando el contenido en azúcar se incrementó de un 20 % a un 50 % (Téllez-Luis *et al.*, 2001).

La temperatura es muy importante para que el tratamiento de presurización sea efectivo. Células de *E. coli* 0157: H7 se sometieron a tratamientos de alta presión a 200 MPa durante 30 minutos a 30 °C. Las células una vez presurizadas, se sometían a temperaturas de 55 y 60 °C. Los resultados indicaron que el tratamiento de alta presión aumentaba la sensibilidad al calor de estas bacterias. Cuando los cultivos tratados por la

alta presión fueron almacenados a 3 °C, antes de someterlos a calentamiento, la sensibilidad al mismo persistió más de 10 días (Téllez-Luis *et al.*, 2001).

Los tratamientos de alta presión hidrostática pueden alterar la funcionalidad de la membrana como transporte activo o permeabilidad pasiva, y por consiguiente perturbar el balance fisicoquímico de la célula (López-Malo *et al.*, 1998).

2.24 Efecto de las altas presiones en levaduras y hongos

Una característica compartida por la mayoría de las frutas y alimentos de bajo pH es su alta acidificación, pero no es muy común encontrar pH debajo de 4. El pH es uno de los factores más importantes con respecto al tipo de microorganismos que puede contaminar esta clase de alimentos. Mientras la mayoría de especies de bacterias son inhibidas por la concentración de iones hidrógeno, las levaduras y hongos son más acidúricos y muchas encuentran estos valores tolerantes para su óptimo crecimiento. Esto es debido a la acidez, sin embargo, los hongos son los principales microorganismos contaminantes de frutas, productos frutícolas y alimentos bajos en pH.

Los hongos producidos en los alimentos pueden ser divididos dentro de dos categorías: benéficas y perjudiciales. Las formas benéficas pueden estar introducidas o estar naturalmente presentes en los alimentos, mientras que las perjudiciales aparecen como contaminantes naturales indeseados. La aplicación de presión como una técnica de conservación para alimentos con alta acidez, va enfocada sobre los efectos en los hongos producidos en los alimentos.

La sensibilidad a la presión depende del tipo de microorganismo y los grupos más importantes son las formas vegetativas y esporas de microorganismos. En general, las

formas vegetativas son inactivadas por presiones entre 400 y 600 MPa, mientras que las esporas de algunas especies pueden resistir presiones más altas que 1000 MPa a temperatura ambiente. La relativa sensibilidad a la presión de las formas vegetativas de microorganismos han hecho de ellos los principales objetivos para la conservación de alimentos por alta presión, y particularmente para alimentos de bajo pH y otros alimentos.

Las investigaciones sobre levaduras contaminantes de alimentos publicadas desde hace 30-40 años, reportan que las levaduras producidas por los alimentos no tienen significancia a nivel de salud pública y son consideradas como inofensivas para los consumidores, aun cuando sean ingeridas en bajas cantidades a través de alimentos fermentados (cerveza, kéfir, algunos quesos para untar madurados elaborados con leche cruda, etc.) (Loureiro y Querol, 1999).

La intensidad de la inactivación microbiana alcanzada en un tratamiento particular de presión, depende de varios factores interactuantes incluyendo el tipo y número de microorganismos, magnitud y dirección del tratamiento de AP, temperatura y composición del medio de suspensión o alimento.

La sensibilidad a la presión de microorganismos varía con el estado del ciclo de crecimiento, al cual los organismos son sujetos al tratamiento de AP (López-Malo *et al.*, 1998).

Palou et al. (1997) indicaron que en la fase estacionaria, las células microbianas están bajo condiciones menos óptimas que durante la fase exponencial, debido al agotamiento

de nutrientes o a la formación de metabolitos tóxicos, los cuales contribuyen a la exposición de células a condiciones de estrés.

2.3 Aplicaciones del ozono en la industria alimentaria

El ozono es un fuerte oxidante efectivo en el control de bacterias, mohos, protozoarios y virus (Rodoni *et al.*, 2010). Se ha empleado en la industria de alimentos como desinfectante alternativo al uso de hipoclorito de sodio y con el objetivo de incrementar la vida útil postcosecha de una amplia gama de productos frescos de origen vegetal mínimamente procesados (Mahapatra *et al.*, 2005; Chauhan *et al.*, 2011).

2.4 Breve reseña histórica del ozono

Desde hace más de 100 años el ozono ha sido utilizado como sanitizante en las plantas de tratamiento de aguas y en la producción de agua embotellada, así como se ha reportado su uso para la limpieza y desinfección de superficies y equipos (Kim *et al.* 1999; Mahapatra *et al.* 2005).

En 1997 el ozono fue confirmado como un producto GRAS (Generally Recognised as Safe) por la FDA (US-FDA 1997) y en el 2001 se aprobó su empleo en la industria alimentaria como aditivo o en contacto directo con el alimento durante su procesamiento o almacenamiento (FDA 2001, 2004). En consecuencia, la industria alimentaria ha mostrado en los últimos años un interés creciente por la implementación de diferentes aplicaciones del ozono, tanto en solución como en estado gaseoso (Tzortzakis *et al.* 2007). En solución puede ser utilizado por inmersión o por aspersión, mientras que en forma gaseosa se emplea en cámaras de almacenamiento. El ozono puede degradar el

etileno presente en la atmósfera, por lo que su uso es positivo en la conservación de productos sensibles al etileno (Aguayo *et al.*, 2006).

2.5 Efectos del ozono

El ozono no deja residuos detectables en el producto tratado, se descompone rápidamente en oxígeno y es amigable con el ambiente; es un poderoso agente antimicrobiano, efectivo contra patógenos para el ser humano, además de reducir la incidencia y la severidad del deterioro causado por diferentes microorganismos, pudiendo ser usado incluso en la eliminación de pesticidas (Rodoni *et al.*, 2010).

La descomposición del ozono produce radicales libres, principalmente hidroxilo, y sus efectos están asociados con la inactivación de enzimas, la alteración de ácidos nucleicos y la peroxidación lipídica a nivel de las membranas microbianas. Tiene una vida media de 20 a 30 min en agua a 20 °C, en función de la carga orgánica del medio en que se encuentre disuelto. Presenta además la ventaja que puede ser generado *in situ*, eliminando los problemas de transporte y almacenamiento. Numerosos estudios han evaluado la efectividad del ozono en el control del crecimiento microbiano y la calidad, tanto de productos frescos como procesados, tales como uvas (Sarig *et al.*, 1996; Palou *et al.*, 2002; Tzortzakis *et al.*, 2007), tomate (Aguayo *et al.*, 2006; Das *et al.*, 2006 ; Tzortzakis *et al.*, 2007; Rodoni *et al.*, 2010), jugos de naranja, fresa y mora (Tiwari *et al.*, 2008; Tiwari *et al.*, 2009) y sidra de manzana (Steenstrup & Floros 2004; Choi & Nielsen 2005).

Achen y Yousef (2001) reportaron que el uso de agua ozonificada para el lavado de manzanas redujo los recuentos de *E. coli* O157:H7. Por otra parte, Rodoni *et al.* (2010)

encontraron que tratamientos cortos con ozono gaseoso ($10 \mu\text{L L}^{-1}$; 10 min) disminuyeron el porcentaje de tomates dañados y el ablandamiento de los frutos maduros durante su almacenamiento a 20 °C por 9 días, lo que se relaciona con una menor actividad de la enzima pectinmetilesterasa.

Asimismo, Wang *et al.* (2008) mencionan diferentes trabajos que permitieron reducir los contenidos de aflatoxinas entre 78 a 95 por ciento en semillas de algodón, maní y maíz. Sin embargo, no todos los estudios realizados muestran efectos favorables del empleo del ozono. Los resultados de distintas investigaciones indican que el impacto y los beneficios del uso del ozono varían en función de los productos tratados (Tzortzakis *et al.* 2007).

A pesar de las limitaciones mencionadas, las ventajas reportadas en la literatura indican que el empleo del ozono constituye una alternativa que merece ser evaluada para lograr una aplicación más amplia en las industrias agroalimentarias.

2.6 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial involucra el desarrollo, uso de principios y métodos para medir respuestas humanas en productos e ingredientes. Las pruebas sensoriales se clasifican de acuerdo a su objetivo y pueden ser discriminativas, descriptivas y afectivas. En las pruebas afectivas se busca evaluar la preferencia o aceptabilidad de un producto por consumidores potenciales. Las pruebas afectivas son usadas comúnmente por compañías de productos o prestadores de servicios para conocer: la posición de su producto en el mercado, mejorar constantemente el producto, desarrollo de nuevos productos, evaluar el mercado potencial.

Entre los factores que hay que considerar en la selección de panelistas en una prueba afectiva son: el grupo (sector de la población al que va dirigida la prueba), sexo si el producto es para un género en particular, locación geográfica, y si es el caso la nacionalidad.

Existen dos enfoques en las pruebas de consumidores: la medición de preferencia y la medición de aceptación. En la medición de aceptación o gusto, los panelistas consumidores califican su gusto por el producto en una escala. Las mediciones de aceptación pueden ser hechas en un solo producto y no requieren una comparación con otro. Los mejores resultados son obtenidos con escalas que están balanceadas, es decir, tienen el mismo número de categorías positivas que negativas (Montes, 2007).

2.61 Calidad sensorial de alimentos presurizados

La alta presión modifica las características sensoriales de los alimentos. Casi en todos los casos actúa mejorándola. Por ejemplo, el jugo de toronja tratado por AP, a diferencia de los procesos térmicos convencionales, no posee el amargor que le confiere el limoneno. Los jugos de otros cítricos, después del tratamiento a APH adquieren un sabor fresco, sin pérdida de la vitamina C y con una vida útil de 17 meses.

Kimura *et al.* (1994) reporta en su estudio sobre jalea de fresa tratada con AP, no detectó diferencias significativas en la calidad sensorial de color y sabor de las jaleas tratadas con alta presión con respecto al testigo, y para prolongar la calidad sensorial las jaleas se almacenaron a 5 y 25 °C por tres meses, donde se detectó que las muestras almacenadas a 5 °C se conservaron sin cambios en los parámetros sensoriales, caso contrario a las muestras almacenadas a 25 °C que desarrollaron malos sabores y decoloración.

Aunque las características sensoriales de los alimentos, en la mayoría de los casos mejoran o no sufren modificaciones con la APH, en otros si se altera, y algunos veces en forma indeseable. La influencia de la APH en las características organolépticas de los alimentos depende del tipo de alimento y de las condiciones de presurización (Weemaes *et al.*, 1999).

2.7 Combinación de la alta presión con otros tratamientos

La alta presión puede ser utilizada para reducir la severidad de los tratamientos tradicionalmente utilizados para conservar alimentos. El uso de la alta presión en combinación con calentamiento suave tiene un potencial considerable. Varios estudios han demostrado que el efecto antimicrobiano de la alta presión puede incrementarse por calentamiento suave, bajo pH, dióxido de carbono, ácidos orgánicos y bacteriocinas (pequeñas proteínas generadas por determinadas cepas bacterianas que funcionan como antibióticos de reducido espectro ya que tienden a dañar solo a aquellos microorganismos similares a las bacterias que lo producen) tales como la nisina (Palou *et al.*, 1999).

Entre los tratamientos alternativos (no térmicos) usados en la conservación de alimentos se encuentran los pulsos eléctricos de alta intensidad, campos magnéticos oscilantes, pulsos luminosos de alta intensidad y ultrasonidos (Muñoz, 2009). Hoover (1997), considera a la presurización como técnica más viable desde el punto de vista comercial, y Meyer *et al.* (2000) afirman que de todos ellos, solo la AP ha demostrado la efectividad en la inactivación de esporas y enzimas.

Para la mayoría de las posibles combinaciones de procesos, la meta principal consiste en la identificación de factores de tratamientos que pueden sensibilizar a los microorganismos, reconocer los factores o tratamientos que podrían causar muerte microbiana y daños subletales por presión en células bacterianas. Sin embargo, los efectos protectores que podrían ejercer los componentes de los alimentos hacen necesaria la asignación de cada proceso de combinación para cada producto alimenticio particular.

2.8 Aplicaciones comerciales

Las aplicaciones industriales comunes de la alta presión hidrostática son presentadas en el Cuadro 7. Tellez *et al.* (2001) presenta una lista de los alimentos procesados a presión en el mercado japonés. Los primeros alimentos procesados a presión fueron las fresas, kiwis y jaleas de manzana.

Cuadro 7. Alimentos comerciales tratados con altas presiones.

Producto	Condiciones de proceso	Envase	Compañía
Jaleas, aderezos de frutas, salsas de frutas, geles de frutas, yogurts	400 MPa, 20°C, 10-30 minutos	Vasos-de plásticos (100-125 g)	Meidi-Ya Food Co
Jugo de uva	120-140 MPa, 20 °C, 2-20 minutos	Envases de vidrio (200-800 g)	Pokka
Jugo de mandarina	300-400 MPa, 20 °C, 2-3 minutos	Envases de vidrio (500 g)	Wakayawa
Frutas tropicales impregnadas de azúcar x Y helados	50-200 MPa	Vasos de papel (130 g)	Nisshin
Ablandamiento de la carne	100-250 MPa, 20°C, 30 minutos-3 h		Fuji Chiku & Metterham
Pan de arroz	400 MPa, 45-70 °C, 10 minutos		Echigo Seika

Fuente: Téllez-Luis *et al.*, 2001.

Téllez-Luis *et al.* (2001) reportó que al menos siete de las compañías ahora comercializan alimentos procesados a alta presión e incluyen calamares crudos salados y salchichas de pescado. El progreso en varios productos alimenticios está en curso, pero la información no está disponible debido a que aún se presenta como información confidencial.

Posteriormente en los Estados Unidos y Europa, el desarrollo de esta tecnología (AP), se está dando en la producción de alimentos como: productos frutícolas, alimentos instantáneos, productos lácteos, carnes, pescados, y otros. En México el Grupo JUMEX adquirió un equipo de Flow Int. Cor. Inc., para aplicar AP a su proceso para obtener jugos y néctares de frutas con alta calidad y seguridad alimenticia.

3 JUSTIFICACIÓN

Los tratamientos térmicos son los métodos usados convencionalmente por la industria alimentaria para inactivar microorganismos y enzimas, estos últimos aceleran la descomposición natural de los productos perecederos y ponen en peligro al consumidor. Sin embargo, los tratamientos térmicos consisten en exponer a los alimentos a elevadas temperaturas y sobrecalentarlos, esto es perjudicial para atributos de calidad de los alimentos (Hernández, 2004), por lo cual estos tratamientos no se aplican en jugo de tuna debido a la alta termolabilidad de los compuestos químicos responsables de su aroma y sabor. Debido a esto, diferentes métodos no térmicos han sido explorados, incluyendo las altas presiones hidrostáticas, pulsos eléctricos, campos magnéticos y campos eléctricos pulsantes. Todos estos métodos se han propuesto como alternativas a la pasteurización térmica. Sin embargo las altas presiones hidrostáticas y el ozonizado, son tecnologías emergentes que se ha convertido en un método para conservar alimentos, por lo tanto se ha puesto atención sobre ello. En jugo de tuna no se han aplicado los tratamientos de altas presiones y ozonizado por lo tanto no existe evidencia que describa el efecto de éstos sobre este producto. La principal ventaja de éstas tecnología es la conservación de los atributos de calidad del alimento en fresco. Ante esto se propone investigar la estabilidad microbiológica y sensorial en el jugo de tuna, contribuir al desarrollo tecnológico para aprovechar la tuna en épocas de sobreproducción y por cual abatir los precios bajos.

4 OBJETIVOS

- Cuantificar las unidades formadoras de colonias ($\log\text{UFC mL}^{-1}$) de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y *Staphylococcus aureus* presentes en el jugo de tuna tratado con diferentes tiempos de exposición a ozono y con diferentes niveles de alta presión.
- Determinar la presencia o ausencia de hongos, levaduras y coliformes totales después de ozonizar durante 3, 6 y 8 min y después de aplicar diferentes niveles (100, 200, 300 y 400 MPa durante 5 min) de alta presión.
- Determinar qué método genera estabilidad microbiológica.
- Evaluar el efecto del ozonizado a los 3, 6 y 8 min de exposición en el jugo de tuna sobre su capacidad antioxidante, pH, SST, color, acidez titulable y sus atributos sensoriales color, sabor y aroma.

5 MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Fase experimental

5.1.1 Material vegetal

Los frutos de tuna blanca se adquirieron en madurez de consumo, sin daños mecánicos y libres de plagas y enfermedades.

5.1.2 Extracción del jugo de tuna

Los frutos de tuna se seleccionaron, se pesaron (10.83 kg), se lavaron y desinfectaron con una solución de cloro a 200 ppm durante 1 min. Posteriormente las tunas se mondaron manteniendo un ambiente de alta higiene para evitar la contaminación de los frutos (Figura 8). Una vez mondados se pasaron a un extractor de jugo casero, donde se separó las semillas y pulpa.

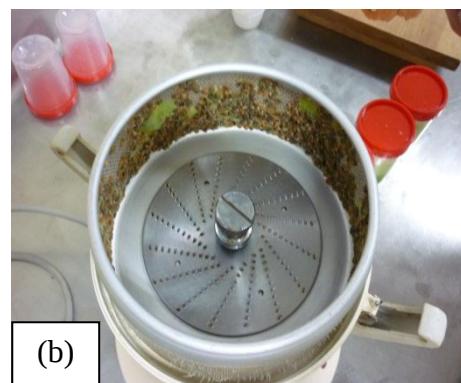


Figura 8. Mondado de tuna (a). Extracción del jugo de tuna con ayuda de un extractor de jugo casero (b).

El jugo extraído se filtró usando un colador casero con la finalidad de separar la pulpa y semilla restante (Figura 9).

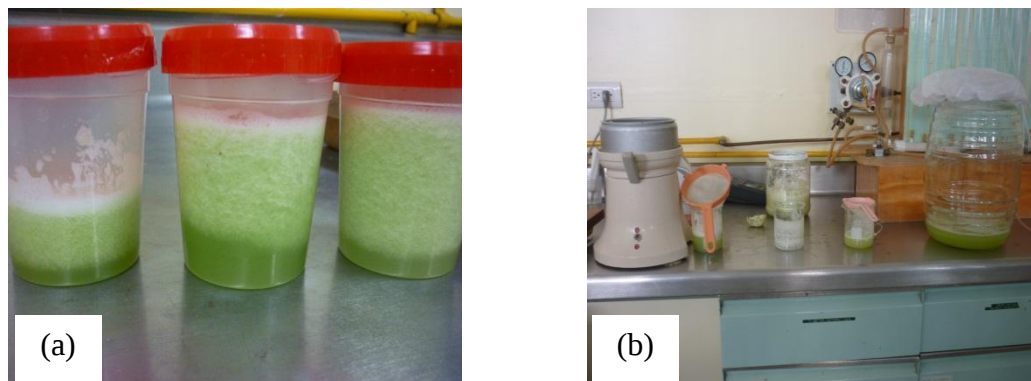


Figura 9. Obtención de jugo con pulpa (a). Filtrado de jugo de tuna (b).

5.1.3 Tratamientos y unidades experimentales

Se aplicaron siete tratamientos, cuatro correspondieron a la aplicación de la intensidad de alta presión (100, 200, 300 y 400 MPa) y tres correspondieron a la exposición del jugo (50 mL en recipientes para centrifuga, como unidad experimental) a flujo ($180 \text{ mg O}_3 \text{ hr}^{-1}$) de ozono durante tres tiempos (3, 6 y 8 min). Adaptado de la norma Europea UNE-1278, 2010.

Posteriormente, el jugo filtrado se envasó en tubos para centrifuga (50 mL de jugo como unidad experimental) para la aplicación de las altas presiones con el equipo (Elmhurst System Engineering, USA) (Figura 10). Metodología adaptada de Dong *et al.*, 2013; López *et al.*, 2007; Elke *et al.*, 2002).

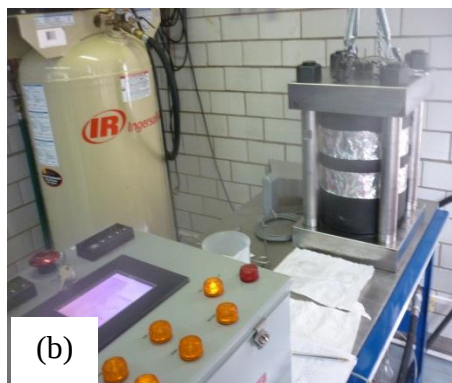
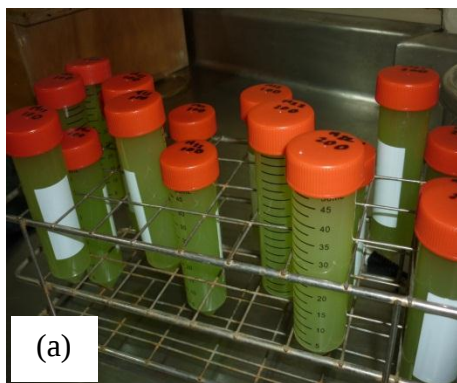


Figura 10. Envasado del jugo de tuna (a). Aplicación de las altas presiones en jugo (b).

El ozonizado del jugo de tuna se efectuó con un equipo marca (Biozon K-20, generador de ozono multifuncional) (Figura 11).



Figura 11. Ozonizado del jugo de tuna (a). Equipo generador de ozono (b)

Las muestras de jugo de tuna presurizada u ozonizada se mantuvieron a temperatura ambiente por 24 h para su posterior análisis microbiológico.

5.2 Variables respuesta

5.2.1 Parámetros microbiológicos

Número de unidades formadoras de colonias ($\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y *Staphylococcus aureus*

El análisis microbiológico se efectuó de acuerdo a la metodología descrita en la AOAC (1980), Pascual y Calderón (2000). Se tomaron 25 mL de muestra de jugo de tuna por cada tratamiento de presurizado y ozonizado, se le adicionó agua peptonada al 49 %, se homogeneizó por un minuto en una licuadora con vaso de aluminio (OSTER- 52G084) previamente esterilizada a ($110\text{ }^{\circ}\text{C } 3\text{ h}^{-1}$), las muestras homogeneizadas se vaciaron en frascos estériles de 500 mL con 225 mL de agua peptonada, denotándolos como primer dilución. De la primera dilución obtenida por tratamiento se extrajo 1 mL de muestra con una pipeta serológica estéril desechable y se transfirió a un tubo de cultivo con tapón de baquelita (20 x 150 mm. KIMAX 9825) estéril con 9 mL de agua peptona, obteniendo la dilución (10^{-1}), se efectuó sucesivamente el mismo procedimiento para cada tratamiento hasta obtener la dilución de (10^{-5}) (Figura 12). Por cada tratamiento se obtuvieron 4 primeras diluciones. Las diluciones que se consideraron para el análisis microbiológico fueron (Cuadro 8), 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} , la siembra se efectuó en cajas de Petri estériles desechables por triplicado.

Cuadro 8. Estructura de los tratamientos obtenidos y diluciones consideradas para el análisis microbiológico

Tratamiento	Repeticiones	Diluciones	Diluciones para siembra
*TEST	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}
HHP ₁₀₀	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}
HHP ₂₀₀	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}
HHP ₃₀₀	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}
HHP ₄₀₀	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}
O ₃ 3 min	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}
O ₃ 6 min	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}
O ₃ 8 min	4	10^{-1} - 10^{-5}	10^{-3} - 10^{-5}

*TEST (testigo, sin tratamiento); *HHP₁₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 100 MPa de presión); HHP₂₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 200 MPa de presión); HHP₃₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 300 MPa de presión); HHP₄₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 400 MPa de presión); O₃ 3 min (tratamiento de ozonizado durante 3 min de exposición); O₃ 6 min (tratamiento de ozonizado durante 6 min de exposición); O₃ 8 min (tratamiento de ozonizado durante 8 min de exposición).

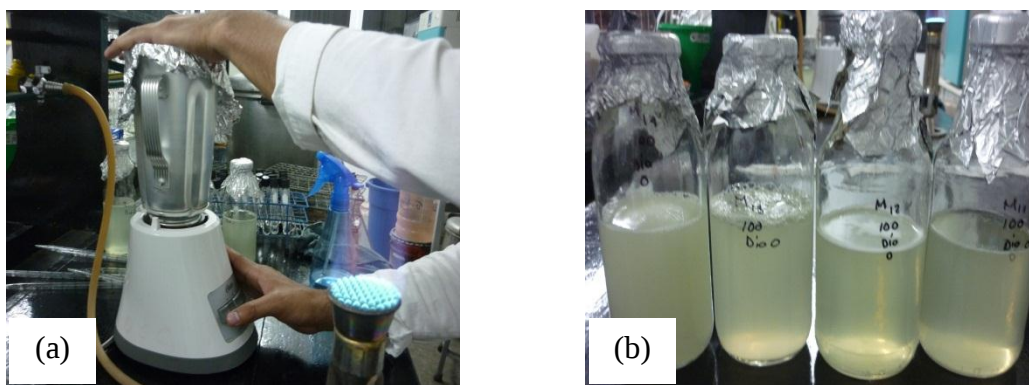


Figura 12. Homogenización de las muestras (a). Diluciones por muestra (b).

De las diluciones que se consideraron para el conteo en placa, se extrajo 0.1 mL de muestra por dilución, inmediatamente se transfirió en cajas de Petri estériles desechables con medio Agar nutritivo (BD Bioxon®) para la siembra de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y en cajas Petri estériles desechables con medio Baird Parker (BD Bioxon®) para *Staphylococcus aureus* (Figura 13). La siembra en placa se realizó por triplicado para cada dilución considerada. La técnica de siembra que se empleó fue la de extensión en superficie con ayuda de una varilla para siembra. Posteriormente las cajas de Petri sembradas se incubaron en una estufa de crecimiento microbiano ajustando una temperatura de 37 °C por 24 o 48 si es necesario para ambos microorganismos, culminando el tiempo establecido de incubación se realizó en conteo en placa. (AOAC, 1980; Pascual y Calderón, 2000).



Figura 13. Siembra en placa de BMA y *Staphylococcus aureus*.

5.2.2 Presencia o ausencia de coliformes totales

De las diluciones consideradas para análisis se tomó 1 mL de muestra por tubo de dilución, se transfirió a un tubo con 9 mL de medio caldo lauril sulfato con MUG (4-metilumbeliferil- β -glucoronido) y campana Durham (Figura 14). Se consideró tres series de tres tubos cada uno para la siembra. Posteriormente se incubaron los tubos sembrados a 37 °C durante 24 horas. Culminando el tiempo de incubación se efectuó la lectura detectando la presencia (+) o ausencia (-) de gas en los tubos Durham (Pascual y Calderón, 2000).



Figura 14. Muestras inoculadas en medio caldo lauril sulfato con MUG.

5.2.3 Presencia o ausencia de hongos y levaduras

Para la determinación de hongos y levaduras, la siembra se realizó en cajas de Petri estériles desechables con medio agar dextrosa y papa (BD Bioxon ®), de las diluciones (10^{-3} - 10^{-5}) se tomó 0.1 mL de muestra por tubo, se colocó en las cajas de Petri. La siembra se efectuó con la técnica de extensión en superficie. Las cajas sembradas se incubaron a 25 °C por 5 días, al término del tiempo de incubación de prosiguió a la lectura de presencia (+) o ausencia (-) de hongos y levaduras, considerando colonias presentes en el medio de siembra (Pascual y Calderón, 2000).

5.3 Variables físicos y químicos

Cabe mencionar que para el análisis de los parámetros físicos y químicos solo se efectuó con los tratamientos de ozonizado durante 3, 6 y 8 minutos de exposición.

5.3.1 Color

Esta variable se evaluó con un colorímetro Hunter Lab modelo Mini Scan XE Plus No.450/O-L-USA utilizando la escala del Cielab de Hunter (L^* , a^* , b^*), donde L^* define la luminosidad o brillantez de la muestra cuyos valores varían desde 0 que representa colores totalmente oscuros (negros) hasta 100 que representa colores de máxima brillantez (blanco); a^* mide la diferencia entre la luz reflectada por la muestra en la zona de rojo a verde, donde los valores negativos de a^* indican tonalidades verdes mientras que los positivos indican tonalidades de rojas. El parámetro b^* mide la diferencia entre la luz reflectada en la zona de amarillo a azul, donde los valores negativos definen tonalidades azules, en tanto que los valores positivos indican tonalidades amarillas (Minolta, 1994). Con esta información se calcularon la

cromaticidad ($C = (a^2 + b^2)^{\frac{1}{2}}$) y el ángulo de tono o matiz $H = \arctan(\frac{b}{a})$ (Ferrari *et al.*, 2010; McGuire, 1992; Calvo, 1989).

5.3.2 pH

Se determinó mediante un potenciómetro digital (Hanna Instrumets-USA) previamente calibrado con una solución Buffer a un pH de 6,8. El electrodo se sumergió en el jugo de tuna utilizado y se registró la lectura después de estabilizarse (981.12-AOAC, 1980).

5.3.3 Sólidos solubles totales

Se determinó con la ayuda de un refractómetro digital portátil PAL-1 (ATAGO, USA). Utilizando una escala de 0-53°, expresados en °Brix a 20 °C previamente calibrado con agua destilada.

5.3.4 Acidez titulable

Se determinó por el método descrito en el manual AOAC (2000), que se basa en la titulación de 10 mL de muestra de jugo de tuna con una solución valorada de NaOH 0.1 N, y fenolftaleína como indicador. Se reporta como porcentaje de ácido cítrico (Figura 15).



Figura 15. Determinación de acidez titulable.

5.3.5 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó por el método ABTS siguiendo la metodología propuesta por Re *et al.* (1999) y modificada por Kuskoski *et al.* (2004). Se tiene que formar el radical ABTS⁺ colocando 0.0066 g de persulfato de potasio y 0.0388 g de reactivo ABTS (2,2-azinobis (3-ethylbenzthiozoline)-ácido 6-sulfónico) en un frasco de vidrio ámbar. Se añaden 10 mL de agua destilada, la mezcla se agita perfectamente y se deja reposar por 16 horas en la oscuridad a temperatura ambiente para utilizarse en intervalo de 24 horas posteriores. Se realiza una mezcla etanol absoluto con el radical ABTS⁺ hasta alcanzar una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 754 nm. Se mezclan 3920 µL de la solución de radical ABTS: etanol y se registra su absorbancia como la absorbancia inicial. Se adicionan 40 µL de la muestra (jugo) y en ese momento se empieza a contar el tiempo de la reacción (tiempo cero). Concluida la reacción (7 minutos después) se registra nuevamente la lectura de absorbancia y se considera como la absorbancia final. Con los datos anteriores se calcula el porcentaje de inhibición aplicando la siguiente

$$\text{formula } U_I = \left(\frac{A_i - A_f}{A_i} \right) * 100$$

La curva estándar se obtiene tomando alícuotas de una solución madre de Trolox (0.2 mg mL⁻¹). Se realizan diluciones de esta solución madre de la siguiente manera (mL solución madre de Trolox: agua destilada): 0:10, 0,625:9,375, 1,25:8,75, 1,875:0,875, 2,5:7,5, 3,125:6,875: 6,25:3,75, 7,5:2,5, 8,75:1,25, 10:0, para obtener 10 puntos de la curva estándar.

5.4 Evaluación sensorial del jugo natural y del jugo ozonizado

La evaluación se llevó a cabo con un grupo de 100 panelistas conformado entre hombres y mujeres con edades que fluctuaron entre 15 y 23 años. Se realizó una prueba afectiva de aceptabilidad en la que se evaluaron atributos como color, sabor y aroma así como aceptabilidad global de la muestra, mediante una escala hedónica de nueve puntos en la cual el valor más bajo fue 1 que correspondió a “me disgusta extremadamente”, hasta el valor máximo de 9 que correspondió a “me gusta extremadamente”. Se obtuvo 4 litros de jugo por tratamiento y se prepararon 4 tipos de muestras, la muestra A fue jugo de tuna sin ningún tratamiento, muestra B jugo de tuna ozonizado durante 3 min de exposición, muestra C jugo de tuna ozonizado durante 6 min de exposición, D jugo de tuna ozonizado durante 8 min de exposición.

Las muestras se presentaron en forma aleatoria y balanceada a los panelistas, en vasos de 25 mL con números aleatorios de tres dígitos, todas las muestras de jugos estuvieron a temperatura ambiente. Los panelistas evaluaron una muestra a la vez. El cuestionario que se aplicó se encuentra en el Anexo 1.

5.5 Análisis estadístico

Los resultados se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza y comparación de medias (Tukey, $p = 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS Statistical Analysis System, versión 9.1 2009. La unidad experimental estuvo constituida por 50 mL de jugo de tuna con cuatro repeticiones para los tratamientos de ozonizado y presurización con el cual se efectuó el análisis microbiológico y 50 mL de jugo únicamente ozonizado con seis repeticiones para los parámetros físicos y químicos.

Se hizo uso de la estadística no paramétrica mediante tablas de contingencia para la determinación de presencia (+) o ausencia (-) de hongos, levaduras y coliformes totales.

A continuación se describen los tratamientos que se generaron y las condiciones de tratamientos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Tratamientos ensayados.

Tratamiento	Condiciones de tratamientos
TEST*	Tratamiento testigo
HHP ₁₀₀	100 MPa de presión por 5 minutos
HHP ₂₀₀	200 MPa de presión por 5 minutos
HHP ₃₀₀	300 MPa de presión por 5 minutos
HHP ₄₀₀	400 MPa de presión por 5 minutos
O ₃ 3 min	Ozonizado durante 3 minutos de exposición
O ₃ 6 min	Ozonizado durante 6 minutos de exposición
O ₃ 8 min	Ozonizado durante 8 minutos de exposición

TEST*: Testigo, jugo de tuna sin ningún tratamiento

Para el análisis sensorial de los parámetros de color, sabor y aroma se aplicó un diseño de bloques completamente al azar (Hernández, 2007). Como factor de bloqueo se consideró la edad de los panelista. Se evaluó la aceptabilidad por atributo y aceptabilidad global entre el jugo de tuna blanca sin tratamiento (TEST) y el jugo tratado recién extraído durante 3, 6 y 8 min de ozonizado.

6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Parámetros microbiológicos

6.1.1 Bacteria mesófilas aerobias (BMA)

Las bacterias mesófilas aerobias presentaron reducciones en las colonias por efecto de las altas presiones a partir del tratamiento de 300 MPa, y el efecto estresante del ozonizado a partir de los 6 min de exposición. Los mejores tratamientos fueron, 400 MPa y el ozonizado durante los 8 min. En las BMA no se presentaron reducciones en las poblaciones con niveles de presión de 100 MPa ($6.47 \log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) y 200 MPa ($6.47 \log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) con respecto al tratamiento testigo ($6.47 \log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) (Cuadro 10).

Ochoa y Guerreiro (2013) reportan $6.37 \log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ en jugo de tuna sin ningún tratamiento, valor aproximado que se detectó en este estudio con los tratamientos testigo, 100 y 200 MPa. Caso contrario a lo que reporta Kim *et al.* (2001) en jugo de zanahoria tratada con presiones de 100 y 200 MPa por 10 min, que obtuvieron reducciones de 5.11 y $4.94 \log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$, respectivamente, esta diferencias pueden deberse al tiempo prolongado por el cual se expone el jugo de zanahoria, que para esta investigación se propuso 5 min de exposición para evitar demeritar la calidad física, química y nutricional del jugo. Cuando se intensificó el nivel estresante de alta presión, se obtuvo una reducción de 3.32 y $0.88 \log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ de BMA con 300 y 400 MPa,

respectivamente. Esto coincide con lo reportado por Dong *et al.* (2013) quienes obtuvieron reducciones de 2.82 y 1.52 $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ de BMA con presiones de 300 y 400 MPa por 5 minutos, respectivamente, en jugo de granada. Sin embargo, Kim *et al.* (2001) reportaron 4.17 $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ a 300 MPa y tratamientos de presiones superiores a 400 MPa no detectaron colonias de mesófilos aerobios. Tal resultado puede deberse a la compresión de las bacterias efecto de la presurización. Por otro lado Rademacher *et al.* (1998) y Palou *et al.* (2002) consideran que el efecto de la alta presión con niveles de presión superiores a 400 MPa equivale a un tratamiento de pasteurización (72 °C 15 s) y tal efecto sugiere que existe una ruptura de la membrana celular de las bacterias. Sin embargo, Mackey *et al.* (1995) reportaron que existe una acción sinérgica entre la disminución de pH por efecto de la alta presión y los altos niveles de presión.

Por otra parte, los mejores resultados del ozonizado en cuanto a reducción de población de mesófilos se presentaron a partir de los 6 y 8 minutos de exposición. Se obtuvieron reducciones de 4.52 y 0.88 $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ de BMA, respectivamente (Cuadro 10). Por su parte, Song *et al.* (2014), Achen y Yousef (2001) reportaron reducciones de 3,7 y 2,6 $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ con tiempos de exposición superiores a los 5 minutos en jugos ozonizados de manzana y naranja, respectivamente. En contraparte, Rodgers *et al.* (2004) reportaron reducciones de hasta 5 $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ en jugos de manzanas y fresas. Estos resultados sugieren un efecto oxidativo en las células bacterianas. (Ballater *et al.* 2010; Galindo y Lissette, 2006; Pérez, 2005) reportan que el ozono mata a la bacteria por medio de la ruptura de la membrana celular (lisis celular), esta acción comienza la destrucción de la capacidad de la célula de funcionar, liberando peróxidos, que son

también desinfectantes, todo esto conduce a la dispersión del citoplasma y por consiguiente a la muerte del microorganismo.

De acuerdo con lo anterior se puede pensar que al aumentar la presión y el tiempo de ozonizado, superiores a 400 MPa y 6 min, respectivamente se estabiliza microbiológicamente el jugo de tuna, obteniendo un jugo que cumple con los estándares sujetos a las normas (NOM-130-SSA1, 1995; NMX-F-045, 1982; CODEX STAN 247, 2005) establecidas para jugos y néctares pasteurizados.

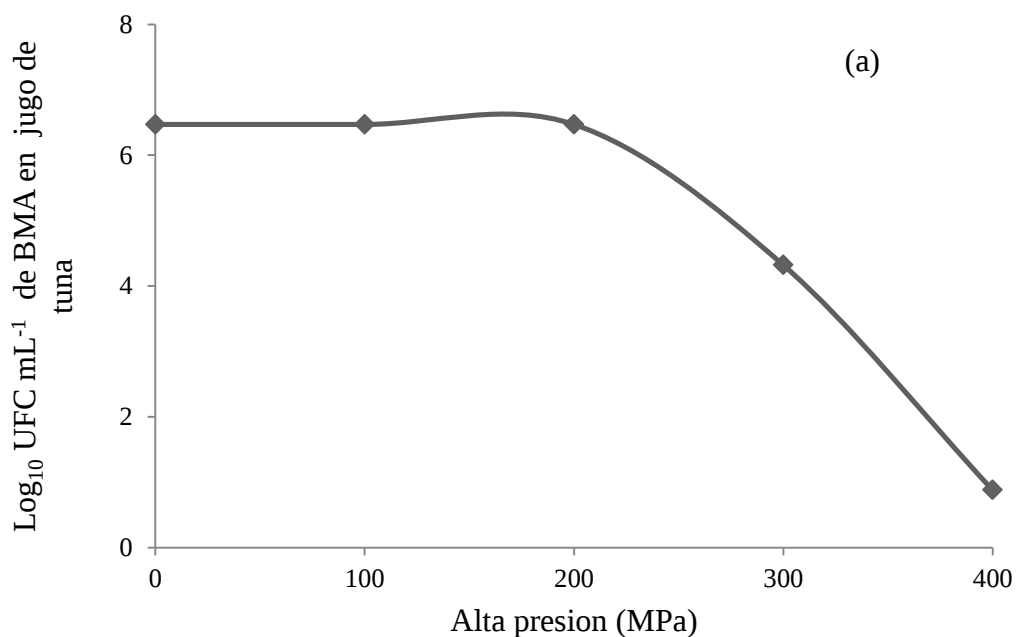
Cuadro 10. Número promedio de unidades formadoras de colonias por ml ($\log_{10}$ UFC mL^{-1}) de bacterias mesófilas aerobias en jugo (recién extraído) de tuna blanca, tratado con diferentes niveles de alta presión hidrostática y diferentes tiempos de ozonizado.

Tratamiento	$\log_{10}$ UFC mL^{-1} de Mesófilos aerobios
TEST	6.47 ± 0.00^a
HHP ₁₀₀	6.47 ± 0.00^a
HHP ₂₀₀	6.47 ± 0.00^a
HHP ₃₀₀	3.32 ± 2.21^d
HHP ₄₀₀	0.88 ± 1.76^e
O ₃ 3 min	5.97 ± 0.38^{18b}
O ₃ 6 min	4.52 ± 0.35^c
O ₃ 8 min	0.88 ± 1.76^e

^vvalores promedios con la misma letra dentro de las columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). $\bar{X} \pm \sigma$ (Media $\pm$ desviación estándar).

*TEST (tratamiento testigo); *HHP₁₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 100 MPa de presión); HHP₂₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 200 MPa de presión); HHP₃₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 300 MPa de presión); HHP₄₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 400 MPa de presión); O₃ 3 min (tratamiento de ozonizado durante 3 min de exposición); O₃ 6 min (tratamiento de ozonizado durante 6 min de exposición); O₃ 8 min (tratamiento de ozonizado durante 8 min de exposición).

En la Figura 16 se observa claramente una reducción de las poblaciones de BMA por nivel de tratamiento de alta presión y ozonizado. A mayor nivel de presión y tiempo de ozonizado mayor efecto antimicrobiano. Los tratamientos de presurizado con 400 MPa y ozonizado durante 8 min tendieron a reducir las poblaciones de BMA hasta 0.88 logUFC mL⁻¹ (Figura 16 (a)). Tal comportamiento se puede comparar con lo observado por Wang *et al.* (2012) quienes mencionan que a presiones superiores por arriba de los 350 y 400 MPa por 5 y 10 min a temperatura ambiente se tiende a la muerte total de BMA en jugo de granada. Por otra parte, Kim *et al.* (2001) y Arroyo *et al.* (1997), reportaron que el ozonizado por arriba de los durante 6 min presentaron efecto similar en jugo naranja y jugo de arándano, efecto similar que se observa en el jugo de tuna (Figura 16 (b)).



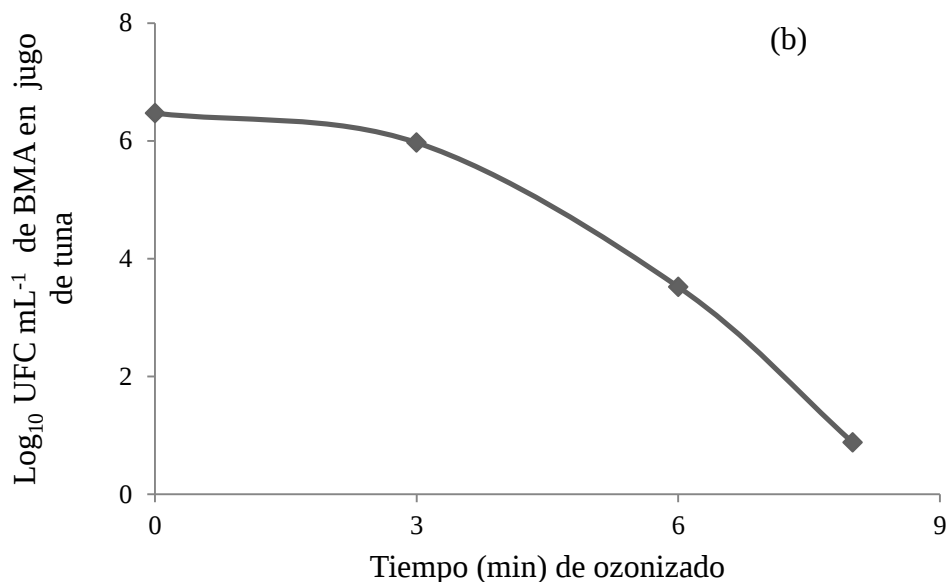


Figura 16. Unidades formadoras de colonias por mL ($\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) de bacterias mesófilas aerobias en jugo (reciente extraído) de tuna blanca tratada con diferentes niveles: (a) de alta presión (100, 200, 300 y 400 MPa) y (b) ozonizado durante diferentes tiempos (3, 6 y 8 min).

6.1.2 *Staphylococcus aureus*

La sensibilidad de *S. aureus* a los tratamientos de las altas presiones y ozonizado mostraron reducciones significativas en las poblaciones de estas bacterias. La reducción de 6.42 y 5.69 $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ se observó a partir del nivel 100 MPa de presión con respecto al tratamiento testigo (Cuadro 11). Estos resultados concuerdan con los reportados por Arroyo *et al.* (1997) de (1 a 6 $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) con 100 y 400 MPa de presión por 10 min, respectivamente, col, lechugas precortadas.

Dentro de los niveles de alta presión el nivel 400 MPa fue el mejor tratamiento que redujo hasta $0.88 \log_{10}\text{UFC ml}^{-1}$ en el jugo de tuna. Tellez *et al.* (2001) reportan reducciones hasta $0.998 \log_{10}\text{UFC ml}^{-1}$ de *S. aureus* en pastel de arroz sometido a tratamientos de 400 MPa por 10 min, efecto similar ocurre en salchichas y pasteles de pescados. Sin embargo, (Takahashi *et al.* 1993; Butz *et al.* 1990) reportaron en carne de cerdo, que a niveles superiores a los 600 MPa se obtuvieron cero $\log_{10}\text{UFC ml}^{-1}$. Por otra parte, se difiere de lo obtenido por O'Reilly *et al.* (2000) quienes reportaron $4 \log_{10}\text{UFC ml}^{-1}$ de *S. aureus*, en queso Cheddar tratado a 400 MPa de presión por 20 min, esto podría deberse a la presencia de diferentes cepas de *S. aureus* presentes en queso que son resistentes a las altas presiones (Patterson *et al.*, 1995; O'Reilly *et al.*, 2001) o sugiere que las características del producto son otras y por consiguiente el comportamiento de *S. aureus*. Cabe mencionar que dentro las bacterias gram-positivas no esporuladas, *S. aureus* es la más resistente a las altas presiones (Elke *et al.* 2002; Wuytack *et al.*, 2002; Patterson *et al.*, 1995). Los resultados obtenidos en el jugo de tuna son similares reportados por (Lopez *et al.* 2007; Gervilla *et al.* 1999; Patterson y Kilpatrick, 1998) en leche cruda de vaca (2 y $3 \log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) a 400 MPa por 10 y 15 min, respectivamente.

El ozonizado a 8 min provocó la muerte de *Staphylococcus aureus*, se observó cero colonias de esta bacteria (Cuadro 11). Estos resultados difieren con lo reportado por Uradziński *et al.* (2005) donde se menciona que al esterilizar líneas de procesos en intervalos de tiempos por 20 min hasta alcanzar 120 min en tiempo total de exposición, a concentraciones 0.03 mg m^{-3} con ozono, se obtienen 0 y $1 \log_{10}\text{UFC ml}^{-1}$ de *S. aureus* y *Salmonella Enteritidis*, respectivamente, esto podría deberse a que *S.aureus* presenta

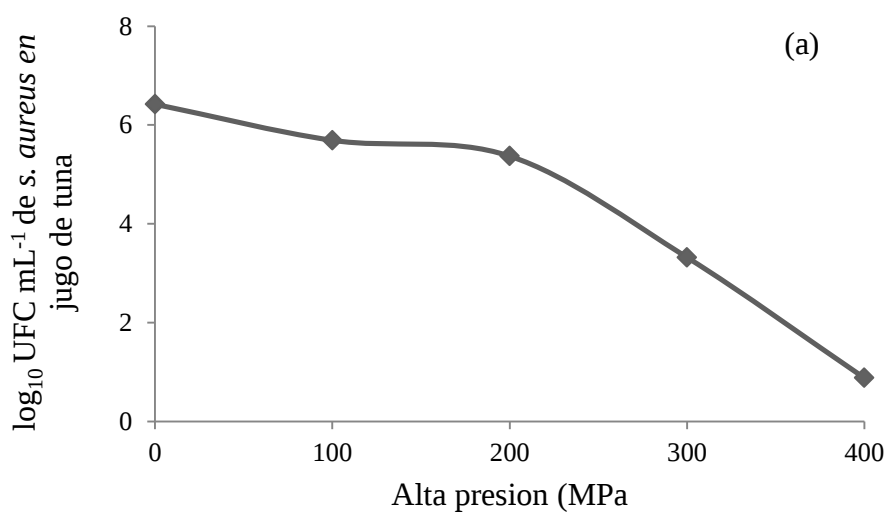
mayor resistencia al ozono a bajas concentraciones 0.04 mg m^{-3} , y se establece que la inactivación de las bacterias sigue una ley cinética de segundo orden dependiendo de las concentraciones de ozono disuelto y de los microorganismos (Lezcano *et al.*, 2001). Algunos autores reportan que la inactivación de algunos microorganismos como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeruginosa Pseudmonas* y *Salmonella typhimurium*, se debe a la oxidación de las células, péptidos, proteínas, grupos sulfhidrilo y aminoácidos de las enzimas, lo que contribuye al aumento de la permeabilidad celular de los microorganismos, dando como resultado la lisis celular (Guzel-Seydim *et al.*, 2004; Khadre *et al.*, 2001; Restaino *et al.*, 1995).

Cuadro 11. Número promedio de unidades formadoras de colonias por mL ($\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) de *Staphylococcus aureus* en jugo (recién extraído) de tuna blanca, tratado con diferentes niveles de alta presión hidrostática y diferentes tiempos de ozonizado.

Tratamiento	$\text{Log}_{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ de <i>Staphylococcus aureus</i>
*TEST	6.42 ± 0.06^a
*HHP ₁₀₀	5.69 ± 0.91^b
*HHP ₂₀₀	5.37 ± 1.16^d
*HHP ₃₀₀	3.32 ± 2.21^f
*HHP ₄₀₀	0.88 ± 1.76^g
*O ₃ 3 min	5.66 ± 3.09^e
*O ₃ 6 min	4.63 ± 0.68^c
*O ₃ 8 min	0 ± 0.00^h

^vvalores promedios con la misma letra dentro de las columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). $\bar{X} \pm \sigma$ (Media $\pm$ desviación estándar). *TEST (tratamiento testigo); *HHP₁₀₀ (tratamiento de alta presión Hidrostática a 100 MPa de presión); HHP₂₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 200 MPa de presión); HHP₃₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 300 MPa de presión); HHP₄₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 400 MPa de presión); O₃ 3 min (tratamiento de ozonizado durante 3 min de exposición); O₃ 6 min (tratamiento de ozonizado durante 6 min de exposición); O₃ 8 min (tratamiento de ozonizado durante 8 min de exposición).

Con base en el análisis estadístico se detectó diferencias significativas en las poblaciones de *Staphylococcus aureus* en el jugo de tuna tratada a niveles de (100-400 MPa) y a tiempos de (3-8 min) de ozonizado. Al aumentar los niveles de cada tratamiento se tiende a lograr la muerte bacteriana. Esto puede deberse a que el ozono es altamente oxidante y no presenta efecto inhibidor reversible en las enzimas intracelulares, y las altas presiones a niveles superiores a 300 MPa provocan ruptura celular, ambas condiciones son efectivas para reducir el $\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$ o por consiguiente causar la muerte de las bacterias principalmente *S. aureus* (Pérez, 2004; Parish *et al.*, 2003). El comportamiento de *S. aureus* en las muestras presurizadas y ozonizadas indicaron reducciones significativas por nivel de alta presión y tiempo de ozonizado. A mayor tiempo de exposición de ozonizado mayor intervalo de reducción logarítmica, un efecto similar ocurre con los niveles de alta presión (Figura 17).



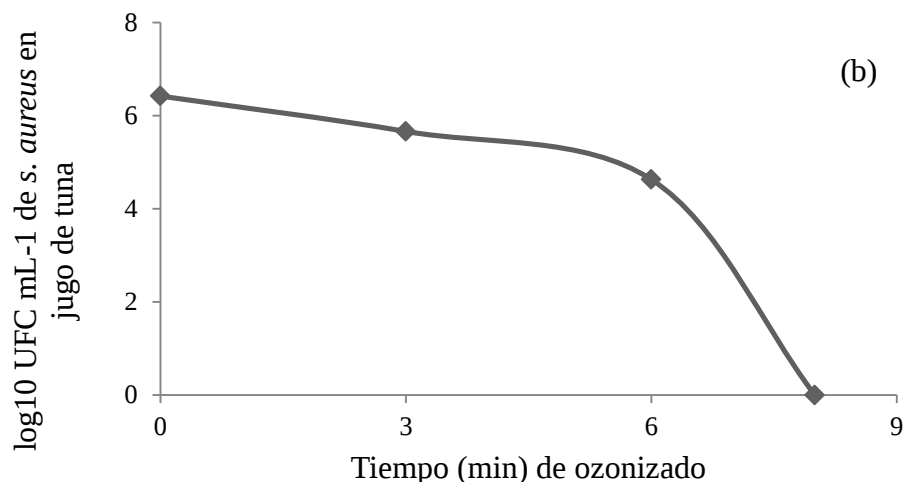


Figura 17. Unidades formadoras de colonias por mL ($\log_{10}\text{UFC mL}^{-1}$) de *Staphylococcus aureus* en jugo (reciente extraído) de tuna blanca tratada con diferentes niveles: (a) de alta presión 100, 200, 300 y 400 MPa y (b) ozonizado durante diferentes tiempos 3, 6 y 8 min.

6.1.3 Coliformes totales

Las muestras tratadas a niveles de 300 y 400 MPa presentaron ausencia de coliformes en el jugo de tuna, Cuadro 12. Estos resultados concuerdan con Parish, 2003; Michiels, 2002; Linton, 2001; Elke *et al.*, 2002 quienes reportaron que a niveles superiores a 300 y 500 MPa de presión no se detectó presencia de coliformes en leche cruda de vaca y quesos, respectivamente, e indicaron que a tratamientos superiores a 300 MPa se afecta la morfología celular en diferentes aspectos. La estructura de las vacuolas colapsa y existe desnaturalización irreversible de las enzimas y por consiguiente provoca muerte bacteriana. Por otro lado, por debajo de los 300 MPa de presión aún se detectaron presencia de coliformes en el jugo de tuna, estos resultados coinciden con lo reportado por Elke *et al.*, 2002; Pagan y Mackey, 2000 quienes encontraron que a presiones en el intervalo de 100-300 MPa, los coliformes aún se hacen presentes en queso. A estas

condiciones de presión no se causan lesiones considerables para provocar ruptura en la pared celular o desnaturalización de las proteínas (Ritz *et al.*, 2001; Ritz *et al.*, 2000).

Un efecto similar ocurre en el jugo ozonizado a 6 y 8 min de exposición, la presencia de coliformes es nula (cero) (Cuadro 12). Castro y Quispe, 2010; Kim *et al.*, 1999 reportaron un efecto similar en naranjas, manzanas, zanahorias, pepinos y lechugas, establecen que los tratamientos mayores a 3 mg m^{-3} de ozono y a tiempos superiores a los 4 minutos se reduce drásticamente el contenido de patógenos y superiores a 6 minutos no detectaron presencia de coliformes totales y fecales. Por el contrario, (Klaiber *et al.*, 2004; Baur *et al.*, 2004; Yuan *et al.*, 1998) evaluaron la eficacia bactericida del ozono en el lavado de manzanas, naranjas y papas, respectivamente, concluyeron que a concentraciones de ozono por debajo de 3 mg m^{-3} durante 3 min de exposición es inefectivo para la eliminación de coliformes totales, efecto que se presenta en el jugo de tuna a los 3 min de exposición con ozono.

Cuadro 12. Tabla de contingencia para determinar la presencia o ausencia de coliformes totales en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado con diferentes niveles de alta presión y diferentes tiempos de ozonizado.

Coliformes totales		
Tratamiento	Presencia	Total de muestras
*TEST	12/12	12
HHP ₁₀₀	12/12	12
HHP ₂₀₀	12/12	12
HHP ₃₀₀	1/12	12
HHP ₄₀₀	0/12	12
O ₃ 3 min	7/12	12
O ₃ 6 min	0/12	12
O ₃ 8 min	0/12	12
Total	44	96

*TEST (tratamiento testigo); *HHP₁₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 100 MPa de presión); HHP₂₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 200 MPa de presión); HHP₃₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 300 MPa de presión); HHP₄₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 400 MPa de presión); O₃ 3 min (tratamiento de ozonizado durante 3 min de exposición); O₃ 6 min (tratamiento de ozonizado durante 6 min de exposición); O₃ 8 min (tratamiento de ozonizado durante 8 min de exposición).

La presencia o ausencia de coliformes totales fue determinada por la producción de gases en los tubos con muestras. La presencia de gas indicó presencia de coliformes (Figura 18)



Figura 18. Detección de gas (presencia de coliformes) en tubos Durham.

6.1.4 Hongos

En las muestras analizadas de jugo de tuna sometidas a presiones de 100 a 400 MPa de presión tuvieron efecto en las poblaciones. En todas las muestras hubo presencia de hongos, por lo que los tratamientos no tuvieron algún efecto letal en estos microorganismos. Estos resultados difieren por lo reportado por Wang *et al.* (2012) quienes establecen que bajo condiciones de presurizado en puré de patatas a 400, 500 y 600 MPa por 2.5, 5 y 10 min, respectivamente, no haber detectado la presencia de hongos, esto concuerda con lo reportado por (Lavinias *et al.*, 2008; Timmermans *et al.*, 2011; Varela-Santos *et al.*, 2012; Barba *et al.*, 2012) en jugos de marañón, naranja, granada y jugo de arándano, respectivamente. Cabe mencionar, que estas condiciones son superiores en tiempo y presión a los establecidos en esta investigación, lo cual puede deberse a la diferencia de resultados. Parish (2003) por su parte reportó que las esporas de hongos se inactivan a presiones que oscilan entre 300-400 MPa a temperatura ambiente y bajo condiciones de refrigeración a 4 °C. Sin embargo, López-Malo *et al.* (1999) reportaron que la inactivación de microorganismos vegetativos se da entre 400-

600 MPa, mientras que las esporas de algunas especies son resistentes a presiones mayores a 1000 MPa a temperatura ambiente.

Las muestras de jugo ozonizado expuestas durante 3, 6 y 8 min no presentaron efecto en las colonias de hongos. Estos resultados concuerdan con lo reportado por (Vijayanandraj *et al.*, 2006; Smilanick *et al.*, 2002) confirman que el ozono durante tiempos de exposición durante 3 y superiores a 6 min no tuvieron efecto inhibitor en poblaciones de hongos presentes en cebollas y frutas almacenadas, respectivamente. Por el contrario, Arnal *et al.* (2005) reportaron que el ozono a bajas concentraciones (0.3 mg L^{-1}) reducen la aparición de hongos en cámaras de almacenamiento, se ha demostrado que las atmosferas enriquecidas con ozono retrasan el crecimiento de hongos (Liew y Prange, 1994; Sarig *et al.*, 1996) y se vuelve aún más eficiente a exposiciones continuas y a bajas temperaturas (5°C) (Palou *et al.*, 2002). Sin embargo, (Graham, 2002; Loeb, 2005) reportaron que tratamiento con ozono durante 3 min y 1.5 mg L^{-1} solo permiten inactivar a las esporas de hongos, mas no causar la muerte. Tales resultados pueden deberse a que el efecto del ozono varía en función de los productos tratados (Tzortzakis *et al.*, 2007; Palou *et al.*, 2002; Palou *et al.*, 2003). Sin embargo, (Zotti *et al.*, 2008; Catalgo, 2008; Wang *et al.*, 2008; Rice, 2007; Palou *et al.*, 2002), establecieron que el ozonizado es un método eficiente para la degradación de micotoxinas producidas por hongos, que pueden presentarse en frutas, hortalizas y alimentos líquidos.

6.1.5 Levaduras

Las levaduras son sensibles a presiones de 400 MPa, se logró reducir el 50% la presencia de las colonias en muestras de jugo con respecto al tratamiento testigo. Niveles inferiores a 400 MPa no se detectó efecto significativo (Cuadro 13). Estos

resultados concuerdan con lo reportado por (Wang *et al.*, 2012; Barba *et al.*, 2012; Varela-Santos *et al.*, 2012; Timmermans *et al.*, 2011; Tellez *et al.*, 2001) reportaron inhibición de las levaduras en pure de patata, jugo de marañón, naranja y jugo de granada, respectivamente, a presiones superiores a 400 MPa, establecen que se debe a que varias enzimas que son inactivadas, principalmente la carboxipeptidasas lo que provoca dislocación de la membrana, disminución del transporte activo de protones y por consiguiente acidificación del pH celular. Esto sugiere un efecto similar en las colonias de levaduras presente en el jugo de tuna. Por otra parte Farkas y Hoover (2000) establecieron que a presiones inferiores a 400 MPa las levaduras no presentan ningún daño interno. Al respecto Kims *et al.* (2001) reportaron reducciones de 4.40, 4.35 y 3.01 Log₁₀ UFC mL⁻¹ con relación al testigo (5.54 Log₁₀ UFC mL⁻¹) a presiones de 100, 200, 300 MPa, respectivamente, y a presiones superiores a los 400 MPa no detectaron presencia de levaduras en jugo de zanahoria. Durante el tratamiento de altas presiones, existen dos efectos que determinan la seguridad y estabilidad microbiológica de los alimentos: el efecto en el alimento durante el tratamiento y el comportamiento de los microorganismos después del tratamiento. Por ejemplo, con el uso de altas presiones en productos con bajo pH, como son los jugos, se puede lograr una inactivación efectiva de formas vegetativas de microorganismos deteriorativos y microorganismos patógenos (Palou *et al.*, 2002).

Con respecto al ozonizado durante 3, 6 y 8 min de exposición el más eficiente fue el de 8 minutos ya que redujo un 80% la presencia de levaduras (Cuadro 13). Esto resultados concuerda con lo reportado por Savi *et al.* (2014). Por otra parte, Sarig *et al.* (1996), Loeb (2005) observaron el mismo efecto en uvas ozonizadas durante 20 min. Sin

embargo, Calvo (2004), Arnal *et al.* (2005) reportaron que el ozono es activo a bajas concentraciones por tiempos prolongados mayores 8 min para presentar efecto inhibitor en las enzimas intracelulares de levaduras. Estos resultados sugieren que al aumentar el tiempo de ozonizado las levaduras se someterán a un estado más estresante y por consiguiente la ausencia total del estos.

Cuadro 13. Tabla de contingencia para determinar la presencia o ausencia de levaduras en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado con de diferentes niveles de alta presión y diferentes tiempos de ozonizado.

Tratamiento	Levaduras	
	Presencia (proporción de muestras positivas)	Total de muestras
*TEST	12/12	12
HHP ₁₀₀	12/12	12
HHP ₂₀₀	12/12	12
HHP ₃₀₀	12/12	12
HHP ₄₀₀	6/12	12
O ₃ 3min	12/12	12
O ₃ 6 min	12/12	12
O ₃ 8 min	2/12	12
Total	80	96

*TEST (tratamiento testigo); *HHP₁₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 100 MPa de presión); HHP₂₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 200 MPa de presión); HHP₃₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 300 MPa de presión); HHP₄₀₀ (tratamiento de alta presión hidrostática a 400 MPa de presión); O₃ 3 min (tratamiento de ozonizado durante 3 min de exposición); O₃ 6 min (tratamiento de ozonizado durante 6 min de exposición); O₃ 8 min (tratamiento de ozonizado durante 8 min de exposición).

6.2 Parámetros fisicoquímicos

6.2.1 Sólido solubles totales (SST), pH, AT (acidez titulable)

El comportamiento observado en SST (Cuadro 14) del jugo de tuna fue similar a lo reportado por (Tiwari *et al.*, 2009b, e; Jaramillo, 2014) en jugo ozonizado (0-10 min) de tomate y durazno, respectivamente. Otros autores reportaron (Askar y Elisamahy, 1981; Gurrieri *et al.*, 2000; Piga, 2004; Sawaya *et al.*, 1983) una disminución de 10.7 (testigo) a 17.0 (ozonizado durante 6 min) en jugos. Estos resultados sugieren que a mayor tiempo de ozonizado se tiende a reducir ligeramente los SST.

El valor del pH aumentó de 5.41 (TEST) a 6.54 (O₃ 8 min) y el porcentaje de acidez titulable (%AT) disminuyó de 5.65 (TEST) a 2.77 (O₃ 8 min) (Cuadro 14). Este comportamiento también se observó en jugo de uva y durazno (Tiwari *et al.*, 2009b, e; Tiwari *et al.*, 2008; Jaramillo, 2014) y (Choi y Nielsen, 2005) al evaluar la aplicación de ozono en sidra de manzana sin alcohol. De igual manera Bataller *et al.* (2010) en tomates ozonizados.

Cuadro 14. Parámetros fisicoquímicos pH, SST y acidez titulable (% de ácido cítrico, AT) en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado con diferentes tiempos de ozonizado.

Tratamiento	SST	pH	% AT
TEST	12.78 ± 0.40 ^{av}	5.41 ± 0.03 ^{dv}	5.65 ± 0.48 ^{av}
O ₃ 3 min	12.25 ± 0.13 ^b	5.97 ± 0.008 ^c	2.88 ± 0.35 ^b
O ₃ 6 min	12.78 ± 0.20 ^a	6.48 ± 0.01 ^b	2.77 ± 0.33 ^c
O ₃ 8 min	12.13 ± 0.16 ^c	6.54 ± 0.01 ^a	2.77 ± 0.33 ^c

^vvalores promedios con la misma letra dentro de las columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). $\bar{X} \pm \sigma$ (Media $\pm$ desviación estándar).

*TEST (tratamiento testigo); O₃ 3min (tratamiento de ozonizado durante 3 min de exposición); O₃ 6 min (tratamiento de ozonizado durante 6 min de exposición); O₃ 8 min (tratamiento de ozonizado durante 8 min de exposición).

6.2.2 Color

Los parámetro L*, a* y b* disminuyeron ligeramente con respecto al aumento del tiempo se ozonizado. Efecto similar se presentó en H* (Hue) y C* (Chroma) (Cuadro 15). Estos resultados concuerdan con lo reportado por (Torres *et al.*, 2011; Patil *et al.*, 2010) en jugo de manzana y frutillas, respectivamente. Aunado a esto varios autores reportan un efecto similar en jugo de uva y naranja sometidas a tratamientos de ozonizado (0,5 L min⁻¹ por 10 min) (Tiwari *et al.*, 2008; López *et al.*, 2007; Rocha y Morais, 2003) y establecen que el ozono tiene un alto potencial oxidante lo cual provoca la degradación de muchos compuestos orgánicos. Por otra parte, (Patil y Bourke, 2012) reportaron que la disminución de estos parámetros se debe a que la aplicación del ozono en pigmentos orgánicos provoca una pérdida de color debido a una alta oxidación de los cromóforos (conjunto de átomos de una molécula) al atacar los dobles enlaces conjugados. Sin embargo Tiwari *et al.* (2008) indica que los parámetros también se ven afectados por la tasa de flujo de ozono, la concentración y el tiempo de tratamiento. Por

otra parte Tzortzakis *et al.* (2007) establece que el impacto y los beneficios del uso del ozono varían en función del alimento y de las características de los volátiles presentes en su composición. Sin embargo, los resultados sugieren que el ozonizado puede ser promotor para mantener la calidad física y química del jugo de tuna.

Cuadro 15. Parámetros de color L, a, b, Hue (ángulo de tono) y cromaticidad en Jugo de tuna blanca tratado (recién extraído) a diferentes tiempos de ozonizado.

Trat.	L*	a*	b*	H*	C*
TEST	21.53 ± 0.05 ^{av}	-3.50 ± 0.08 ^{dv}	5.35 ± 0.12 ^{av}	136.26	6.39
O ₃ 3min	21.20 ± 0.03 ^b	-3.31 ± 0.05 ^c	4.80 ± 0.06 ^b	124.59	5.83
O ₃ 6min	20.50 ± 0.05 ^d	-3.11 ± 0.11 ^b	4.25 ± 0.10 ^c	126.2	5.26
O ₃ 8min	20.51 ± 0.02 ^c	-3.05 ± 0.06 ^a	4.15 ± 0.12 ^d	126.32	5.15

^vvalores promedios con la misma letra dentro de las columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey (P≤0.05). $\bar{X} \pm \sigma$ (Media ± desviación estándar).

*TEST (tratamiento testigo); O₃ 3 min (tratamiento de ozonizado durante 3 min de exposición); O₃ 6 min (tratamiento de ozonizado durante 6 min de exposición); O₃ 8 min (tratamiento de ozonizado durante 8 min de exposición).

6.2.3 Actividad antioxidante

Se observó diferencias significativas en mg ET 100mL⁻¹ muestra, disminuye conforme aumenta el tiempo de ozonizado. El tratamiento testigo presentó (4.66 mg ET 100g⁻¹ muestra y 18 %) de inhibición, con relación a los 3, 6 y 8 minutos de ozonizado que tienden de 2.36 mg ET 100mL⁻¹ muestra (12.47 %), 1.46 mg ET 100mL⁻¹ (5%) y 1.33 mg ET 100mL⁻¹ (1.39 %) respectivamente. (Cuadro 17). Por otra parte, Ochoa y Guerrero (2007) reportaron una actividad antioxidante de 12.27-12.91 mg ET 100 mL⁻¹ muestra en pulpa de tuna roja y un porcentaje de inhibición del 34% en tuna verde, por arriba de lo obtenido en el jugo de tuna blanca (TEST), sin embargo, Carrasco y Encina (2008) reportaron que la capacidad antioxidante está directamente relacionada con el

contenido de pigmentos de la fruta, esto sugiere al alto valor reportado en la tuna roja. Por otra parte, se concuerda con lo reportado por (Patil *et al.*, 2009; Wei *et al.*, 2007; Chan, 2007) que la disminución de la actividad antioxidante es una de las desventajas del ozonizado en productos frescos y procesados ya que la descomposición del ozono produce radicales libres, principalmente hidroxilos. Por el contrario, Naitoh *et al.*, (2006), Zhang *et al.*, (2005) y Beltrán *et al.*, (2005) reportaron poca afectación en el contenido de antioxidantes, como la vitamina C en jugos de frutas y establecen que la reducción u estabilidad debe a las características físicas y químicas del producto, al tiempo de exposición con ozono. Tzortzarkis *et al.*, (2007) indicaron que el impacto y los beneficios del ozono varían en función de los productos tratados.

Cuadro 16. Miligramos equivalentes de trolox por cada 100 mL de muestra (mg ET 100mL⁻¹ m) y porcentaje (%) de inhibición en jugo (recién extraído) de tuna blanca tratado a diferentes tiempos de Ozonizado.

Tratamiento	mg ET/100mL muestra	% de Inhibición
TEST	^v 4.66 ± 0.10 ^a	^v 18.48 ± 0.072 ^a
O ₃ 3 min	2.36 ± 0.87 ^b	12.47 ± 7.69 ^b
O ₃ 6 min	1.46 ± 0.08 ^c	5.10 ± 0.98 ^c
O ₃ 8 min	1.33 ± 0.14 ^d	1.29 ± 1.04 ^d

^vvalores con la misma letra dentro de las columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey (P≤0.05). $\bar{X} \pm \sigma$ (Media ± desviación estándar). *TEST (tratamiento testigo); O₃ (tratamiento de ozonizado a 3 min de exposición); O₆ (tratamiento de ozonizado a 6 min de exposición); O₈ (tratamiento de ozonizado a 8 min de exposición).

La tendencia de mg ET 100g⁻¹ de muestra es a disminuir por aumento en el tiempo se ozonizado, el jugo se ve afectado en la capacidad antioxidante por el poder oxidativo del ozono. Se observó que modificando el tiempo de exposición del ozonizado y manteniendo un mismo flujo se demerita la calidad nutraceutica del jugo (Figura 19)

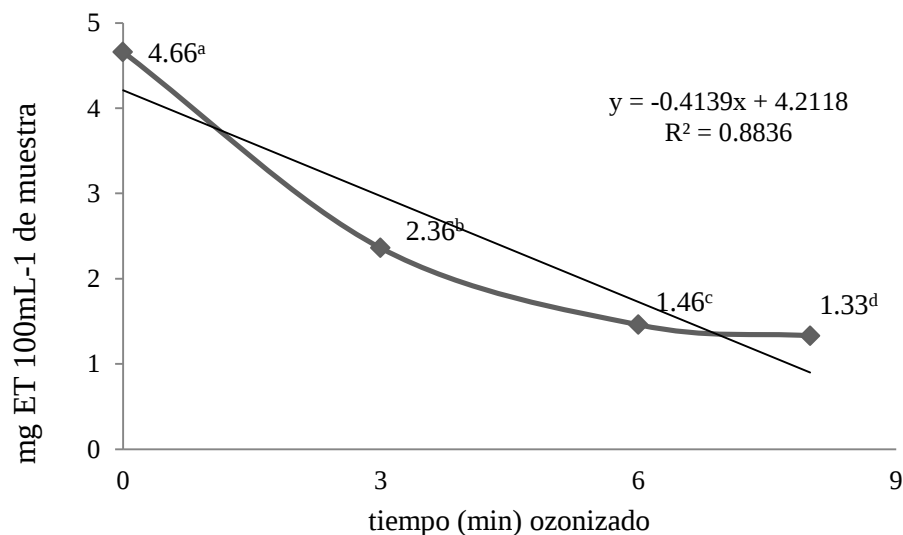


Figura 19. Miligramos equivalentes de trolox por cada 100g de muestra (mg ET 100g⁻¹ de muestra) en jugo (recién extraído) de tuna blanca ozonizado durante (3, 6 y 8 min).

Efectos similares reportan Ochoa *et al.* (2012) considerando un tratamiento térmico, observó una mayor actividad antioxidante en la pulpa de pitahaya de coloración roja (160.8 ± 0.8 mg ET 100 mL⁻¹ muestra), seguida de la rosa (124.5 ± 0.7 mg ET 100 mL⁻¹ muestra) y la blanca (58.9 ± 2.3 mg ET 100 mL⁻¹ muestra). Esquivel *et al.* (2007) reportaron que las tunas rojas son más estables a tratamientos de conservación que las tunas blancas debido a las betalainas que son responsables del color rojo, ya que estos compuestos son metabolitos más estables estructuralmente que otros pigmentos naturales y son responsables de la capacidad antioxidante en jugo de pitahaya y tuna roja.

Conforme se aumenta el tiempo de exposición del ozonizado en el jugo de tuna hay una tendencia a disminuir el porcentaje de inhibición que se relaciona directamente con la disminución de los mg ET 100mL⁻¹ de muestra. El mayor porcentaje de inhibición la presenta el tratamiento testigo (Figura 20).

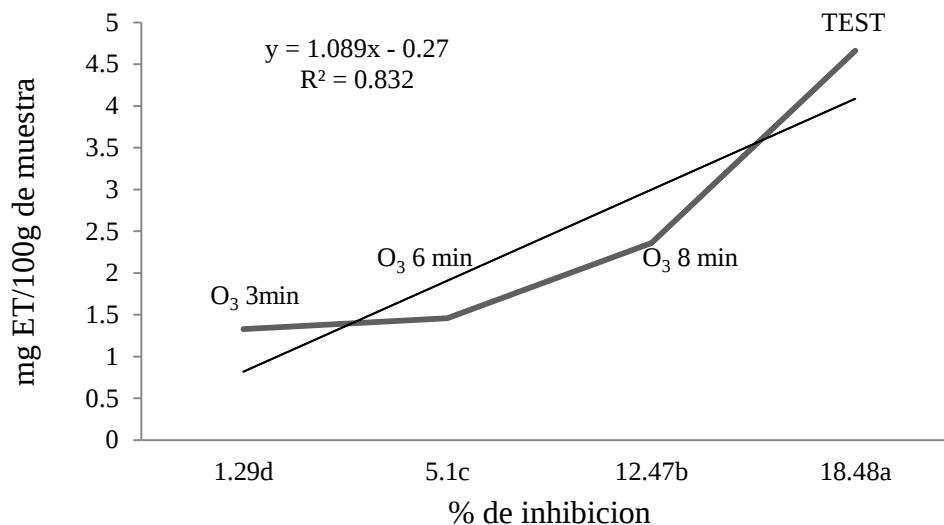


Figura 20. Porcentaje de inhibición correspondiente en los mg ET 100 g⁻¹ de muestra en jugo (recién extraído) de tuna ozonizado durante (3,6 y 8 min).

6.3 Evaluación sensorial del jugo natural sin tiempo de ozonizado y jugo tratado durante 3, 6 y 8 minutos exposición con ozono

Para esta prueba se utilizó jugo de tuna sin tratamiento con ozono y recién extraído, con la finalidad de detectar diferencias entre el jugo Ozonizado a diferentes tiempos.

Color

De acuerdo con la prueba de aceptación por atributo, el color del jugo de tuna blanca fue aceptable para los panelistas, ya que no se detectó diferencias entre el jugo sin ozonizar con respecto al jugo ozonizado. Esta decisión concuerda al observar la comparación de medias (Cuadro 17-color) entre los tratamientos, las medias comparten la misma letra por lo que indica que no existe diferencia significativa de aceptabilidad en el parámetro de color.

Sabor

La comparación de medias nos indica que el sabor del jugo ozonizado a 3 minutos fue más aceptable que el jugo ozonizado a 6 min, y este último es aceptable de igual manera al jugo ozonizado durante 8 min (Cuadro 18).

Los panelistas no detectaron diferencias significativas en el aroma del jugo sin ozonizar con respecto al jugo ozonizado a diferentes tiempos de exposición, es decir el parámetro aroma del jugo de tuna sin tratamiento (TEST) se acepta de igual magnitud que el jugo ozonizado durante 3, 6 y 8 min (Cuadro 18).

6.3.1 Aceptación global

Existe diferencia significativa entre los tratamientos. El jugo de tuna sin ozonizar (TEST) fue aceptable de igual manera al jugo ozonizado durante 3 y 8 min, sin embargo el jugo ozonizado durante 6 min fue menos aceptables.

Cuadro 17. Medias de aceptación por atributos (color, sabor, aroma) y aceptación global en jugo natural (recién extraído) de tuna (TEST) y del jugo (recién extraído) tratado con diferentes tiempos de ozonizado (3, 6 y 8 min) empleando una escala hedónica

Tratamiento	Color	Sabor	Aroma	Aceptación global
TEST	6.54 ± 1.19^a	6.56 ± 1.47^a	6.35 ± 1.69^a	6.71 ± 1.24^a
O ₃ 3 min	6.45 ± 1.36^a	6.7 ± 1.72^a	6.11 ± 1.47^a	6.60 ± 1.44^a
O ₃ 6 min	6.51 ± 1.41^a	5.93 ± 2.21^b	5.82 ± 1.82^a	6.02 ± 1.79^b
O ₃ 8 min	6.60 ± 1.49^a	6.36 ± 2.15^a	6.09 ± 1.73^a	6.33 ± 1.93^a

^vvalores promedios con la misma letra dentro de las columnas, son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). $\bar{X} \pm \sigma$ (Media $\pm$ desviación estándar). Valores de la escala hedónica: 1 (me disgusta extremadamente), 2 (me disgusta mucho), 3 (me disgusta moderadamente), 4 (me disgusta mucho), 5 (ni me gusta ni me disgusta), 6 (me gusta poco), 7 (me gusta moderadamente), 8 (me gusta mucho), 9 (me gusta extremadamente).

Debido a la rápida descomposición del ozono a oxígeno, se hace difícil la percepción de este en los productos (Wei *et al.* 2007; Patil *et al.*, 2009). Esto sugiere el motivo por el cual los panelista no lograron encontrara diferencias en el color, sabor y aroma del jugo ozonizado con respecto al jugo testigo. Por otro lado, Naitoh *et al.*, (2006) reportaron que visualmente es difícil detectar cambios en los volátiles de un producto por efecto del ozono. El método de producción es también de interés para muchos de los consumidores, que buscan productos similares a los naturales. El tratamiento con ozono es una nueva tecnología de la industria alimenticia, que es desarrolla con el fin de alcanzar demandas de consumo de productos más frescos con niveles reducidos de actividad enzimática y microorganismos, y con un mejor sabor (Galindo y Lissette, 2006; Deliza *et al.*, 2005).

7 CONCLUSIONES

- Las altas presiones menores de 100 y 200 MPa no afectaron el $\log_{10}$ UFC mL⁻¹ de bacterias mesófilas aerobias presentes en el jugo de tuna. El nivel de 300 y 400 MPa redujo las poblaciones de BMA. Dentro de los niveles de alta presión el mejor tratamiento fue el nivel de 400 MPa. El ozonizado con diferentes tiempos de exposición afectó a las BMA presentes en el jugo de tuna.
- El efecto bactericida del ozonizado en las poblaciones de *Staphylococcus aureus* se presentó a partir de los 3 min de exposición. El tratamiento durante 8 min de ozonizado eliminó las poblaciones presentes en el jugo de tuna.
- El tratamiento en el jugo de tuna con alta presión a 300 y 400 MPa eliminó la presencia de coliformes totales. El ozonizado durante los 6 y 8 min de exposición presentó en mismo efecto.
- No se detectó presencia levaduras en las muestras ozonizadas por 8 min de exposición. El tratamiento con 400 MPa redujo la presencia de levaduras un 50 %. Los tratamientos de ozonizado durante 3 y 6 min y alta presión a niveles menores de 400 no presentaron efecto en la presencia levaduras. Todos los niveles de alta presión y ozonizado no inhibieron las colonias de hongos presentes en el jugo de tuna.
- Los sólidos solubles totales disminuyeron por efecto del ozonizado, de 12.25 % para el ozonizado durante 3 min y 12.13 % para el ozonizado durante 8 min.

- La acidez titulable disminuyó considerablemente al aumentar el tiempo de exposición con ozono.
- Los parámetros de color (L, a, b) presentaron una sensibilidad al ozono ya que disminuyen con relación al aumento en el tiempo de exposición, Hue aumentó y Croma disminuyó, por lo que el color del jugo presentó poca variabilidad en tonalidad con respecto al testigo.
- La capacidad antioxidante presente en el jugo de tuna disminuyó conforme se aumentó el tiempo de ozonizado.
- El porcentaje de inhibición de los mg ET 100 g⁻¹ en el jugo de tuna disminuyó conforme se aumentó el tiempo ozonizado.
- El ozonizado no tuvo efecto sobre la aceptación por atributos de los parámetros sensoriales de color y aroma del jugo de tuna. Hubo efecto del ozonizado en el sabor, se detectó diferencias entre los tratamientos.
- El jugo ozonizado durante 3 y 8 min globalmente fueron aceptables de la misma manera que el jugo testigo.
- El ozono y las altas presiones son técnicas de pasteurización no térmicas prometedoras para la conservación de alimentos, principalmente para la estabilidad microbiológica.

8 LITERATURA CITADA

- Achen, M. and Yousef, A. F. 2001. Efficacy of ozone against E.coli 0157:H7 on apples. J Food Sci. 66:1365-70.
- Aguayo E, Escalona VH, Artés F. 2006. Effect of cyclic exposure to ozone gas on physicochemical, sensorial and microbial quality of whole and sliced tomatoes. Postharvest Biology and technology, 39: 169-177.
- Alpas H., Kalchayanand N., Bozoglu F., y Ray B. 2000. Interactions of high pressure, pressurization temperature and pH on death and inactivation of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. International Journal of Food Microbiology. 60:33-42
- AOAC.1980. Official Methods of Analysis Chemists. Wisconsin, Georgia Banta. Company. 1141p.
- AOAC.2000. Official Methods of Analysis 14^a edición. Asociación de Oficiales Analíticos Químicos. Inc. Washington D.C. EUA.
- Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria. ASERCA, 1995. Universidad Autónoma Chapingo (UACH) Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y de la Agricultura Mundial (CIESTAAM)
- Arnal L., Salvador A., y Martínez J. J. M. 2005. Efecto del ozono en la conservación de la calidad de caqui "rojo brillante" Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, enero, año/vol. 6, número 002 Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México pp. 99-106
- Arroyo, G. Sanz, P.D. and Préstamo, G. 1997. Effect of high pressure on the reduction of microbial populations in vegetables. Instituto del Frío, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Ciudad Universitaria, Madrid, Spain
- ASERCA. 1999. La tuna; base del desarrollo de culturas mesoamericanas. Claridades agropecuarias No. 71. México. 44 p.
- Askar A. 1998. Minimally Processed tropical fruits. Fryit Process. 8(8):339-343
- Askar, A., and S.K.El Samahy. 1981. Chemical composition of prickly pear fruit. Deutsche! Lebensmittel Rundschau. 77(8):279-281.
- Barba, F. J., Jäger, H., Meneses, N., Esteve, M. J., Frígola, A., & Knorr, D. 2012. Evaluation of quality changes of blueberry juice during refrigerated storage after high pressure and pulsed electric fields processing. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 14, 18–24.
- Barbera G., F. Carimi P., Inglese M., Panno. 1992. Physical, morphological and chemical changes during fruit development and ripening in three cultivars of prickly pear, *Opuntia ficus indica* (L.) Miller J. Hort Sci. 67 (3): 307-312
- Barbosa-Canovas G.V. Pothakamury U.R. Palou E., Swanson B.G. 1998. Procesado de alimentos con alta presión. Conservación no térmica de alimentos. pp 9-49. Ed. Acibia S.A. Zaragoza

- Bataller-Venta, Mayra; Santa Cruz-Broche, Sandra; García-Pérez, Mario A. 2010. El ozono: una alternativa sustentable en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 41, núm. 3. pp. 155-164 Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba. Ciudad de La Habana, Cuba.
- Baur S, Klaiber R, Hammes WP, Carle R. 2004. Sensory and microbiological quality of shredded, packaged iceberg lettuce as affected by pre-washing produces with chlorinated and ozonated water. *Innovative Food Sci Eng Tech*. 5:45-55.
- Beltrán D, Selma MV, Marin A, Gil MI. 2005. Ozonated water extends the shelf life of fresh-cut lettuce. *J Agric Food Chem*. 53:5654-63.
- Butz, V. P.; Ries, J.; Traugott, U.; weber, H.; Ludwig, H. 1990. Hochdruckinaktivierung von Bakterien und Bakteriensporen. *Pharm. Ind.* 52(4), 487-491.
- Calvo, C. 1989. Otros sistemas de medida: Hunter, Munsell, etc. In: *El color el alimentos. Medidas instrumentales*. Santiago. Publicaciones Misceláneas Agrícolas No. 31, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, pp. 36-47
- Calvo, P. M. 2004. "El ozono en la higiene alimentaria", *Frío y Clima*, 44, 13- 15. Julio.
- Cantwell, M. 1986. Postharvest Aspects of Prickly Pear Fruit and Vegetables Cladodes. *Perishables Handling Univ. of Calif. Davis* 59:6-9
- Cantwell, M. 1995. Fresh cut biology and requirements. Pp 9-12 In: *Fresh Cut Products: Maintening Quality and Safety*. Postharvest Hort. Series N°. 10(8). U.C. Davis. 1-2 pp.
- Cao Xiamin; Zhang Yan; Zhang Fusheng; Wang Yongtao; Yi Jianyong and Liao Xiaojun. 2011. Effects of high hydrostatic pressure on enzymes, phenolic compounds, anthocyanins, polymeric color and color of strawberry pulps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. Volume 91, Issue 5, pages 877–885.
- Castro, V. N. y Quispe, T. A. 2010. Efecto del ozono en los sistemas de higienización de frutas y hortalizas de los laboratorios especializados de la FIIAUNASAM, *Rev. Aporte Santiaguino*. 3(1): 1. ISSN 2070-836X
- Cataldo F. 2008. Ozone decomposition of patulin - A micotoxin and food contamination. *Ozone Sci Eng*.3:197-201.
- Center for Food Safety and Applied Nutrition (CFSAN). 2001. Cinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies high pressure processing. U.S. Food and Drug Administration.
- Chan GYS. 2007. Effects of ozonated water on antioxidants and phytomorphores level of vegetables. *Sustainable Agri-Food Industry Use of Ozone and Relative Oxidants*. October 29-31. Valencia, Spain.
- Chauhan O.P., Raju P.S., Ravi N., Singh A., Bawa A.S. 2011. Effectiveness of ozone in combination with controlled atmosphere on quality characteristics including lignification of carrot sticks. *Journal of Food Engineering*, 102: 43–48
- Chávez, F. Y C. Saucedo. 1985. Conservación en refrigeración de dos variedades de tunas. *Horticultura Mexicana*. 1(1):6-13
- Choi L. H., Nielsen, S. S. 2005. The effects of thermal and nonthermal processing methods on apple cider quality and consumer acceptability. *Journal of Food Quality*, 28: 13–29.

- CODEX STAN 247. 2005. Norma General del Codex para Zumos (jugos) y Néctares de Frutas.
- Corrales G., J. 1992. Perspectivas de industrialización de nopalito y tuna. En Memoria del resumen del 5° Congreso Nacional y 3er. Congreso Internacional, Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. CONACYT-CIESTAAM-UACH. Chapingo, México. Pp. 97-98.
- Corrales G., J. 2000. Fisiología y Tecnología Postcosecha del Fruto de Tuna y del Nopal verdura. Reporte de Investigación. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial. Universidad Autónoma Chapingo. México. 47 p.
- Corrales G., J. Y C. A. Flores V. 1996. The current status in Mexico of the many products being derived from cactus and tuna fruit. 7th Annual International Symposium. Texas Prickly Pear Council. Texas A&M University. Kingsville, Tx. U.S.A.
- Corrales G., J. y Flores C. 2000. Tendencias actuales y futuras en el procesamiento del nopal y la tuna. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial. Universidad Autónoma Chapingo-UACH.
- Corrales G., J. y Flores C. 2003. Nopalitos y tunas: producción, comercialización, postcosecha e industrialización. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 159 p.
- Corrales G., J. y Hernandez Silva, J. L. 2005. Cambios en la Poscosecha de Variedades de Tuna con y sin Semilla. Revista Fitotecnia Mexicana. 28 (1): 9-16.
- Corrales, J. 1992. Descripción y análisis de la cosecha y del manejo en fresco de nopalito y tuna. Pp. 24-58. In: Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal, 5° Congreso Nacional y 3° Congreso Internacional. CONACYT-CIESTAAM-UACH. Chapingo, México.
- Crossland B. 1995. The development of high pressure processing. High pressure processing of foods. (Leward D.A. Jhonston D.E., Earnshaw R. G., y Hasting A.P. M., Eds.) Nottingham University Press, Nottingham. P.7.
- Das E, Candan Gürakan GC, Bayındırlı A. 2006. Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of Salmonella Enteritidis on cherry tomatoes. Food Microbiology 23: 430-438.
- Del Pozo-Insfran D; Del Follo-Martinez, a; Talcott, S.T.;and Brenes, C. H. 2007. Stability of Copigmented Anthocyanins and Ascorbic Acid in Muscadine Grape Juice Processed by High Hydrostatic Pressure. JOURNAL OF FOOD SCIENCE. Sensory and Nutritive Qualities of Food Vol. 72, (4), 2007. pp. 247-253
- Deliza R., Rosenthal A., Abadio F.B.D., Silva C.H.O. and Castillo C. 2005. Application of High Pressure Technology in the Fruit Juice Processing: Benefits Perceived by Consumers. J. of Food Engineering. 67: 241-246.
- Díaz C., M. y D. Alvarado M. 1990. Ensayos biotecnológicos con tuna; fermentación alcohólica. IV Reunión Nacional y II Congreso Internacional sobre el Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Zacatecas, Zac. México: p.14
- Dong Chen, Huping Xi, Xingfeng Guo, Zihan Qin, Xueli Pang, Xiaosong Hu, Xiaojun Liao, Jihong Wu. 2013. Comparative study of quality of cloudy pomegranate juice treated by high hydrostatic pressure and high temperature short time.

- Innovative Food Science and Emerging Technologies. xxx (2013) xxx–xxx. China
- Elke Y. Wuytack, Ann M.J. Diels, Chris W. Michiels. 2002. Bacterial inactivation by high-pressure homogenization and high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology* 77, 205– 212. Laboratory of Food Microbiology, Kasteelpark Arenberg 22, Katholieke Universiteit Leuven, B-3001 Louven, Belgium
- Farkas, D. F.; Hoover, D. G. 2000. High Pressure Processing. *Journal Food Science, Supplement.* 47-64.
- Ferrari G., Maresca P., Ciccarone R. 2010. The application of high hydrostatic pressure for the stabilization of functional foods: Pomegranate juice. *Journal of Food Engineering* 100 (2010) 245–253. Italy
- Finch GR, Haas C, Oppenheimer JG, Trussell R. 2001. Design criteria for inactivation of *Cryptosporidium* by ozone in drinking water. *Ozone Sci Eng.*23:259-84.
- Flores V. C., A. y Gallegos V., C. 1995b. “La producción de tuna en México”. En: Pimienta-Barrios, E., C. Neri- Luna, Muños-Urias y F.M. Huerta –Martínez (Comp.) *Conocimiento y Aprovechamiento del Nopal. Memorias del 6to Congreso Nacional y 4to Congreso Internacional.* Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México. p. 278
- Flores V. C., Luna E. J. M., Ramírez M. P. P., 1995a, Mercado Mundial de la tuna, Apoyos y Servicios a la Comercialización Agropecuaria ASERCA Universidad Autónoma Chapingo (UACH) Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y de la Agricultura Mundial (CIESTAAM)
- Flores V., M. Ramírez, J., M. de Luna P. J., Ponce. 1997. Diagnóstico y Programa de Desarrollo del Sistema Producto Tuna. SAGAR, UACH; CIESTAM. Chapingo, México. 101 p.
- Flores, V.C.A. y J. Olvera M. 1995c. El sistema Producto Nopal-Verdura. SARH-CIESTAAM: Chapingo, Estado de México.
- Food and Drug Administration (FDA). 2004. Guidance to Industry. Recommendation to Processors of Apple Juice or Cider on the Use of Ozone for Pathogen Reduction Purposes.
- Galazka V.B., y Ledward D. A. 1995. Development in high pressure food procesing. *Food technology Int. Eur.* 123-125
- Galindo R. Lissette S. 2006. Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario. *Revista electrónica de veterinaria.* Vol. 7 N° 10, pp. 1-16 Málaga España.
- Gervilla, R. Sendra, E. Ferragut, V. & Guamis, B. (1999). Sensitivity of *Staphylococcus aureus* and *Lactobacillus helveticus* in ovine milk subjected to high hydrostatic pressure. *Journal of Dairy Science.* 82, 1099–1107.
- Graham, D.M. 2002.Ozone antimicrobial applications in food processing. *Ozone III Conference.* Fresno CA, USA.
- Gurrieri, S., L.Miceli, C.M. Lanza, F. Tomaselli, R.P. Bonomo, and E. Rizzarelli. 2000. Chemical characterization of Sicilian prickly pear (*Opuntia' ficuslindica*) and perspectives for the storage of its juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*48:5424-5431.
- Guzel- Seydim Z. B, Greene AK., Seydim A.C. 2003.Use of ozone in the food industry. *Swiss Soc. Food Sci and Tech.* 37:453-60.

- Guzel-Seydim Z., Bever P.I.Jr., Greene A.K. 2004. Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiol.* 21, 475–479.
- Hampson B and McLean MR. 2000. Impact of ozonization on the nutritional quality and microbial load of fresh-market tomatoes. IOA/PAG Vancouver Conference. October 20-22, Vancouver, Canada.
- Hernandez, M., A. 2007. Evaluación sensorial de productos agroalimentarios. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Mexico. ISBN 978-968-02-0391-8
- Inglese, P., F. Basile and M. Schirra. 2002. Cactus pear fruit production, 163-183 pp. In: *Cacti: Biology and Uses*. Park S. Nobel (ed.). University of California Press. California, USA.
- Jay J. 2000. Microbiología moderna de los alimentos. Ed. ACRIBIA. Zaragoza España.
- Kader, A. A. 2002. Postharvest Technology of Horticultural crops. E.U. University of California. Davis, USA. 389 p.
- Kader, A.A. 2005. Cactus (Prickly) Pear: Recommendations for Maintaining Postharvest Quality. Postharvest Technology Research & Information Center. Department of Plant Sciences, University of California, Davis, CA. USA. 189 p.
- Khadre M.A., Yousef A.E., Kim J.-G. 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. *J. Food Sci.* 66, 1242–1251.
- Kim, J., Yousef, A. E., Dave, S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *Journal of Food Protection*, 62: 1071- 1087.
- Kim, Y.-S. Park, S.-J.. Cho, Y.-H and Park, J. 2001. Effects of Combined Treatment of High Hydrostatic Pressure and Mild Heat on the Quality of Carrot Juice. *JFS: Food Engineering and Physical Properties*. Vol. 66, No. 9. *Journal of Food Science*
- Kimura K., Ida M., Yosida Y., Ohki K., Fukumoto T., y Sakui N. 1994. Comparison of keeping quality between pressure-processed jam and heat processed jam: changes in flavor ents. Hue and nutrients during storage.
- Klaiber RG, Baur S, Magel L, Hammes W, Carle R. 2004. Quality of shredded, packaged carrots as affected by different washing treatments. *J Food Sci.* 69:161-6.
- Kobe S. LTD Maquinary. 2000. Advanced Products and Technology Dept.URL:<http://www.kobelco.co.jo>. Tokio, Japón. Septiembre 2014.
- Kuskoski, M.; Asuero, A.; Parrilla, M.; Troncoso, A.; Fett, R. 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 24:691-693.
- Lavinas, F. C., Miguel, M. A. L., Lopes, M. L. M., & Valente Mesquita, V. L. 2008. Effect of high hydrostatic pressure on cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) juice preservation. *Journal of Food Science*, 73(6), 273–277.
- Ledward D. A., Jhonston D.E., Earshaw R.G., y Hasting A. P.M. 1995. High pressure processing –The potebntial. *High Pressure Procesing of Foods*. pp. 1-6. Ed. Nottingham University Press.
- Lezcano I, Pérez-Rey R, Baluja C, Sánchez E. 2001.Ozone inactivation of microorganisms in water. Gram positive bacteria and yeast. *Ozone Sci Eng.* 23:183-87.

- Liew , C. L y Prange , R. K. 1994. Effect of ozone and storage temperature on postharvest diseases and physiology of carrots (*Daucus carota* L.). J. Am. Soc . Hort. Sci . 119: 563-567
- Loeb, B.L. 2005. Ozone IV Highlights recent developments in the use of ozone for food and agricultural processing, *Ozone News*.33:18-22.
- López P. L., Roig S. A. X., De Lamo S., Gervilla R., Guamis B. 2007. High hydrostatic pressure treatment applied to model cheeses made from cow's milk inoculated with *Staphylococcus aureus*. *Food Control* 18,441–447. Bellaterra, Spain.
- Lopez-Malo A. y Palou E. 1999. High hydrostatic pressure and fungal inactivation. *Recent Res. Devel. Agricultural and Food Chemistry*. 3:57-74
- Loreiro V. y Querol A. 1999. The prevalence and control of spoilage yeasts in foods and beverages. *Trends in food science and technology*. 10:356-365
- Mackey, B. M., Forestiere, K., & Isaacs, N. (1995). Factors affecting the resistance of *Listeria monocytogenes* to high hydrostatic pressure. *Food Biotechnology*, 9, 1–11.
- Mahapatra A.K., Muthukumarappan K., Julson J.L. 2005. Applications of Ozone, Bacteriocins and Irradiation in Food Processing: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45: 447–461.
- Mcguire, R. G. 1992. Reporting of objective color measurement. *HortScience* 27:1254-1255
- Merten B. y Deplace G. 1993. Engineering aspects of high pressure technology in food industry. *Food Technology*. 47(6):164-169
- Meyer R.S., Cooper K. L., Knorr D. y Lelieveld H. L. M. 2000. High pressure sterilization of foods. *Food Technology*. 54(11):67-71
- Minolta.1994. Precise color communication. Minolta Corporation Instrument System Division, Ramsey, NJ, USA. 79p
- Mondragon Jacobo, C., Gallegos-Vazquez, C. and Reyes-Aguero, J.A. 2009. Cactus pear genetic resources the cornerstone of the mexican cactus pear industry . *Acta Hort. (ISHS)* 811:39-46
- Mondragon, J.C. and G. S. Perez. 1994. Reyna (Syn Alfajayucan) is the leading cactus pear cultivar central México. *Fruit. Var. J.* 48:134-136.
- Montes, H. A. 2007. Evaluación Sensorial de Productos Agroalimentarios. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Texcoco, Edo. México. ISBN 978-968-02-0391-8
- Muñoz CH., O. 2009. Conservación de frutas de tuna blanca (*opuntia albicarpa*) en atmosferas modificadas. Tesis profesional- Maestría en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria. Universidad Autónoma Chapingo. 116 p.
- Nadas, A.; Olmo, M.; Martínez, M.C.; García, J.M. 2000. El ozono en la conservación de los cítricos. *Levante agrícola* 352: 251-258.
- Naito S. 2009. Ozone Inactivation of Food spoilage acid-producing bacteria. *Proceeding of the 19th Ozone World Congress & Exhibition IOA*. August 31-September 3. Tokyo, Japan.
- Naitoh S, Takahara H, Mi-La Cho, Chong-Hyeon Yoon, Sue- Yun Hwang, Mi-Kyung Park, So-Youn Min, Sang-Heon Lee, Ho-Youn Kim. 2006. Ozone contribution in food industry in Japan. *Ozone Sci Eng.* 28:425-29.

- Naitoh S, Takahara H, Mi-La Cho, Chong-Hyeon Yoon, Sue- Yun Hwang, Mi-Kyung Park, So-Youn Min, Sang-Heon Lee, Ho-Youn Kim. 2006. Ozone contribution in food industry in Japan. *Ozone Sci Eng.* 28:425-29.
- NMX-F-045-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Jugo de manzana. Foods. Fruits and derivatives. Apple juice. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NMX-FF-015-1982. Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de sólidos solubles totales. Non Industrialized Food Products for Human Use. Fresh Fruit. Determination of total solubles solids. Normas mexicanas. Dirección general de normas.
- NOM-130-SSA1-1995 (Norma Oficial Mexicana). Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometido a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias
- O'Reilly, C. E., Kelly, A. L., Murphy, P. M., & Beresford, T. P. 2001. High pressure treatment: Application in cheese manufacture and ripening. *Trends in Food Science and Technology.* 12, 51–59.
- O'Reilly, C. E., O'Connor, P. M., Kelly, A. L., Beresford, T. P., & Murphy, P. M. 2000. Use of hydrostatic pressure for inactivation of microbial contaminants in cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(11), 4890–4896.
- Ochoa, V., C. E. y Guerrero, B., J. A. 2013 Efecto de la temperatura de almacenamiento sobre las características de calidad de tuna blanca villanueva (*Opuntia albicarpa*) *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 14, núm. 2, 2013, pp. 149-161 Asociación Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, S.C. Hermosillo, México
- Ochoa, V., C. E.; Guerrero, B., J. A.; García, V. V.; Luna, G. J.J; Luna, G. M. L.; Hernández, C. P.; Guerrero, B. J. A. 2012. Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus spp*). *Faculta de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. México.*
- Pagan, R., Mackey, B., 2000. Relationship between membrane damage and cell death in pressure-treated *Escherichia coli* cells: differences between exponential- and stationary-phase cells and variation among strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2829– 2834.
- Palou L., Smilanick J.L., Crisosto C.H., Mansour M., Plaza P. 2003. Ozone gas penetration and control of sporulation of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* within commercial packages of oranges during cold storage. *Crop Protection*, 22: 1131-1134.
- Palou, L.; Crisosto, C.H.; Smilanick, J.L.; Adaskaveg, J.E.; Zoffoli, J.P. 2002. Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharv. Biol. Technol.* 24 (1): 39-48.
- Parish M.E. 1998. Orange juice quality after by treatment by thermal pasteurization or isostatic high pressure. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie.* 31:439-442
- Parish, M. E., Bcuchat, L. R, Suslow, T. V., Harris, L. J., Garrett, E.H., Farber, J.N. y Busta, F.F 2003. Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive reviews in food science and food safety.* 5(2):161-173
- Pascual A., Ma. R. y Calderón V., P. 2000. *Microbiología Alimentaria “Metodología analítica para alimentos y bebidas”*. 2da edición. Madrid, España.

- Patterson, M F., Quinn, M., Simpson, R., and Guilmore, A. 1995. Sensitivity of vegetative pathogen to high hydrostatic pressure treatment in phosphate buffered saline and food. *Journal of Food Protection*. 59(5):524-529
- Patterson, M. F., & Kilpatrick, D. 1998. The combined effect of high hydrostatic pressure and mild heat on inactivation of pathogens in milk and poultry. *Journal of Food Protection*. 61(4), 432–436.
- Pérez C. M. del M. 2004. “El ozono en la higiene alimentaria”, *Frio y Clima* 44,13-15. Julio.
- Pérez C, M., 2005. “Ozono: la alternativa a los agentes químicos en la desinfección de cámaras frigoríficas”, *Revista de Toxicología (órgano oficial de la Asociación Española de Toxicología)*, 22(2), 109. Septiembre.
- Piga, A. 2004. Cactus pear: A fruit of nutraceutical and functional importance. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 6:9-22.
- Potakamury U.R., Barbosa-Canovas G.V., y Swanson B. G. 1995. The pressure builds for better food processing. *Chemical Engineering Progress*. March 45-53
- Kim, Y.-S. Park, S.-J.. Cho, Y.-H and Park, J. 2001. Effects of Combined Treatment of High Hydrostatic Pressure and Mild Heat on the Quality of Carrot Juice. *JFS: Food Engineering and Physical Properties*. Vol. 66, No. 9. *Journal of Food Science*
- Rademacher, B., Pfeiffer B., Y Keslerh., H. G. 1998. Inactivation of microorganisms and enzymes in pressure treated raw milk. *High Pressure Food Science and Bioscience Chemistry*, pp 145-151. Proc of the 35th Joint Meeting of European High Pressure Research Group and Food Chemistry held at the University of Reading in 1997. Edited by Isaacs, Neils S. The Royal Society of Chemistry.
- Re Roberta, Pellegrini Nicoletta, Proteggente Anna, Pannala Ananth, Yang Min, and Rice-Evans Catherine. 1998. antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *free radical biology & medicine*. pii s0891-5849(98)00315-3
- Restaino L., Frampton E.W., Hemphill J.B., Palnikar P. 1995. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol*. 61, 3471–3475.
- Rice R.G. IOA-PAG. 2007. User success report-commercial applications of ozone in Agri-Food, *Ozone News*.;35:7-21.
- Ritz, M., Freulet, M., Orange, N., Federighi, M., 2000. Effects of high hydrostatic pressure on membrane proteins of *Salmonella typhimurium*. *Int. J. Food Microbiol*. 55, 115– 119.
- Ritz, M., Tholozan, J.L., Federighi, M., Pilet, M.F., 2001. Morphological and physiological characterization of *Listeria monocytogenes* subjected to high hydrostatic pressure. *Appl. Environ. Microbiol*. 67, 2240– 2247.
- Rodgers SL, Cash JN, Siddiq M, Ryser ET. 2004. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. *J Food Protec*.67:721-31.
- Rodoni L., Casadel N., Concellón A., Chaves A.R., Vicente A.R. 2010. Effect of shortterm ozone treatments on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality and cell wall degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 594-599.

- Sáenz C. 2013. Agro-industrial utilization of cactus pear. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome
- Sangronis E., Pothakamury U., Ramos A. M. Ibaerz A. y Barbosa G.V. 1997. La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. *Alimentaria*. 33:32-43
- Sarig, P.; Zahvi, T.; Zutkhi, Y.; Yannai, S.; Lisker, N.; Ben-Arie, R. 1996. Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 48: 403-415.
- Savi, G. D. Piacentini K.C. y Scussel V. M. 2014. Ozone treatment efficiency in *Aspergillus* and *Penicillium* growth inhibition and mycotoxin degradation of stored wheat grains (*Triticum aestivum* L.) *Journal of Food Processing and Preservation* ISSN 1745-4549
- Sawaya, W.N., H.A. Knatchadourian, W.N. Safi, and H.M. AlIMuhammad. 1983. Chemical characterization of prickly pear pulp, *Opuntia ficus-indica*, and the manufacturing of prickly pear jam. *Journal of Food Technology*. 18:183-193
- Sepúlveda E., and Sáenz. 1990. Características físicas y químicas de pulpa de tuna (*Opuntia ficus inidca*). *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.* 30(4):551-555
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera- Secretaria de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural Pesca y Alimentación. SIAP-SAGARPA, 2012. Consulta abril 2014.
- SIAP. 2004. Servicio de Información Estadística y Agroalimentaria y Pesquera. Avances de Siembra y Cosechas Perennes. 2004. <http://www.sagarpa.gob.mx>
- Smelt J. P. P. 1998. Recent advances in the microbiology of high pressure procesing. *Trends In Food Science and Technol.* 9:152-158
- Smilanick JL, Margosan DM, Mlikota-Glaber F. 2002. Impact of ozonated water on the quality and shelf-life of fresh citrus, stone fruit and table grapes. *Ozone Sci Eng.* 24:343-56.
- Song, W.-J. Sung, H.-J. and Kang, D.-H. 2014. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in apple juices with different soluble solids content by combining ozone treatment with mild heat. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364-5072. University of Korea.
- Stanier R. y Ingraham J. L., Wheelis M L., Painter P.R. 1996. *Microbiología* (2da Edición). Editorial Reverté S. A. Barcelona España.
- Stark, C. Christ. 2008. Tratamiento de aguas “Desinfección de agua purificada. Water Technology Group. Junio- Madrid, España.
- Steenstrup Dock, L.; Floros, J. D. 2004. Inactivation of *E. coli* O157:H7 in apple cider by ozone at various temperatures and concentrations. *Journal of Food Processing and Preservation*, 28 : 103–116.
- Sun N., Lee S., y Songs K. B., 2002. Effect of high pressure on the molecular properties of mushroom polyphenoloxidase. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*.35:315-318
- Takahashi, K.; Ishii, H.; Ishikawa, H. 1993. Sterilization of bacteria and yeasts by hydrostatic pressurization at low temperature. En: *High pressure science for food*. Ed. Hayashi, R. pp 225-232. Kyoto: San-Ei Pub. Co.
- Téllez L. S.J., Ramírez J.A., Pérez L. C., Vazquez M., y Simal G. J. 2001. Aplicación de las Altas Presiones Hidrostáticas en la conservación de alimentos. *Cience. Tecnol. Alt.* 3(2):66-89. México pp. 66-80

- Timmermans, R. A. H., Mastwijk, H. C., Knol, J. J., Quataert, M. C. J., Vervoort, L., Der Plancken, I. V., et al. 2011. Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice. Part I: Impact on overall quality attributes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(3), 235–243.
- Tiwari B.K., Muthukumarappan K., O'Donnell C.P., Cullen P.J. 2008. Kinetics of freshly squeezed orange juice quality changes during ozone processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 6416–6422.
- Tiwari BK, O'Donnell CP, Muthukumarappan K, Cullen PJ. 2009b. Anthocyanin and colour degradation in ozone treated blackberry juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 10: 70-75.
- Tiwari BK, O'Donnell CP, Patras A, Brunton NP, Cullen PJ. 2009a. Effect of ozone processing on anthocyanins and ascorbic acid degradation of strawberry juice. *Food Chemistry*, 113: 1119-1126.
- Tucker, G.A. 1993. Introduction. *In: Biochemistry of fruit Ripening*. Seymour G., Taylor J.E. and Tucker G. (eds). Chapman & Hall, London. Pp: 1-51
- Tzortzakis N., Singleton I., Barnes J. 2007. Deployment of low-level ozone-enrichment for the preservation of chilled fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 43: 261-270
- UNE-1278. European Standard . 2010. Chemicals used for treatment of water intended for human consumption. European Committee Standardization. Ozone. ICS 71. 100.80
- United States Food and Drug Administration (US_FDA). 1997. Substances generally recognized as safe, proposed rule. *Federal Register* 62, pp. 18937-18964.
- United States Food and Drug Administration (US_FDA). 2001. Secondary direct food additives permitted in food for human consumption, final rule. *Federal Register* 66, pp. 33829-33830.
- Uradziński, J. Wysok, B. Bielicki, Z. Gomółka-Pawlicka, M. 2005. Ozonation as an alternative method of disinfecting knives for use in meat processing. *Bull. Vet. Inst. Puawy*. 49, 399–402.
- Valdez V., S. A. Valadez V. y S. Chatelain M. 1979. Pigmentos de la tuna Cardona como posibles colorantes alimentarios. *Fruticultura Mexicana*. Comisión Nacional de Fruticultura. México. Año 2, N° 15-18. Tomo I, 32 p
- Varela-Santos, E., Ochoa-Martinez, A., Tabilo-Munizaga, G., Reyes, J. E., Pérez-Won, M., Briones-Labarca, V., et al. 2012. Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties, bioactive compounds and shelf-life of pomegranate juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, 13–22 (JANUARY).
- Vijayanandraj VR, Nagendra D, Mohan N. 2006. Effect of ozone on *Aspergillus niger* causing black rot disease in onion. *Ozone Sci Eng*. 28:347-50.
- Villarreal, F.; E, de Alba; y G. Romero. 1964. Estudio químico sobre jugos de tunas enlatados. *Ciencia*, 23:75-82
- Wang, Y. Liu, F. Cao, X. Chen, F. Hu, X. Liao, X. 2012. Comparison of high hydrostatic pressure and high temperature short time processing on quality of purple sweet potato nectar. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 16-326–334. Beijing, China.

- Weemaes C., Ooms V., Indrawati, Ludikhuyze L., Van Den Broeck I., Van Loey, y Hendrickx M. 1999. Pressure-temperature degradation of green color in broccoli juice. *Journal of Food Science*. 64(3):504-508
- Wei K, Zhou H, Zhou T, Gong J. 2007. Comparison of aqueous ozone and chlorine as sanitizers in the food processing Industry: Impact of fresh agricultural produce quality. *Ozone Sci Eng*. 29:113-20.
- Wuytack, E. Y., Diels, A. M. J., and Michiels, Ch. W. (2002). Bacterial inactivation by high-pressure homogenisation and high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 77, 205–212.
- Yuan J, Novak J, Steiner E. 1998. Bactericidal efficacy of washing fruits and vegetables using ozone. IOA/PAG Conference Vancouver. October. 20-22. Vancouver, Canada.
- Zhang LL, Yu Z, Gao X. 2005. Preservation fresh-cut celery by treatment of ozonated water. *Food Control*. 16:279-83.
- Zotti, M, Porro R, Vizzini A, Manoti M.G. 2008. Inactivation of *Aspergillus* ssp. by ozone treatment. *Ozone Sci. Eng*. 30:423-30.

Fecha: _____

**Anexo 1. FORMATO PARA EVALUAR LA ACEPTABILIDAD DE
ATRIBUTOS DEL JUGO DE TUNA**

Nombre: _____ Edad: _____

Instrucciones: de acuerdo a tu preferencia marca con una X el valor que creas conveniente para cada uno de los parámetros

Dónde:

Color-Sabor-Aroma	
Me gusta extremadamente	9
Me gusta mucho	8
Me gusta moderadamente	7
Me gusta poco	6
Ni me gusta ni me disgusta	5
Me disgusta poco	4
Me disgusta moderadamente	3
Me disgusta mucho	2
Me disgusta extremadamente	1

Muestra: _____

Color								
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Sabor								
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Aroma								
1	2	3	4	5	6	7	8	9

Fecha: _____

Anexo 2. FORMATO PARA EVALUAR LA ACEPTABILIDAD GLOBAL DEL JUGO DE TUNA

Nombre: _____ Edad: _____

Instrucciones: de acuerdo al grado de aceptabilidad marca con una X el valor que creas conveniente para cada una d las muestras

Dónde:

Me gusta extremadamente	9
Me gusta mucho	8
Me gusta moderadamente	7
Me gusta poco	6
Ni me gusta ni me disgusta	5
Me disgusta poco	4
Me disgusta moderadamente	3
Me disgusta mucho	2
Me disgusta extremadamente	1

Muestra: _____

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Muestra: _____

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Muestra: _____

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Muestra: _____

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---