

Universidad Autónoma de Querétaro

FACULTAD DE QUÍMICA

Tesis

“Evaluación microbiológica de un smoothie de mango
aplicando altas presiones y calentamiento óhmico”

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Ingeniero Químico en Alimentos

Presenta

María Guadalupe Urbina Reyna

Exp. 178957

Santiago de Querétaro, Querétaro, 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DE UN SMOOTHIE DE MANGO APLICANDO ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS Y CALENTAMIENTO ÓHMICO”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

**PRESENTA
MARÍA GUADALUPE URBINA REYNA**

**DIRIGIDA POR
Dra. SILVIA LORENA AMAYA LLANO**

SINODALES

**Dra. SILVIA LORENA AMAYA LLANO
DIRECTOR**

**Dr. EDUARDO MORALES SÁNCHEZ
CODIRECTOR**

**Dra. BLANCA GARCÍA ALMENDAREZ
SINODAL**

**Dr. GONZALO VELÁZQUEZ DE LA CRUZ
SINODAL**

ÍNDICE GENERAL

ContenidoPágina

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	0
1 ANTECEDENTES	1
1.1 Tendencia de las bebidas	2
1.2 Generalidades del mango	3
1.2.1 Origen y distribución geográfica	3
1.2.2 Características del fruto	3
1.2.3 Composición nutricional	4
1.2.4 Variedades de Mango	5
1.2.5 Agroindustria del mango	8
1.2.5.1 Producción nacional del mango	8
1.2.5.2 Alternativas de procesamiento agroindustrial	10
1.3 Deterioro de alimentos	13
1.3.1 Deterioro microbiano	13
1.3.1.1 Fuentes de contaminación	15
1.3.1.2 Microflora común en alimentos	16
1.3.2 Deterioro enzimático	17
1.4 Conservación de alimentos	18
1.4.1 Pasteurización	19
1.4.2 Calentamiento óhmico	21
1.4.3 Procesamiento de altas presiones (HPP)	23
2 HIPÓTESIS	27
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo general	28
3.2Objetivos específicos	28
4 METODOLOGÍA	29
4.1 Materiales	29

4.1.1	Material biológico	29
4.2	Métodos	29
4.2.1.1	Recuento de hongos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994)	29
4.2.1.2	Recuento de bacterias mesófilas (NOM-092-SSA1-1994)	29
4.2.1.3	Recuento de organismos coliformes (NOM-113-SSA1-1994)	30
4.3	Análisis sensorial	30
4.4	Diseño experimental	30
4.4.1	Obtención y manejo de las pulpas	30
4.4.2	Formulación y evaluación sensorial	31
4.4.3	Aplicación de tratamientos a la bebida tipo smoothie	34
4.4.4	Diseño de muestreo	35
4.4.5	Análisis de resultado	35
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
5.2	Caracterización de pulpas de mango y bebidas comerciales	37
5.3	Características fisicoquímicas de pulpas y bebidas comerciales	37
5.4	Evaluación microbiológica de las pulpas y bebidas comerciales	38
5.5	Desarrollo de la bebida tipo smoothie	39
5.5.1	Extracción de las pulpas de mango	39
5.5.2	Formulación de la bebida tipo smoothie	40
5.6	Preparación de mezclas para la aplicación de tratamientos	41
5.7	Aplicación de tratamientos	42
5.7.1	Pasteurización convencional	42
5.7.2	Altas presiones hidrostáticas	48
5.7.3	Calentamiento óhmico	53
6	CONCLUSIONES	57
7	REFERENCIAS	58
	ANEXOS	63

ÍNDICE DE CUADROS

CuadroPágina

1	Composición nutricia en base a 100 g de pulpa de mango	5
2	Fuente de contaminación de frutas y verduras y prácticas de manejo que propician la sobrevivencia o desarrollo	15
3	Diseño de mezclas con base 35% de pulpa.	32
4	Diseño de mezclas con base 45% de pulpa.	33
5	Caracterización fisicoquímica de pH y sólidos	38
6	Evaluación microbiológica en pulpa de mango y comerciales	39
7	Formulaciones seleccionadas para el procesamiento.	41
8	Recuentos microbianos de las mezclas pasteurizadas.	43
9	Recuentos microbianos de las mezclas sometidas a HPP.	49
10	Recuentos microbianos de las mezclas sometidas a CO.	55

bebidas

ÍNDICE DE FIGURAS

FiguraPágina

1	Fruto de mango y sus partes (Mondragón, 1999)	4
2	Distribución en el cultivo de mango en México	9
3	Producción en toneladas de mango por entidad federativa, 201	10
4	Cadena agroindustrial del mango (SAGARPA, 2005)	12
5	Técnicas de conservación (Rahman, 2007)	19
6	Etapas del proceso de presurización mediante HPP	.26
7	Procesamiento de la bebida tipo smoothie	.32
8	Diseño experimental de la bebida tipo smoothie	.36
9	Campana de flujo laminar para análisis microbiológicos	39
10	Bolsas contenedoras de la bebida preparada	.42
11	Crecimiento de BMA en las mezclas pasteurizadas	.47
12	Crecimiento de hongos y levaduras de las muestras pasteurizadas	48
13	Equipo de HPP en Verfruco, Uruapan, Michoacán	51
14	Crecimiento de BMA en las mezclas sometidas a HPP	.52
15	Crecimiento de HYL de las muestras sometidas a HPP	.52
16	Celda diseñada calentamiento óhmico	53
17	Crecimiento de BMA en las mezclas tratadas por CO	.56
18	Crecimiento de hongos y levaduras en mezclas tratadas por CO	56

RESUMEN

En este trabajo se desarrolló una bebida tipo smoothie a base de pulpa de mango. Se realizaron formulaciones de diferentes variedades de mango: Ataulfo, Manila y Haden, con el fin de obtener un producto que conserve su valor nutricional, que sea inocuo y que sea aceptado por los consumidores. Una vez seleccionadas las formulaciones de mayor preferencia, se procedió a pasteurizarlas por calentamiento óhmico y por altas presiones, éstas dos últimas con el objetivo de evaluar la eficiencia de la conservación al aplicar tecnologías alternativas. Las condiciones de pasteurización fueron: pasteurización convencional (72°C/15s), pasteurización por calentamiento óhmico (CO) (72°C/15s) y procesamiento de altas presiones (HPP) (4500Bar/15s, 5000Bar/90s y 6000Bar/180s). Una vez pasteurizadas las formulaciones se envasaron y se mantuvieron en refrigeración a 4°C hasta su análisis microbiológico: mesófilos aerobios, coliformes totales, hongos y levaduras. El monitoreo se llevó a cabo a los 0, 5, 10, 25 y 50 días, utilizando la técnica de vaciado en placa descrita por las Normas Oficiales Mexicanas. La carga microbiológica inicial de las formulaciones se redujo completamente con los tratamientos de prueba, sin embargo, la pasteurización convencional mantuvo niveles aceptables hasta el día 25; la pasteurización por CO conservó las formulaciones 1 y 3 hasta el día 50, sin embargo, la formulación 2 sobrepasó el límite de hongos y levaduras (HYL) de acuerdo a la NOM-130-SSA1-1995 por lo que, desde el día 10 podría ser apta para consumo humano. Finalmente, HPP fue el tratamiento que mantuvo mayor estabilidad microbiológica por lo que se considera una tecnología recomendable para la conservación de la bebida.

1 ANTECEDENTES

México, es el quinto lugar en la producción mundial de mango. Cabe mencionar que la producción va incremento año con año, por lo que se busca explotar esta fruta a su máxima capacidad, sin que haya pérdidas poscosecha. Sin embargo, se presentan una serie de problemáticas a lo largo de la cadena de distribución teniendo pérdidas significativas desde su cosecha hasta la comercialización y que más tarde, esto se traduce en pérdidas económicas para los productores primarios del país. Gran parte de este fenómeno de pérdidas, se debe a la susceptibilidad al deterioro microbiano o enzimático que tiene la fruta, por lo que la búsqueda de técnicas para prolongar su vida útil representa un punto importante en la investigación de los alimentos. Además de que cada vez la exigencia de los consumidores es mayor, sobre todo cuando son productos destinados a exportación, por lo que una vez que la fruta es detectada con ciertos defectos de calidad, ésta es rechazada y posteriormente desechada, sin considerar que cierto porcentaje de la fruta, aún puede ser procesada.

Por lo que resulta importante, encontrar métodos para prolongar la vida útil de la fruta, dándole al mango fresco un valor agregado permitiendo extenderse a nuevos mercados.

Por lo tanto, se pretende elaborar una bebida de mango, que cumpla con las exigencias de los consumidores, conserven el valor nutricional de la fruta, con larga vida de anaquel y estable en almacenamiento, así como inocuo para el consumidor. Actualmente existen dos tipos de procesamientos convencionales para extender la vida de anaquel en jugos de fruta: la refrigeración y el pasteurizado. Sin embargo, los productos refrigerados conservan su valor natural, pero tienen una vida de anaquel corta y los productos pasteurizados, se preservan por más tiempo, pero su sabor se ve afectado por la aplicación del tratamiento térmico.

Otras alternativas conocidas, pero poco explotadas en nuestro país son lasaltas presiones, pulsos eléctricos de alta intensidad, radiación ionizante, campos

magnéticos oscilantes, envasado en atmósferas modificadas, antimicrobianos naturales y calentamiento óhmico, las cuales le confieren ciertas ventajas a los alimentos, tales como la conservación de características sensoriales propias del alimento fresco y la conservación de propiedades nutricionales y cualidades funcionales para la salud. Por otra parte, la tendencia al consumo de alimentos naturales se ha incrementado en todo el mundo, sobre todo para aquellas personas que están preocupadas por llevar una buena alimentación y vida saludable.

El calentamiento óhmico es una tecnología de proceso térmico muy eficiente ya que el calorgenerado internamente es a causa de una corriente eléctrica que atraviesa el líquido al aplicar un voltaje, lo que lo hace que sea un calentamiento más rápido respecto a la pasteurización tradicional.

La aplicación de altas presiones, es un tratamiento no térmico, el cual ha demostrado que inactiva microorganismos sin causar cambios significativos en el sabor y valor nutricional de los alimentos. Por tanto, ambos son métodos alternativos para la conservación de bebidas.

1.1 Tendencia de las bebidas

Los consumidores de hoy en día, conciben a las bebidas como parte de un estilo de vida y no sólo para saciar la sed. Para ello, eligen aquellas que satisfacen sus necesidades, tales como el compensar la falta de una alimentación saludable. Por lo tanto hay cierta preferencia por las bebidas naturales que conserven su sabor y sus características nutricionales propias de la fruta (Goel, 2007). Además, las prevalencias de sobrepeso, obesidad y diabetes han aumentado con rapidez en México en los últimos 20 años junto con el incremento del consumo de energía proveniente de las bebidas durante el mismo periodo. Esta cantidad de calorías que representa el 21% del consumo total de energía de adolescentes y adultos mexicanos procede en particular de las bebidas azucaradas, jugos, leche entera y alcohol (Ludwing, 2001).

Las bebidas a base de frutas frescas, tales como los smoothie, son cada vez más populares y se consideran productos de alta calidad por su sabor y apariencia, además de ser nutritivos y saludables. Los smoothies ofrecen un medio para

cumplir la ingesta diaria de frutas frescas recomendada por especialistas(Walking y col., 2008).

El mercado de smoothies está creciendo rápidamente con más del 250% año tras año según ORAFTI Active Food Ingredients. Los smoothies –especie de licuados- sólo tienen como base la fruta, aunque también puede contener leche y/o yogurt (Wouters, 2006).En 2010, Global Industry Analysts, anunció que el mercado mundial se proyecta a alcanzar \$ 9 mil millones para el año 2015 (www. prwb.com). En México, Grupo Jumex, fabricante líder de jugos, néctares y bebidas embotelladas, han adoptado esta nueva tendencia y lanzado al mercado su nueva bebida JUMEX Smoothie, bebida con una mezcla de frutas, que actualmente se distribuye en tiendas de autoservicio. Otra marca es HOLA smoothies, creada por una pequeña empresa mexicana dedicada a la elaboración de smoothies 100% naturales, la cual no agrega saborizantes, conservadores y/o azúcares.

1.2 Generalidades del mango

1.2.1 Origen y distribución geográfica

El mango (*Mangifera indica* Linn.), es el miembro más importante de la familia *Anacardiaceae*, que a su vez forma parte del orden de las Terebintáceas. Se originó en la región Indo-Birmaná y Sur-Este de Asia, Isla de Borneo y Sumatra (Sergent, 1999) y fue introducido a México proveniente de Filipinas antes de 1779 por viajeros españoles (Mata y Mosqueda, 1995). Está ampliamente distribuido en las regiones tropicales y subtropicales y se consume más ampliamente en estado fresco (Ramírez, 1991). Según las estadísticas de la FAO del año 2005 se produce en 70 países y el mayor consumo, concentrándose en los asiáticos y latinoamericanos.

1.2.2 Características del fruto

El patrón de crecimiento de estos es sigmoide y continúa hasta la maduración, aunque su velocidad de crecimiento disminuye en la etapa final. El fruto es una

drupa aplanada. La forma de la fruta varía entre redonda a ovalada oblonga con longitudes de 5 a 30 cm (Figura 1). El color de la cáscara puede ser amarillo, anaranjado o verde con chapeos de colores que pueden oscilar de entre rojo claro a morado oscuro. El “pico” es una de las características distintivas del fruto del mango, el cual es una pequeña protección cónica desarrollada lateralmente en el extremo de la fruta. La cáscara (exocarpo) es normalmente lisa con lenticelas en forma de pequeñas manchas corchosas circulares de color blanco, amarillo y hasta café dependiendo del estado de madurez. La pulpa (mesocarpo) es de color amarillo-anaranjado y ocupa del 65-85% del peso total de la fruta. La semilla (endocarpo) es normalmente de un tamaño grande y cubierta de una capa fibrosa, delgada y dura (Yahía, 1997).

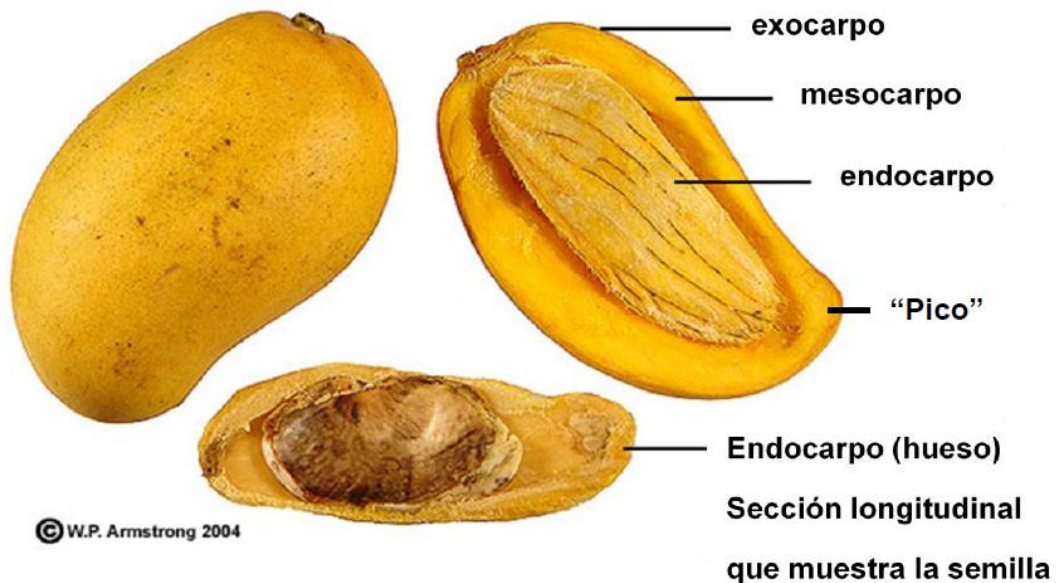


Figura 1. Fruto de mango y sus partes (Mondragón, 1999)

1.2.3 Composición nutricional

La composición química de la fruta depende de la variedad, estado de madurez y las condiciones del cultivo. Los constituyentes principales de la pulpa son el agua,

carbohidratos, ácidos orgánicos, minerales, pigmentos, taninos y vitaminas. La pulpa representa una excelente fuente de vitaminas A y C, tiamina y niacina (Mondragón, 1999). Además de que tiene un efecto laxante, diurético, astringente y refrescante, es buena fuente también de calcio, fósforo y hierro, entre otros componentes nutricionales (Yahía y col., 1997).

El mango es una buena fuente de fibra dietaria. El consumo de frutas ayuda a la protección de la salud, ya que es útil para reducir el riesgo de enfermedades coronarias del corazón, derrames cerebrales y algunos tipos de cáncer. También es bajo en calorías, lo que ayuda a prevenir la obesidad, un factor de riesgo para la diabetes tipo 2, el cáncer y la enfermedad cardiovascular. Además, contiene más de 20 vitaminas y minerales diferentes, su contenido de sodio y grasa son muy bajos y una ración tiene solo 65 kilocalorías (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición nutricional en base a 100 g de pulpa de mango

Datos nutricionales			
Peso de la ración (100 g)		Potasio (mg)	156
Energía (Kcal)	65	Selenio (mcg)	0.6
Agua (g)	81.71	Sodio (mg)	2
Proteína (g)	0.51	Zinc (mg)	0.04
Grasa total (g)	0.27	Vitaminas	
Carbohidratos (g)	17	Vitamina A, (mcg)	38
Azúcares totales (g)	14.8	Vitamina C (mg)	27.7
Colesterol (mg)	0	Vitamina B-6 (mg)	0.134
Ácidos grasos saturados, total (g)	0.066	Colina, total (mg)	7.6
Minerales		Vitamina E, (mg)	1.12
Calcio (mg)	10	Folato, total (mcg)	14
Cobre (mg)	0.11	Vitamina K (mcg)	4.2
Hierro (mg)	0.13	Niacina (mg)	0.584
Magnesio (mg)	9	Riboflavina (mg)	0.057
Fósforo (mg)	11	Tiamina (mg)	0.058
		Caroteno, beta (mcg)	445
		Caroteno, alpha (mcg)	17

(USDA, 2012)

1.2.4 Variedades de Mango

Existen diversas variedades de mangos, dentro de las cuales se encuentran las siguientes:

Tommy Atkins

Proviene de una semilla sembrada de Haden en 1922(Florida- EU); Los principales frutos comerciales se obtuvieron a inicios de la década de los 40. Tiene buena calidad comestible, con pesos que oscilan entre 450-700g, sin embargo, la tendencia es a producir frutos de pesos homogéneos de aproximadamente 570 g/fruto; su forma es oval con base aplanada y ligeramente cavida o hendida en la inserción del péndulo; pico lateral ligeramente notorio y ápice redondeado. El color es rojo púrpura con piel lisa y gruesa que contiene pequeñas lenticelas blanquecinas. La pulpa es muy firme amarilla mate, poco jugosa con muy poco fibra, de moderada dulzura y aroma, representa el 83% del peso del fruto.

Keitt

Se obtuvo en Homestead-Florida en 1939. Al igual que el Haden, procede de una semilla plantada de Mulgoba. Es de buena a excelente calidad total, ya que además de buen sabor y aroma posee poca muy poca fibra, tiene la pulpa muy firme, dulce y jugosa recubierta de una piel fina y lisa, de color verdoso-amarillento en el ápice y rojizo en la base; posee pequeñas lenticelas blanquecinas, la pulpa es amarilla o anaranjada con pocas y pequeñas fibras. La semilla es pequeña y ocupa el 30 %-50% del hueso. De peso entre 600 y 750 g por fruto.

Ataulfo

Su fruto ha tenido gran aceptación por su excelente calidad y resistencia al manejo. Es de color amarillo, con un peso promedio que varía de 180 a 260 g. La pulpa es de color amarilla con muy poco contenido de fibra.

Irwin

Se originó de la semilla lippens en Florida-EU. Con color rojo brillante y leve fondo amarillento, piel lisa de mediano grosos, muy adherida al mesocarpo, poseé lenticelas numerosas y largas. Tiene forma elíptica, con inserción oblicua en

pedúnculo en cavidad bien notoria, sin pico y, de peso entre 140 y 450 g. El hueso es aplanado; la semilla ocupa del 50% al 75% del mismo (Sergent,1999).

Haden

La más antigua de las variedades de Florida, proveniente de un árbol de la variedad mulgoba (originario de la India). Es una fruta de 650g de peso aprox., 14 cm de largo, de forma ovalada, con fondo de color amarillento, capeo rojizo, lenticelas blancas, pulpa jugosa, casi sin fibra, con sabor ligeramente ácido, de buena calidad y época de cosecha en Junio. En México junto con el mango Kent ocupa las mayores superficies dentro de las variedades comerciales.

Kent

Deriva de la variedad Brooks que a su vez deriva de la variedad sandesha, peso promedio de 680g. Pulpa jugosa, sin fibra, de buena calidad. La semilla ocupa el 9% del peso de la fruta. Se cosecha en junio-agosto y en ocasiones hasta los primeros días de septiembre.

Sensation

De origen desconocido, fruta pequeña, peso promedio de 280-350g. Pulpa ligeramente dulce, aroma suave y de buena calidad.

Zill

Deriva del Haden, proveniente de Florida. De peso promedio de 450-680g. La piel es de color amarillo oscuro con rubor rojo que cubre gran parte de ella. La pulpa de color amarillo y sin fibras, con un sabor dulce y fuerte aroma.

Tipos criollos mexicanos: En México existen una gran diversidad de mangos que han sido reproducidos por semilla.

Grupo manila o indochino

Es la variedad de mayor importación en México, donde Veracruz es el principal productor. La fruta es pequeña, de 9 a 17 cm de longitud y 180 a 550 g de peso; su forma es más bien elongada, con color generalmente amarillo o anaranjado, de

pulpa dulce, de sabor agradable, sin fibra o con muy poca. La mayor producción es de abril a agosto.

Manzanillo Núñez

Es una selección regional. Árbol vigoroso muy productivo, no alternante, se cosecha entre junio y julio. Su fruto es grande parecido al Kent. El chapeo es rojo sobre amarillo-naranja, su pulpa no tiene fibra y la semilla es pequeña. Su producción se destina preferentemente al mercado nacional.

Diplomático

Sus frutos pesan entre 280 y 320 g, son de color amarillo y una base de chapeo rojo. La pulpa es dulce con algo de fibra y resistente al manejo. Tiene demanda para el mercado nacional.

1.2.5 Agroindustria del mango

1.2.5.1 Producción nacional del mango

El mango ocupa el cuarto lugar en cuanto a superficie sembrada dentro de los cultivos perennes considerados como frutales y es el tercer producto de exportación después del café y naranja (Figura 2).

Los principales productores de mango a nivel mundial son India, China, Tailandia, Pakistán, seguidos por nuestro país e Indonesia. México es el quinto productor de mango a nivel internacional y el principal exportador de este fruto a nivel internacional. Los destinos principales de su producción son los Estados Unidos, Canadá, y en menor medida la Unión Europea y Japón.

Las variedades más importantes en México son *Ataulfo* (que representa uno de cada cuatro mangos mexicanos y cuenta además con denominación de origen), *Manila*, *Tommy Atkins*, *Haden* y *Kent*. conjuntamente aportan 81.2% por ciento de la producción nacional, la distribución del cultivo de mango en México se muestra en la figura 2. Los principales productores del país se encuentran en los estados

de: Campeche, Colima, Chiapas, Guerrero, Jalisco, Nayarit, Oaxaca, Michoacán, Sinaloa (Figura 3).






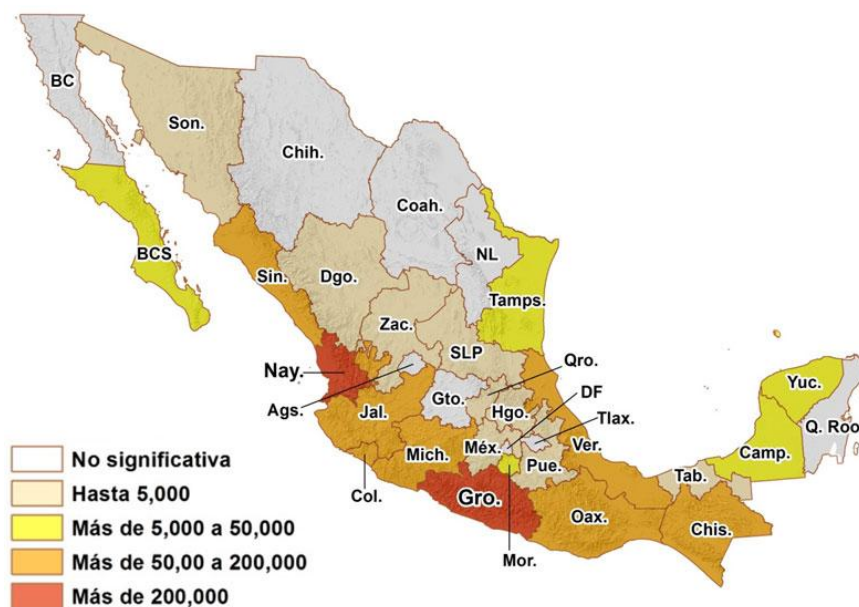
Variedad	Meses	Estados
Ataulfo 	Febrero-julio	Chiapas Guerrero Oaxaca Colima Nayarit Sinaloa
Haden 	Febrero-agosto	Colima Jalisco Michoacán Guerrero Nayarit Sinaloa
Kent 	Julio-agosto	Jalisco Michoacán Nayarit Sinaloa Colima
Tommy Atkins 	Fines Febrero-agosto	Michoacán Jalisco Colima Guerrero Nayarit Sinaloa
Keitt 	Abril-fines septiembre	Colima Jalisco Nayarit Sinaloa

Figura 2. Distribución en el cultivo de mango en México.



(SAGARPA-SIAP, 2010)

Figura 3. Producción en toneladas de mango por entidad federativa, 2011.

1.2.5.2 Alternativas de procesamiento agroindustrial

El mango al igual que otras frutas tropicales, experimenta cambios químicos nutricionales y en características organolépticas, principalmente sabor, durante el termoprocesamiento. Por estas razones es de suma importancia usar procesos de poco efecto sobre estos compuestos termolábiles, proceso de frío o procesos térmicos (FAO, 1993).

La temperatura de tránsito recomendada varía según las de producción entre 10 y 13° C. A temperaturas de nivel bajo, el riesgo de daño por frío aumenta. A 13° C el proceso de maduración no se detiene completamente y el período de almacenaje se reduce. Como con casi todas las frutas tropicales, la atmósfera controlada, la eliminación de etileno o el sellado de frutas individuales en bolsas de plástico de permeabilidad controlada, alargan el período de almacenaje bajo condiciones de laboratorio. Largos almacenajes, especialmente a bajas temperaturas disminuyen

el contenido de azúcar y ácido de las frutas. Mangos recién recogidos, almacenados a 18-22° C alcanzan el estado blando comestible en 8-10 días.

La conservación se mejora si los frutos son sometidos a un pre-tratamiento por calor a 38°C, antes de su almacenamiento a bajas temperaturas. En caso contrario desarrollan daños por bajas temperaturas mucho más rápidamente (Mccollum ycol, 1993). Las técnicas actuales sobre conservación post cosecha de los frutos de mango tienden al control conjunto de la humedad (>95%), aire caliente (entre 47-49° C) y tratamientos fungicidas en momentos puntuales para minimizar los daños causados por plagas y enfermedades (Absagro, 2012).

El mango puede tener una diversidad de destinos como se muestra en la Figura 4. Se consume principalmente en fresco y en diferentes niveles de madurez entre verde, semi maduro y maduro, donde tenemos que a nivel nacional el mango destinado a exportación es principalmente de las variedades: Tommy Atkins, Keitt y Manila. También, se puede emplear en una amplia variedad de productos tales como: postres, salsas, como ingrediente en alimentos gourmet, combinado con otros vegetales o frutas empacadas en bandejas. Por otro lado, se encuentran las alternativas de conservación de mango a nivel industrial, tales como la deshidratación, preparación de concentrados, congelación IQF de cubos y rodajas, como puré, pulpa, o jugo. Para este último destino, la industria productora de jugos, es abastecida por el mango común o criollo. En general los principales destinos de estos productos procesados son: Estados Unidos, Holanda, Bélgica, Chile, Panamá, Colombia y Perú, entre otros (Sagarpa, 2012).

En México, en el año 1996 fueron creadas 32 Fundaciones Produce por iniciativa de los Gobiernos Federal y Estatal, a través del Programa de Investigación y Transferencia de tecnología de la Alianza para el Campo. Son asociaciones de productores sin fines de lucro, cuyo objetivo es asegurar una mayor y mejor generación de tecnología agropecuaria y forestal en México. Es coordinada por COFRUCO (Coordinadora Nacional de las Fundaciones Produce).

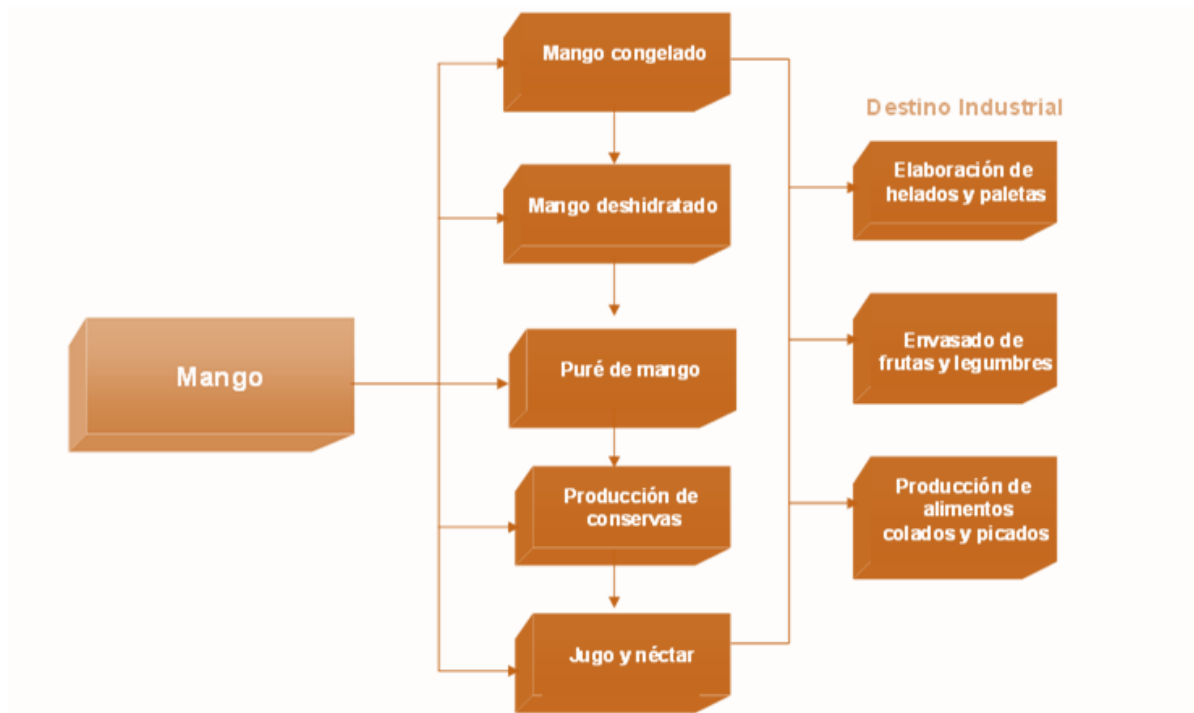


Figura 4. Cadena agroindustrial del mango (SAGARPA, 2005)

Actualmente las Fundaciones Produce de cada estado correspondiente, realizan proyectos dedicados al aprovechamiento agroindustrial de las principales variedades de mango en los estados de Jalisco, Colima, Nayarit y Michoacán. Esta iniciativa nace de la necesidad de aprovechar la producción obtenida debido a que no todo el mango que se cultiva o se cosecha es comercializado, sobre todo en épocas de sobreoferta, cuando los precios son excesivamente bajos y provocan grandes pérdidas a los productores al resultar incosteable la cosecha y comercialización convirtiéndolos en excedentes que se desperdician.

Por ello, el presente trabajo propone el uso de tecnologías emergentes como el calentamiento óhmico y las altas presiones como una alternativa para las distintas variedades de mango que se producen en México. El producto de mango a pasteurizar será una bebida con una consistencia entre pulpa y el néctar denominada smoothie.

1.3 Deterioro de alimentos

Las frutas y hortalizas, en la categoría de productos semiperecederos, muestran alteraciones que responden a mecanismos particulares a diferencia de otros alimentos. Los cambios pueden obedecer procesos fisiológicos, como la maduración por ejemplo. En productos climatéricos como el mango, el proceso de maduración continúa después de ser cosechados, ocasionando una degradación progresiva de los tejidos (senescencia) debido a la liberación de enzimas con aparición de sustancias que fácilmente son metabolizadas por los microorganismos.

Por otro lado, las modificaciones en estos productos pueden ocurrir por la presencia de microorganismos, tales como: bacterias, hongos y levaduras. En consecuencia, para el consumo humano cualquiera de estos dos mecanismos se traduce en un producto defectuoso o deteriorado. Sin embargo, en algunos casos no implica necesariamente enfermedades asociadas a su consumo. Es importante mencionar que existen microorganismos que pueden simplemente sobrevivir en los alimentos sin dar lugar a modificaciones aparentes en sus características sensoriales. Ya que a causa de diversos cambios o condiciones se afecta su capacidad para proliferar en el alimento, sin embargo, una vez que las condiciones se tornan favorables, se inicia la multiplicación microbiana, la cual se puede ver reflejada en deterioro progresivo o un incremento en el riesgo a la salud consecutivo a su consumo (Fernández, 2000).

1.3.1 Deterioro microbiano

El origen, características físicas, estructurales y la composición química de las frutas y verduras, son determinantes del contenido cualitativo y cuantitativo de microorganismos. Algunos de ellos poseen capacidad patógena para el hombre y animales. Durante su desarrollo en el campo se mantienen expuestos a la

contaminación directa por la tierra y el agua donde la fauna y los humanos también tienen participación. Las frutas suelen ser protegidas por una cubierta externa que evita el ingreso de microorganismos; que no suelen contenerlos en su interior y su presencia se limita a las partes externas. En la dieta humana estos alimentos tienen un importante papel como fuente de nutrientes y en el adecuado funcionamiento del aparato digestivo (Fernández, 2000).

La calidad comercial y el tiempo de conservación depende de ciertas condiciones antes, durante y después de ser cosechadas (Yildiz, 1994): factores genéticos controlables en un determinado cultivar, factores climáticos como la temperatura, intensidad de la luz, humedad relativa, lluvia, características de terreno, uso de fertilizantes, pesticidas o reguladores del desarrollo, y técnicas de cosecha (manual o mecánica). Los productos semiperecederos crudos, deben considerarse potencialmente contaminados por microorganismos patógenos. De aquí la importancia de aplicar tratamientos que aseguren la calidad e inocuidad de los productos elaborados a partir de frutas frescas.

En los últimos años se ha incrementado el número de brotes de infecciones transmitidas por el consumo de jugos no pasteurizados, de expendio comercial. De hecho, en países como Estados Unidos y Canadá se han reportado, desde 1990, alrededor de 15 brotes, en los cuales se aislaron patógenos como *Salmonella*, *Cryptosporidium* y *Escherichia coli* O157:H7. De estos patógenos es quizás *Escherichia coli* O157:H7 el de mayor peligrosidad para el consumidor, ya que dadas sus características de patogenicidad, en ocasiones pueden producir la muerte del paciente (Rojas, 2003). Otra incidencia fue registrada en el año 2012, por un brote de salmonelosis en Estados Unidos asociado a mango importado de México. Lo cual provocó que la FDA pusiera a la empresa mexicana Agrícola Daniella en alerta de importación y negara el ingreso de los mangos de dicha marca. El centro para el Control y la Prevención de Enfermedades informaron que el brote de *Salmonella* Braenderup infectó a 105 personas en 16 estados. El Departamento de Salud Pública de California rastreó varias enfermedades del brote de la cepa de *Salmonella* Braenderup a lo largo de la cadena de abastecimiento hasta llegar a Agrícola Daniella ubicada en el estado de Sonora (FDA, 2012).

1.3.1.1 Fuentes de contaminación

Cuadro 2. Fuente de contaminación de frutas y verduras y prácticas de manejo que propician la sobrevivencia o desarrollo.

-
1. Uso para riego de agua contaminada con desechos humanos y animales
 2. Trabajadores portadores
 3. Equipos y recipientes mal saneados
 4. Uso de estiércol como fertilizante
 5. Fauna nociva y animales domésticos
 6. Uso de agua contaminada para su lavado
 7. Equipo y material usado en la cosecha
 8. Contaminaciones cruzadas
 9. Abuso de temperatura
 10. Cocción inadecuada
-

(Fernández, 2000)

En la poscosecha destaca la maquinaria y equipo, los recipientes, animales domésticos y silvestres, los trabajadores, el polvo de la atmósfera y los vehículos (Beuchat, 1996). La naturaleza y la abundancia de la flora contaminante (bacterias, virus, hongos, levaduras, parásitos) es muy variable entre los diferentes productos. Para uno en particular, depende de la cercanía de la tierra cuando se desarrollan, las condiciones de humedad y viento, la estación del año, la proximidad de animales y el tipo de agua de irrigación. En aquellas que se ofrecen al público los microorganismos pueden provenir de una diversidad de fuentes de contaminación (Cuadro 2).

1.3.1.2 Microflora común en alimentos

Dada las condiciones tropicales del mango, se puede ver afectado por enfermedades que se pueden manifestar en aspecto de pudrición, pústulas, babosidad, micelio blanco o de color, y esporas. En cuanto a los ataques de insectos sobre los mangos almacenados, algunos ensayos indican que la utilización de insecticidas en atmosferas con bajos niveles de oxígeno controlan muy bien estas plagas sin modificar las características organolépticas de los frutos y la aplicación de sustancias orgánicas sobre los mismos. *Colletotrichum gloeosporioides* es el patógeno post cosecha más importante en el mango. Algunos de los estudios sobre el cultivo del mango se destinan a minimizar los daños post cosecha causados por este hongo y cabe señalar la utilización del control biológico del patógeno con otros microorganismos como *Pseudomonas fluorescens* (Abcagro, 2012)

En productos procesados a base de fruta, la microflora encontrada comúnmente es propiciada principalmente por:

a) Incidencia de hongos

La fruta, tal como se recibe en las plantas procesadoras, lleva consigo una incidencia muy elevada de hongos. Muchos de ellos no ocasionan problemas severos, sin embargo suele haber especies inocuas que pueden ocasionar problemas de deterioro e inducir altos niveles de contaminación en los jugos y otros productos.

Los hongos de mayor incidencia se muestran a continuación:

Colletotrichum gloeosporoides (Antracnosis)

Oidium manguiferae (Cenicilla)

Elsinoe manguiferae (Roña)

Fusarium moniliforme (Escoba de bruja)

Phymatotrichum omnivorum (Pudrición texana)

Botrytophthora cinnamomi (Cáncer de tronco)

Capnodium manguiferae (Fumagina)

Pestaloria manguiferae (Mancha foliar)

Los primeros cuatro son principalmente deterioradores del fruto.

b) Incidencia de levaduras

Las levaduras prosperan en el quipo y utensilios mal saneados de manera que son una fuente importante de contaminación (Fernández, 1981). Los alimentos procesados por otra parte, sean de origen animal o vegetal muestran cifras cuyo nivel depende de dos factores:

- a) La exposición a las fuentes de contaminación.
- b) Las oportunidades para su proliferación: composición del alimento, condiciones ambientales de temperatura y humedad, tiempo de almacenamiento y presencia de sustancias micostáticas (en el alimento o en los envases).

Muchas alteraciones en los alimentos resultan de la actividad de las levaduras cuando las condiciones del sustrato inhiben el crecimiento bacteriano sin afectar a aquellas (Fernández, 1981).

Las levaduras proliferan dentro de límites amplios. En algunos alimentos, la acidez y la elevada presión osmótica, permiten el crecimiento de ciertas levaduras (por ejemplo *Saccharomyces rouxii* var. *halomembranis* y *Pichia*) al desaparecer la competencia bacteriana contra las cuales aquellas se encuentran generalmente endesventaja.

Las levaduras no sobreviven a la pasteurización. Algunas especies del género *Geotrichum*, son frecuentes en descomposición de alimentos y sobre maquinaria de proceso.

Los géneros *Saccharomyces*, *Torulaspota*, *Zygosaccharomyces* y *kluveromyces* tienen como característica principal que son fuertemente fermentadoras (Looder, 1971).

1.3.2 Deterioro enzimático

La vida útil de los frutos mínimamente procesados está a menudo ligado con la aparición de procesos de pardeamiento enzimático (Vámos-Vigyazo, 1981). La enzima que se encuentra en la mayoría de las frutas y hortalizas es la polifenol oxidasa (PPO) responsable del pardeamiento en productos vegetales frescos. En

algunos frutos, se ha observado que los cambios de color producidos son inducidos por otra enzima peroxidasa (POD), cuya actividad está relacionada con los procesos de oxidación en los que intervienen determinados compuestos del alimento con capacidad de donar hidrógeno (Lamikanra y Watson, 2000).

El pardeamiento enzimático se podría eliminar mediante la inactivación por calor del enzima, la exclusión o la eliminación de uno o de los dos sustratos del enzima (oxígeno y fenoles), reducción de pH o por la adición de compuestos que inhiban la acción de las enzimas actualmente se ensayan combinaciones de tecnologías o barreras capaces de controlar el pardeamiento enzimático sin modificar las características sensoriales y nutricionales.

1.4 Conservación de alimentos

En general los alimentos son productos perecederos, por lo que necesitan ciertas condiciones, tratamientos y manipulación para evitar el deterioro, causado por agentes microbiológicos, físicos, químico-bioquímico y la senescencia de tal forma que llegan a ser inaceptables para el consumo humano.

La conservación de alimentos es la acción o método de mantener los alimentos a un nivel deseable de sus propiedades naturales o el máximo de sus beneficios por el mayor tiempo posible (Rahman, 2007). En general, cada paso en el manejo de los alimentos como la manipulación, el procesamiento, almacenamiento y distribución afectan en grado variable las propiedades del mismo, pasando de un estado deseable a un estado indeseable.

En la actualidad la conservación de los alimentos implica la aportación de un área en específico, que va desde la cosecha, el procesamiento, envasado y la distribución, donde se identifican las propiedades o características que se necesitan preservar del alimento.

En los últimos años se han desarrollado diversas técnicas basadas principalmente en aspectos de conveniencia, ausencia de conservadores, baja demanda de energía y seguridad ambiental. De acuerdo al modo de acción la mayoría de las técnicas de conservación se pueden clasificar en 1) Inhibición química del deterioro

y crecimiento microbiano, 2) inactivación directa de bacterias, hongo, levaduras o enzimas y 3) Evitar re-contaminación antes y después del procesado (Figura 5).

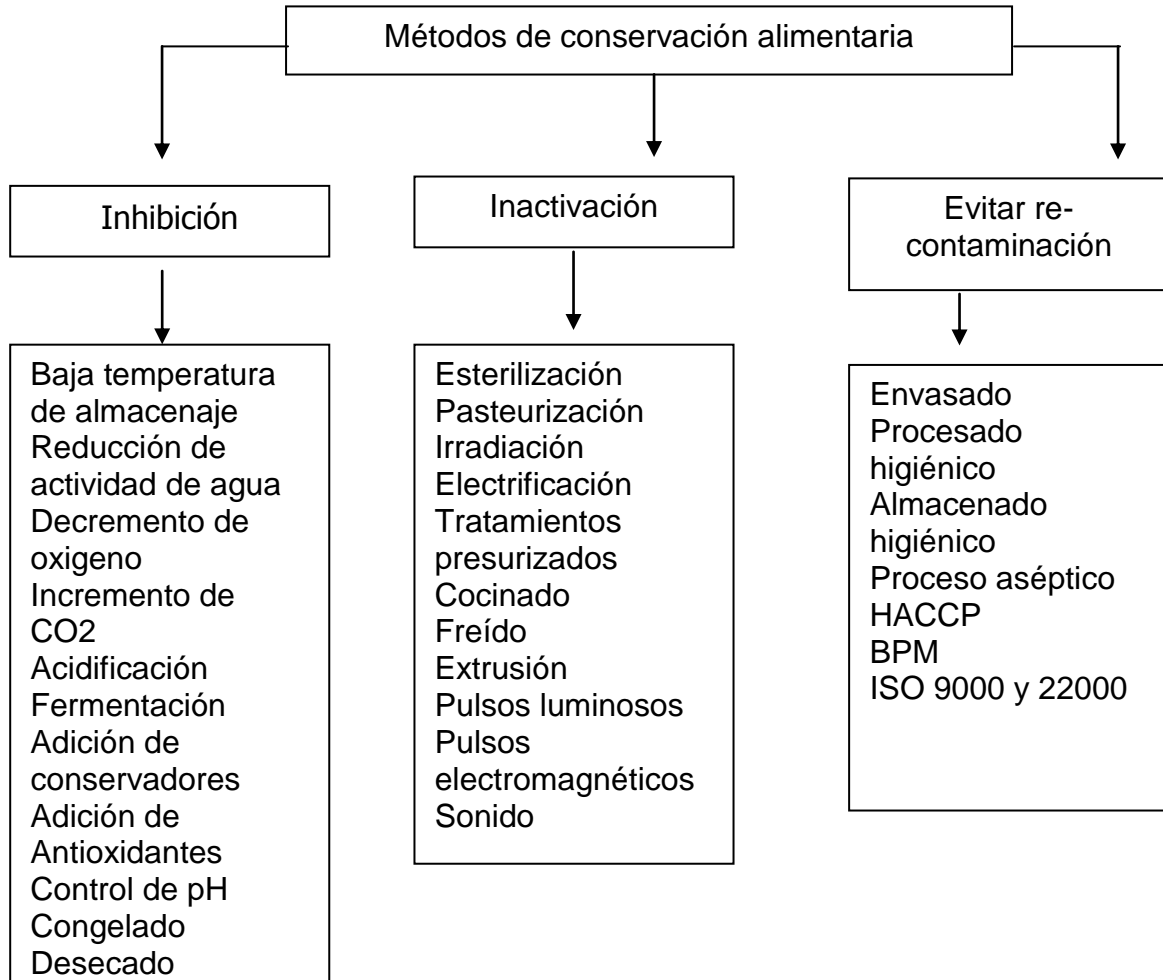


Figura 5. Técnicas de conservación (Rahman, 2007).

1.4.1 Pasteurización

El implemento de la pasteurización se atribuye al químico francés Louis Pasteur en 1863, quien utilizó el método para prevenir el deterioro en vino, cerveza y más tarde también empleó en leche para producir lo que hoy en día conocemos como leche pasteurizada. Al comienzo la leche se pasteurizaba para eliminación de uno de los agentes causales de la tuberculosis y del agente responsable de la brucelosis.

No obstante, los patógenos no son los únicos microorganismos presentes en los alimentos, comúnmente se encuentra cantidad de microorganismos deterioradores relativamente resistentes al calor generado en la pasteurización, los cuales no contribuyen como fuente probable de enfermedades; sin embargo, pueden producir deterioro de la leche refrigerada en un tiempo razonable.

La pasteurización es un tratamiento térmico suave que se utiliza ampliamente en la industria de los alimentos. Este proceso pretende la eliminación de patógenos que puedan comprometer la salud, así como la prolongación de la vida útil de dicho alimento. Este tratamiento en general consiste en la aplicación de temperatura por tiempo determinado.

El tratamiento clásico de pasteurización de la leche consiste en el calentamiento de está a una temperatura de 62-63 °C durante 30 minutos, seguidos de un enfriamiento rápido. Actualmente se emplean temperaturas de 72 a 75°C, pero sólo durante 15 seg. Este tratamiento se conoce como pasteurización rápida. Esta temperatura, que es más alta que la necesaria para destruir a los patógenos mencionados, reduce el número total de bacterias, de forma que la leche se mantiene por más tiempo bajo condiciones de refrigeración. Con la pasteurización se consigue la destrucción de la mayoría de las formas vegetativas de las bacterias y de la mayor parte de los virus, pero no de los agentes termófilos ni de las esporas (Negróni, 2009).

Este método de conservación ha tenido gran impacto en los productos lácteos, sin embargo, actualmente se emplea en otros alimentos como jugos y zumos de fruta. Las condiciones de pasteurización se definen para cada producto según la composición de la microflora y las propiedades del medio. Para jugos y bebidas ácidas de $\text{pH} < 4.5$ los tratamientos térmicos equivalentes se sitúan entre 65 °C por 30 min, 77 °C por 1 min y 88 °C por 15 s (Rahman, 2007).

Sin embargo, hay modificaciones negativas en la calidad organoléptica del producto una vez que se le aplica el tratamiento térmico, lo que se convierte una desventaja para los industriales que aplican este método de conservación. El desarrollo de procesos o métodos de conservación de alimentos que no requiera la aplicación de altas temperaturas es uno de los principales desafíos de la industria de alimentaria.

1.4.2 Calentamiento óhmico

Debido a la presión creciente de los consumidores por los alimentos mínimamente procesados, inocuos, con apariencia fresca y con un alto valor nutricional, en los últimos años se han desarrollado diversos métodos de conservación para satisfacer este objetivo y entre ellos destaca el calentamiento óhmico.

El calentamiento óhmico es un proceso térmico en el cual el calor es generado internamente en el alimento, el alimento actúa como una resistencia al paso de corriente eléctrica alterna (CA) ocasionando un calentamiento gradual interno hasta alcanzar las temperaturas de pasteurización. Además del aumento de temperatura en el producto se producen cambios en la estructura celular, puntualmente sobre el tejido de la membrana plasmática, variando su permeabilidad en distintos grados (fenómeno conocido como electroporación). Estos cambios se logran principalmente variando la intensidad del campo eléctrico aplicado (lo cual se puede lograr variando el voltaje). Intensidades de campos eléctricos altos (104-105 V/cm) proporcionan una oportunidad en experimentos de inactivación microbiana (Simpson y col., 2007)

El calentamiento óhmico es un proceso basado en el efecto Joule, donde la energía eléctrica es dispersada en forma de calor mediante el empleo de un conductor eléctrico. En este proceso el movimiento de los iones dentro de la estructura del alimento provoca el calentamiento cuando el producto es colocado entre dos electrodos provocándose así un incremento rápido, uniforme y de mayor temperatura en comparación con la transferencia de calor dentro de un producto por calentamiento por conducción.

Las primeras aplicaciones comerciales de este proceso se realizaron a finales del siglo XIX y principios del siglo XX en pasteurización en leche en un proceso denominado “*electropure process*” el cual fue descontinuado en la década de 1930 presumiblemente debido a los altos costos de la electricidad y la falta de materiales

adecuados para los electrodos (Palaniappan y col, 1991)(Rahman, 2007).No obstante, para la década de 1980 surgió un renovado interés en la investigación y desarrollo del método del calentamiento óhmico con aplicaciones en pasteurización industrial en distintos productos alimenticios tales como huevo líquido y productos frutales (Barbosa y col., 2005) .

Dentro de las ventajas que los procesos de calentamiento óhmico pueden ofrecer se pueden mencionar:

- Pueden ser procesadas partículas suspendidas de más de 1 in³,
- Homogeneidad del tratamiento bajo algunas circunstancias de líquido y partículas,
- Rápidos calentamientos para UHT
- Ausencia de superficies calientes que podrían dañar al producto por sobre-procesado,
- Alta eficiencia de conversión de energía,
- Relativo bajo costo.

El proceso de calentamiento óhmico fue denominado así en honor a Georg Ohm (quien elucidó la ley de Ohm) y James Prescott Joule (quien demostró que el paso de electricidad puede generar calor) (Barbosa-Canovas, y col., 2005). Este método también es conocido como calentamiento por resistencia eléctrica, calentamiento directo por resistencia eléctrica, electro-calentamiento o calentamiento electro-inductivo (Rahman, 2007).

El efecto térmico del calentamiento óhmico comúnmente asociado a la inactivación microbiana podría no ser el único factor responsable de esta inactivación ya que las evidencias sugieren que otro efecto podría verse involucrado. Diversas comparaciones entre procesos térmicos convencionales y calentamiento óhmico evidencian lo afirmado. En *Bacillus subtilis* por ejemplo a 97.2 °C se demostró una reducción significativa del valor D bajo tratamiento térmico (Cho y col., 2000). Adicionalmente tratamientos eléctricos subletales también han mostrado una

reducción en la fase *lag* y modificación de las propiedades metabólicas de la fermentación de bacterias acidolácticas (Cho y col., 1996).

1.4.3 Procesamiento de altas presiones (HPP)

La técnica consiste en aplicar elevadas presiones sobre el alimento ya envasado, con el objetivo de eliminar los microorganismos patógenos y deterioradores e inactivar enzimas, manteniendo características como aroma, sabor y pigmentos, entre otras (Parzanese,2011). El tratamiento se puede llevar a cabo sobre los productos ya envasados, si se cumple con que los materiales de dicho envase sean lo suficiente flexibles, impermeables al agua y tengan cierre hermético. Este tratamiento se caracteriza por actuar de forma instantánea y uniforme sobre cada uno de los puntos del producto por lo cual la efectividad del proceso es independiente de la dimensión y características geométricas del alimento. Cuando el medio transmisor de presión es el agua se denomina altas presiones hidrostáticas, las cuales son las más utilizadas en las industrias.

Esta técnica se basa en tres principios; uno de ellos es el principio de Le Chatelier el cual establece que cuando un sistema químico se encuentra en condiciones de equilibrio y experimenta un cambio o variación en su concentración, temperatura, volumen o presión parcial; el sistema modificará sus condiciones para contrarrestar dicho cambio. Específicamente la aplicación de altas presiones sobre un sistema provoca un desplazamiento del equilibrio hacia el estado que ocupa menos volumen (Perzanese, 2011). Las altas presiones afectan los enlaces no covalentes (puentes de hidrógeno, enlaces iónicos e hidrofóbicos) lo que significa que los componentes alimenticios de bajo peso molecular como las vitaminas no se vean afectados, mientras que los de alto peso molecular, como las proteínas, son muy sensibles (Tewari y col., 1999). El segundo principio es el isostático, el cual establece que la transmisión de la presión hacia el alimento es uniforme e instantánea, además de ser independiente del tamaño y geometría del alimento. Finalmente, el principio de orden microscópico, el cual explica que a temperatura

constante, un aumento en la presión origina un incremento en el grado de ordenación del sistema (Perzanese, 2011).

El uso de procesamiento de altas presión (HPP) como técnica de conservación de alimentos se conoce desde hace más de 100 años. Los primeros trabajos de investigación sobre los efectos de aplicar altas presiones sobre los alimentos fueron realizados por Bert Hite hacia finales del siglo XIX quien logró tratar leche mediante la aplicación de altas presiones. Utilizó aproximadamente 700 MPa durante 10 min a temperatura ambiente y obtuvo como resultado la disminución significativa de la carga microbiana. Años más tarde estudió el efecto de las altas presiones sobre las frutas y hortalizas lo cual permitió la extensión del tiempo de almacenamiento de estos productos.

Pese a que dichos resultados fueron sumamente positivos la difusión masiva de la técnica para la conservación de alimentos se presentó a partir de 1980, diez años más tarde salió a la venta el primer producto tratado por HPP en Japón. En los años sucesivos incrementó el interés de esta tecnología debido a la demanda de los consumidores por productos de alta calidad, mínimamente procesados, libres de aditivos y microbiológicamente seguros (Balci y Wilbey, 1999).

El uso de HPP en Estados Unidos está incrementando por su capacidad para inactivar microorganismos patógenos con el mínimo de tratamiento térmico (Tewari y col., 1999). El tratamiento térmico es el método predominante para lograr la estabilidad microbiana y la seguridad, sin embargo esta tecnología es efectiva, económica y de fácil acceso (Torres y col., 2005).

Otras ventajas de las altas presiones sobre el tratamiento térmico tradicional incluye la reducción de tiempos de proceso, daño mínimo del producto y retención de frescura, sabor, textura y color. No hay pérdidas de vitaminas, no existen cambios indeseables y la alteración en la funcionalidad de los alimentos es mínima (Cheftel, 1995). Además, es una tecnología limpia respecto al cuidado del medio ambiente y reduce el consumo energético respecto a los procesos térmicos tradicionales. Las presiones utilizadas en la industria alimentaria son del orden de los 300 a 700 MPa. Presiones superiores a 400 MPa / 58,000 psi a temperaturas de

refrigeración (+ 4°C a 10°C) o ambiente, inactivan la flora vegetativa (bacterias, virus, mohos, levaduras y parásitos) presentes en el producto, aumentando su vida útil y garantizando su seguridad(Hiperbaric, 2012).

El procesamiento de altas presiones es una alternativa no térmica para tratar frutas u hortalizas mínimamente procesadas o productos elaborados como purés, salsas, jugos y bebidas. Se ha encontrado una reducción decimal de patógenos incluyendo *Salmonellatyphimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Listeriamonocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Vibrioparaparaahaemolyticus* mediante el uso de HPP (An y col., 2000).

Los efectos más significativos de la aplicación de la HPP sobre los microorganismos se producen sobre la membrana y la pared celular afectando además a las enzimas encargadas del crecimiento y reproducción.

Según la propiedad o componente del microorganismo que se vea afectado, estas modificaciones pueden clasificarse en:

- Morfológicas: Distención o dilatación de las membranas y formación de poros, destrucción de la estructura externa de vacuolas, pérdida de movilidad de algunos microorganismos.
- Bioquímicas: Desnaturalización de proteínas y enzimas, con su consecuente inactivación.
- Genéticas: Alteraciones sobre la cadena de ADN y ARNy las enzimas las encargadas de catalizar la formación o reparación de dichas cadenas.

Es importante considerar que el alcance de la inactivación e inhibición del crecimiento de microorganismos depende de varios factores, tales como la magnitud y duración de la presión, la especie y tipo de microorganismo, temperatura del proceso y la matriz alimentaria a tratar. Por lo tanto es fundamental reconocer y analizar cada uno de los factores al momento de aplicar altas presiones para obtener resultados satisfactorios

La aplicación del tratamiento consta de las siguientes etapas:

1. Los alimentos envasados se introducen en contenedores cerrados y luego en las cámaras o cilindros de alta presión

2. A continuación se cierra el cilindro de alta presión, a la vez se abren las válvulas que la conectan al depósito de agua y comienzan a llenarse.
3. Una vez que el cilindro de alta presión está lleno de agua a presión normal, el sistema de bombas e intensificadores de presión continúan inyectando agua hacia su interior.
4. Una vez alcanzada la presión deseada esta se mantiene durante el tiempo necesario, generalmente de unos pocos minutos.
5. Una vez finalizado el tiempo indicado para el proceso, se produce una despresurización instantánea y como resultado el volumen del producto retorna exactamente a su estado inicial.

Estas etapas se pueden observar en la figura 6.

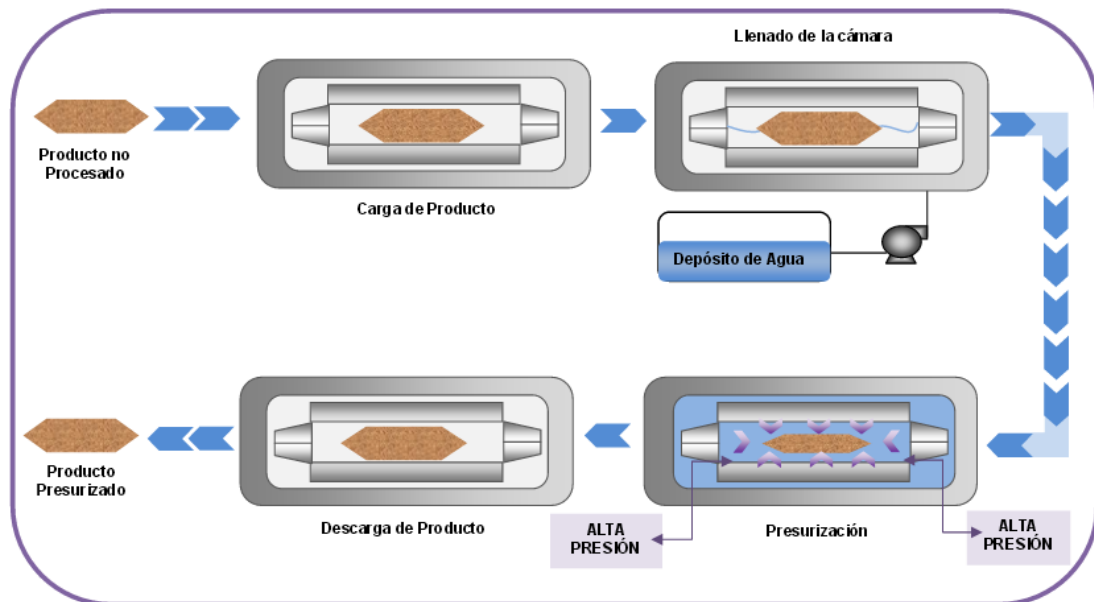


Figura 6. Etapas del proceso de presurización mediante HPP (Parzanese, 2011).

2 HIPÓTESIS

Los procesos de calentamiento óhmico y de altas presiones hidrostáticas son capaces de inactivar la carga microbiológica de una bebida de mango tipo smoothie manteniendo sus principales atributos sensoriales.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Evaluar la calidad y estabilidad microbiológica de un smoothie de mango a través del tiempo de almacenamiento, aplicando tratamientos de altas presiones hidrostáticas y calentamiento óhmico.

3.2 Objetivos específicos

- Desarrollar una bebida de mango tipo smoothie a partir de la pulpa de mango de las variedades Ataulfo, Manila y Haden.
- Evaluar cargas microbiológicas iniciales de las tres variedades de pulpa de mango.
- Evaluar las cargas microbiológicas de las bebidas tipo smoothie tratadas por: calentamiento convencional, HPP y calentamiento óhmico
- Evaluar la estabilidad microbiológica de la bebida tipo smoothie a los días: 0, 5, 10, 25 y 50 días de almacenamiento

4 METODOLOGÍA

4.1 Materiales

4.1.1 Material biológico

Se utilizaron frutos de mango de las variedades Haden, Ataulfo y Manila obtenidos del mercado de Abastos del estado de Querétaro en el periodo mayo- junio. Una vez en el laboratorio los frutos fueron empleados para realizar las bebidas o refrigerados a 3-5 °C hasta su empleo.

4.2 Métodos

Se realizaron análisis microbiológicos a cada una de las pulpas de las variedades utilizadas para el desarrollo de las formulaciones antes y después de la aplicación de los tratamientos mediante las siguientes técnicas:

4.2.1.1 Recuento de hongos y levaduras (NOM-111-SSA1-1994)

Para el recuento de hongos y levaduras se empleó la técnica de vaciado en placa, utilizando como medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA). Las cajas Petri se incubaron a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y el conteo de colonias se hizo después de 3, 4 y 5 días de incubación. Los conteos de cada muestra se realizaron por triplicado y se analizaron antes del someterse a su respectivo tratamiento, después a los 5, 10, 25 y 50 días después del tratamiento. Los resultados fueron expresados en Log UFC/mL

4.2.1.2 Recuento de bacterias mesófilas aerobias (NOM-092-SSA1-1994)

El recuento de bacterias mesófilas aerobias se hizo por la técnica de vaciado en placa, utilizando como medio de cultivo agar cuenta estándar (ACE). Las cajas se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 ± 2 h. Los conteos de cada muestra se realizaron por

triplicado y se analizaron antes del someterse a su respectivo tratamiento, después a los 5, 10, 25 y 50 días después del tratamiento. Los resultados fueron expresados en Log UFC/mL.

4.2.1.3 Recuento de organismos coliformes (NOM-113-SSA1-1994)

El recuento de coliformes totales se realizó mediante la técnica de vaciado en placa, utilizando el agar bilis rojo violeta (RVBA) e incubación a 35°C, durante 24 ± 2 horas. Los conteos de cada muestra se realizaron por triplicado y se analizaron antes del someterse a su respectivo tratamiento, después a los 5, 10, 25 y 50 días después del tratamiento. Los resultados fueron expresados en Log UFC/mL.

4.3 Análisis sensorial

Se seleccionaron aleatoriamente 20 personas sin entrenamiento con un rango de edad entre 18 y 25 años para evaluar la preferencia de las formulaciones de la bebida de mango tipo smoothie. Los panelistas seleccionaron la mezcla de su preferencia utilizando el método “test ranking for preference” (Anexo 1) durante la Etapa 2 del estudio (Manson y Nottingham, 2002).

4.4 Diseño experimental

4.4. 1 Obtención y manejo de las pulpas

Se utilizó mango de las variedades Ataulfo, Manila y Haden para la elaboración de la bebida tipo smoothie, el manejo de esto de manera general se muestra en la Figura 7. Se emplearon frutos maduros, que no presentaron lesiones o alteraciones ni enmohecimiento aparente. La fruta fue lavada y tratada por inmersión en una solución sanitizante de cloro 20 ppm por un tiempo de 15 min para evitar contaminación proveniente de la superficie del mango. Posteriormente se eliminó la cáscara y el hueso mediante un despulpador industrial Polinox.

Posteriormente se realizó un refinado de pulpa para eliminar la fibra más gruesa y obtener una pulpa más fina. Se calculó el porcentaje de rendimiento para cada variedad y se procedió a la elaboración de las formulaciones de la bebida.

4.4.2 Formulación y evaluación sensorial

Se evaluaron diferentes porcentajes de pulpa (35% y 45% de pulpa total) en la bebida para determinar la cantidad necesaria de pulpa de cada variedad de mango según se describe en el Cuadro 3 y 4. Una vez elaboradas las formulaciones para la bebida tipo smoothie y diluido con agua (65% y 55%, en cuadro 3 y 4 respectivamente), se procedió a estandarizar el contenido de sólidos solubles totales mediante la adición de sacarosa (13 °Bx) y a un ajuste de pH adicionando ácido cítrico (pH 3.5-3.8). En esta parte también se le adicionó carboximetilcelulosa como estabilizante, a una concentración entre 0.075, en este sentido, en néctares y algunas bebidas, la adición de un estabilizador ayuda a evitar la separación de los sólidos y/o darle cuerpo a la bebida, entre ellos, uno de los más utilizados es la carboximetilcelulosa, donde la dosis puede alcanzar hasta un máximo de 0.5% (Ficha técnica néctares, 1997)

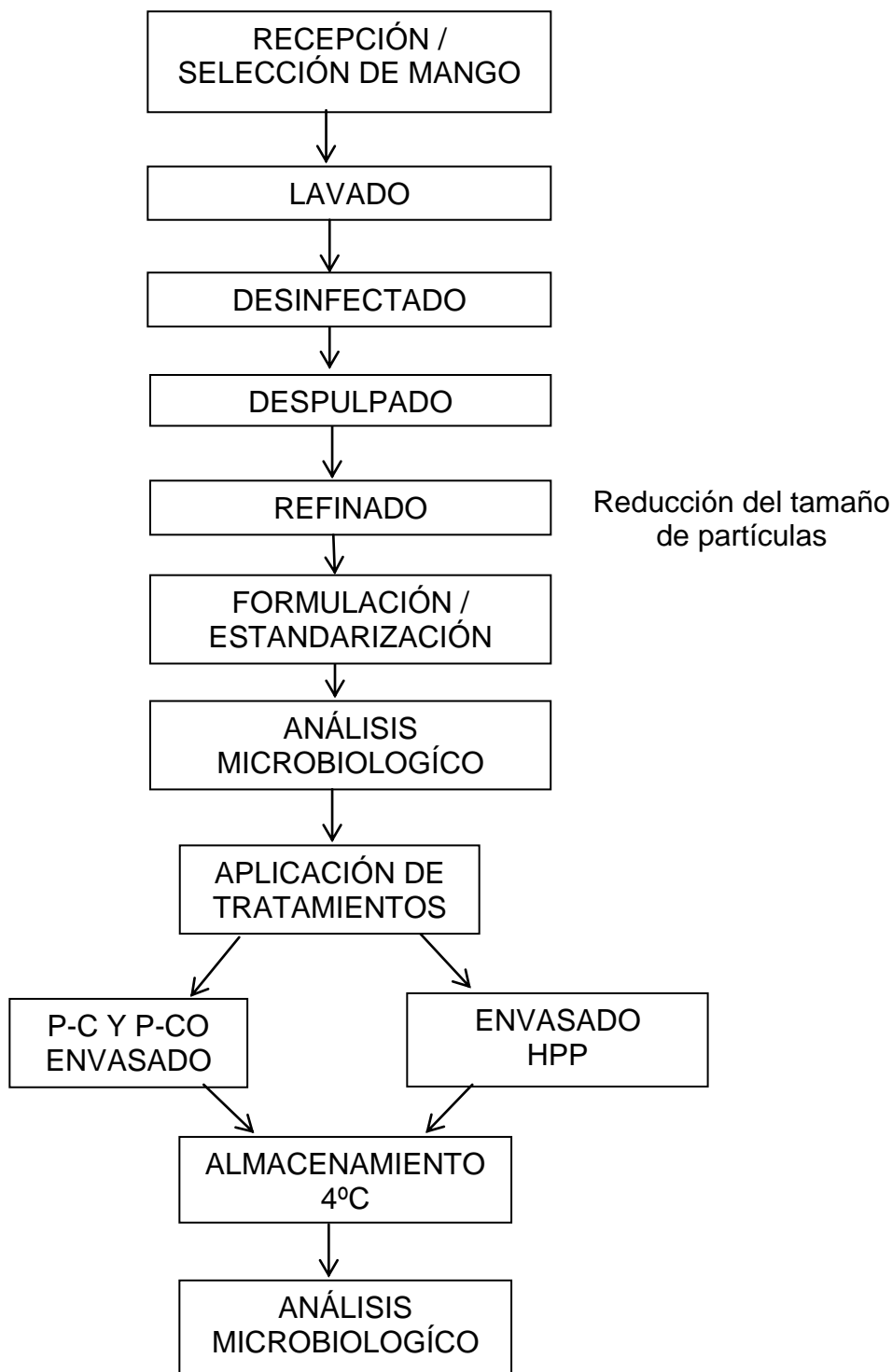


Figura 7. Procesamiento de la bebida tipo smoothie.

Cuadro 3. Diseño de mezclas con base 35% de pulpa.

Ataulfo % en g	Manila % en g	Haden % en g	Total de bebida (1000 g)	
			35% pulpa	65% agua
0.45(157.5g)	0.45(157.5g)	0.1(35g)	350	650
0.1(35g)	0.45(157.5g)	0.45(157.5g)	350	650
0.1(35g)	0.8(280g)	0.1(35g)	350	650
0.45(157.5g)	0.1(35g)	0.45(157.5g)	350	650
0.1(35g)	0.1(35g)	0.8(280g)	350	650
0.1(35g)	0.8(280g)	0.1(35g)	350	650
0.1(35g)	0.45(157.5g)	0.45(157.5g)	350	650
0.33(115.5g)	0.33(115.5g)	0.33(115.5g)	350	650
0.45(157.5g)	0.45(157.5g)	0.1(35g)	350	650
0.8(280g)	0.1(35g)	0.1(35g)	350	650
0.8(280g)	0.1(35g)	0.1(35g)	350	650
0.1(35g)	0.1(35g)	0.8(280g)	350	650

Cuadro 4. Diseño de mezclas con base 45% de pulpa.

Ataulfo % en g	Manila % en g	Haden % en g	Total de bebida (1000 g)	
			45% pulpa	55% agua
0.45(202.5g)	0.45(202.5g)	0.1(45g)	450	550
0.1(45g)	0.45(202.5g)	0.45(202.5g)	450	550
0.1(45g)	0.8(360g)	0.1(45g)	450	550
0.45(202.5g)	0.1(45g)	0.45(202.5g)	450	550
0.1(45g)	0.1(45g)	0.8(360g)	450	550
0.1(45g)	0.8(360g)	0.1(45g)	450	550
0.1(45g)	0.45(202.5g)	0.45(202.5g)	450	550
0.33(148.5g)	0.33(148.5g)	0.33(148.5g)	450	550
0.45(202.5g)	0.45(202.5g)	0.1(45g)	450	550
0.8(360g)	0.1(45g)	0.1(45g)	450	550
0.8(360g)	0.1(45g)	0.1(45g)	450	550
0.1(45g)	0.1(45g)	0.8(360g)	450	550

Teniendo las mezclas, se llevó a cabo una evaluación sensorial y se eligieron tres de las mezclas con mejor aceptación sensorial por el panel de evaluador. Posteriormente se llevó la evaluación microbiológica descrita en el apartado 3.2.

4.4.3 Aplicación de tratamientos a la bebida tipo smoothie

Cada una de las bebidas resultantes se dividió en cuatro lotes:

- a. El primer lote no fue sometido a tratamiento tomándose como control. Se almacenó en envases asépticos durante el periodo de conservación según el diseño de muestreo. De estas muestras, se evaluó la presencia microbiana analizando cómo se describe en 4.2.
- b. El segundo lote fue sometido a un tratamiento térmico de pasteurización suave convencional a 72°C por 15 seg. donde se utilizó una marmita marca Polinox con una capacidad de 50 L. Posteriormente la bebida tratada se distribuyó en envases, se enfrió y se conservó hasta su análisis microbiológico.
- c. El tercer lote se sometió a pasteurización mediante calentamiento óhmico como se describe en la figura 4. Para la aplicación de este tratamiento fue diseñada una celda óhmica a nivel laboratorio aplicando un campo eléctrico de 12V/cm (donde el máximo voltaje empleado fue de 120 y la distancia d entre electrodos fue de 10 cm) y 60Hz. Se trabajó en condiciones asépticas usando una campana de extracción y la sanitización previa del material y equipo. La bebida fue introducida al equipo en lotes de 500 mL hasta alcanzar una temperatura de 72°C durante 15 seg. Una vez tratadas las muestras de la bebida tipo smoothie se empacaron al vacío y se almacenaron hasta su análisis.
- d. El cuarto lote fue sometido al tratamiento de HPP descrito en la Figura 4. La aplicación del tratamiento de altas presiones se realizó en una planta procesadora de alimentos llamada “Verfruco”, ubicada en Uruapan, Michoacán. El equipo utilizado fue un Hyperbaric, el cual es capaz de operar a una presión de trabajo de 6000 MPa/87000 psi y en un rango de

temperatura de entre 5° y 30°(41°F a 86°F). Las condiciones que se manejaron para los tratamientos de las formulaciones de la bebida tipo smoothie fueron en base a los parámetros establecidos en el manual de procedimientos de la planta procesadora, los cuales fueron: 4500Bar/15s, 5000 Bar /90s y 6000 Bar /80s a una temperatura de procesamiento de 15 ° C.

4.4.4 Diseño de muestreo

Para evaluar la evolución de los diferentes indicadores microbiológicos en la bebida tipo smoothie y determinar la posible vida comercial del producto envasado en bolsas plásticas, las diferentes muestras descritas en el apartado anterior se mantuvieron en refrigeración, a una temperatura de 4-6 °C registrándose características visuales de aspecto como bolsas infladas o separación de fases del producto. Los análisis microbiológicos se realizaron tomando una muestra de cada lote, contemplando controles y muestras tratadas a los 0, 5, 10, 25 y 50 días de almacenamiento. Cada muestra se analizó por triplicado en cada uno de los parámetros microbiológicos. Las bolsas examinadas fueron homogenizadas previamente a la toma de muestra, haciéndola representativa del lote proveniente. El material que se utilizó para analizar fue esterilizado para evitar contaminación. Durante los muestreos se tuvo en cuenta que algunos lotes por apariencia física, el tamaño de la población era excesivamente alta e improbable determinar con precisión la cuenta microbiana, al igual que aquellos que no mostraron cambios visibles de la bebida envasada.

4.4.5 Análisis de resultado

Los resultados experimentales se expresaron como el valor medio de los datos obtenidos (tres mediciones por indicador microbiológico). Se evaluó el comportamiento microbiológico para cada tratamiento a través del tiempo.

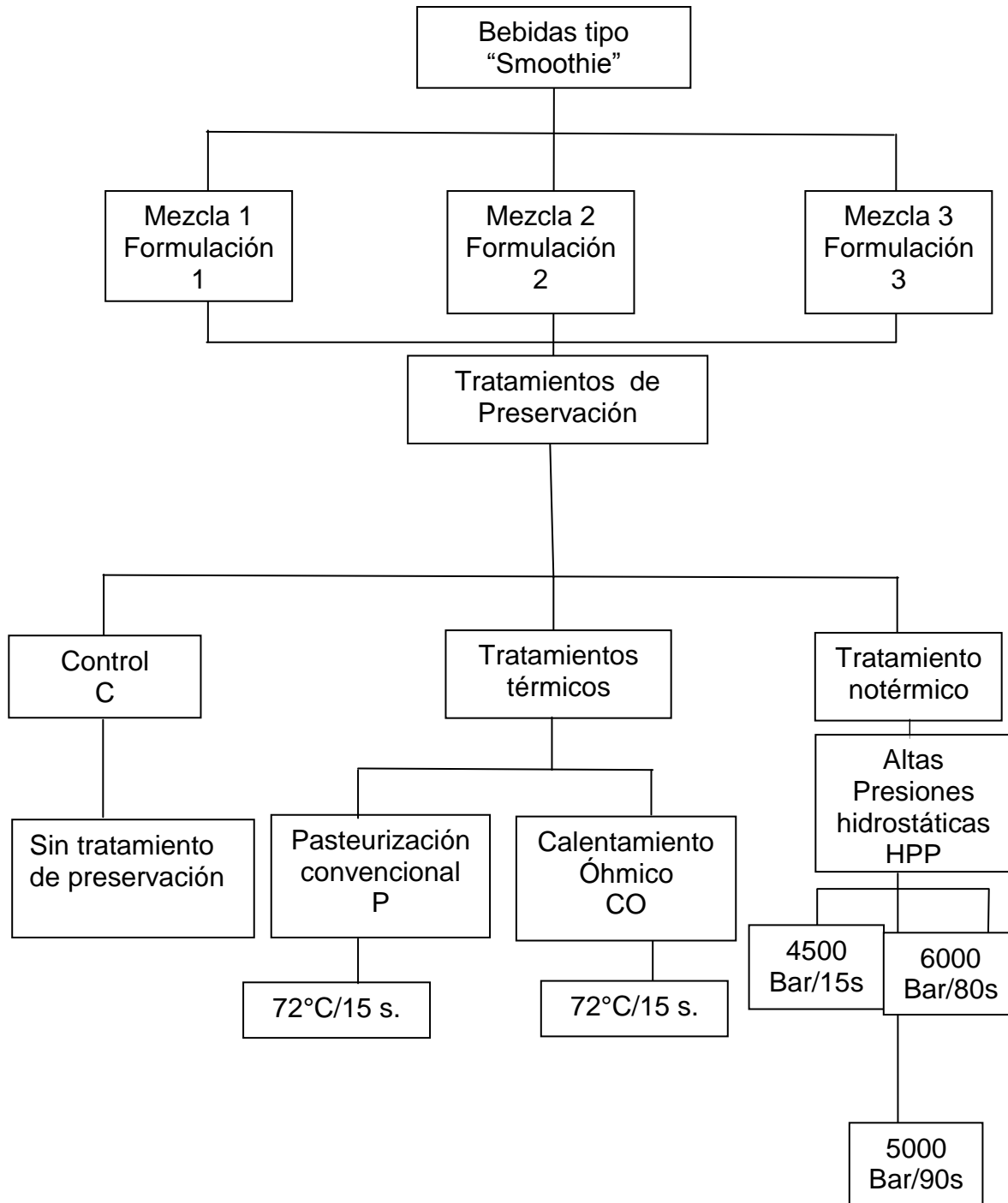


Figura 8. Diseño experimental de la bebida tipo smoothie.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.2 Caracterización de pulpas de mango y bebidas comerciales

Para desarrollar de la bebida tipo smoothie con mezclas de las tres variedades de mango (Haden, Ataulfo y Manila) aprovechando las características de cada variedad, primero se llevó a cabo una caracterización fisicoquímica y una evaluación microbiológica de cada una de las variedades de fruta, Así mismo evaluaron también, dos bebidas comerciales (Hola y Farms), para conocer su composición y características sensoriales, y tomarlos como punto de partida para las posteriores formulaciones.

Características sensoriales de pulpas de mango:

- Ataulfo: Sabor dulce y cremoso, con textura suave y firme, sin fibra; de color amarillo vibrante.
- Manila: Dulce sin fibra, de color anaranjado a amarillo a rosa.
- Haden: Sabor dulce y afrutado, de textura firme y jugosa con fibra; de color verde oscuro a mediano.

Características sensoriales de bebidas comerciales:

- Hola: Mostró un color amarillo, característico de la fruta natural y madura; olor a mango recién cortado; de consistencia más espesa que un néctar y de sabor dulce ácido.
- Farms: Presentó un color amarillo menos intenso comparado con la marca Hola, esto puede atribuirse a que como ingrediente esta bebida incluye otras frutas: manzana, plátano y naranja; en cuanto a consistencia al igual que la bebida Hola se percibió más densa que un néctar ; de sabor más dulce que la marca Farms y de olor frutal.

5.3 Características fisicoquímicas de pulpas y bebidas comerciales

Los valores de pH de las muestras comerciales y de las tres variedades como característica de importancia a nivel microbiológico fue de un rango de entre 3.21

y 4.45 que son valores ubicados dentro de parámetros normales. Se sabe que en alimentos de baja acidez $\text{pH} > 4.5$, se destruyen microorganismos patógenos, y a pH alrededor de 4.5 los microorganismos deterioradores o la inactivación enzimática es usualmente más importante (Rahman, 2007), por lo que el monitoreo de esta característica se siguió de forma paralela, así que la recomendación de adición de ácido cítrico antes del tratamiento térmico para bajar la acidez hasta pH 3.5- cumplió tanto como parámetro microbiológico como fisicoquímico y sensorial en el desarrollo de la bebida.

El contenido de sólidos solubles fue de entre 11 y 13 °Bx para las tres variedades de mango y las muestras de las bebidas comerciales mostraron el valor más bajo para la marca Hola y el más alto para la marca Farms como se puede apreciar en el cuadro 5. Sin embargo esto se podría explicar por la formulación de la marca Farms, la cual está compuesta de otros ingredientes tales como: jugo de manzana, jugo de naranja, puré de plátano, jugo de piña y jugo de limón como ingredientes, lo que explica el valor de 17°Bx.

Cuadro 5. Caracterización fisicoquímica de pH y sólidos solubles de las tres variedades de mango empleadas y dos bebidas comerciales.

		pH	°Brix
Mezcla comercial	Farms B.	3.645±0.007	17.2±0.000
	Hola	3.350±0.000	10.08±0.007
Variedad	Manila	3.210±0.000	13.7±0.141
	Haden	4.455±0.007	11.7±0.141
	Ataulfo	3.035±0.021	13.75±0.071

5.4 Evaluación microbiológica de las pulpas y bebidas comerciales

Los resultados se muestran en el cuadro 6. La presencia de bacterias mesófilas aerobias no fue detectada en pulpa de las variedades Manila y Haden con la técnica empleada; únicamente se encontró crecimiento de BMA en la variedad Ataulfo, con un promedio de 110 UFC/g. En cuanto a la presencia de coliformes

totales, hongos y levaduras se reportó como no detectable tanto en las pulpas de mango como en las bebidas comerciales, convirtiéndose esto en un indicativo de que al menos en la obtención de la pulpa de la fruta, se cumplió con buenas prácticas de higiene. Por lo tanto, todas las muestras analizadas cumplieron con los requisitos sanitarios establecidos para frutas destinadas al consumo humano. En la figura 9 se muestra el área de trabajo en campana de flujo, donde se llevó a cabo la preparación de las muestras.



Figura 9. Campana de flujo laminar para análisis microbiológicos

Cuadro 6. Evaluación microbiológica en pulpas de mango y bebidas comerciales.

		BMA	HYL	CT
Mezcla comercial	Farms B.	ND	ND	ND
	Hola	ND	ND	ND
Variedad	Manila	ND	ND	ND
	Haden	ND	ND	ND
	Ataulfo	110 UFC/mL	ND	ND

5.5 Desarrollo de la bebida tipo smoothie

5.5.1 Extracción de las pulpas de mango

Para obtener la pulpa de cada una de las variedades de mango con un tamaño de partícula estándar se utilizaron dos cilindros de diferente espesor de tamiz, uno de poro más cerrado que el otro, con el objetivo de separar la mayor cantidad de fibra

de la fruta, razón por la que el porcentaje de rendimiento fue variable para cada una de las variedades de mango. Los porcentajes de rendimiento fueron de 60% para la variedad Ataulfo, 56 % para la variedad manila y 44% para la variedad Haden.

5.5.2 Formulación de la bebida tipo smoothie

Parte de los requerimientos de calidad fue desarrollar una bebida con características naturales, donde el ingrediente principal fuese pulpa de mango de las diferentes variedades, sin agregar aditivos o conservadores, por lo cual se realizaron pruebas preliminares con diferentes porcentajes de pulpa total (40, 50, 60, 70 y 80 %) y prosiguió con una evaluación sensorial a nivel laboratorio, de tal forma que se acotaran las posibles combinaciones del contenido de pulpa. Finalmente, por preferencia de los panelistas, se seleccionaron dos concentraciones 35% y 45 % de pulpa llevándose hasta un volumen 100% con la adición de agua y valores estandarizados de la selección final. Cabe mencionar que otro punto que se consideró para seleccionar el porcentaje de pulpa con el cuál se trabajaría fue la consistencia de la bebida, ya que las pulpas recién extraídas de la fruta, cuentan con una viscosidad mayor a la de la bebida tipo smoothie, una característica que en general está en función del tipo de fruta, es decir; de distintas frutas se producen distintos productos (sin mayor esfuerzo que el triturado o molido del fruto); por ejemplo, se sabe que las frutas que producen jugos son: uva, naranja, manzana y pomelo mientras que las frutas que producen purés son: mango, plátano, durazno, guayaba y pera (Keturakis, 2009).

Las formulaciones seleccionadas se realizaron de acuerdo al diseño de mezclas que se muestra en el cuadro 3 y cuadro 4. Se procedió a estandarizar el contenido de azúcares solubles y acidez total.

Para acotar el número de formulaciones posibles para la bebida tipo smoothie se realizó una segunda evaluación sensorial, seleccionando aleatoriamente 20 personas sin entrenamiento (entre 18 y 25 años de edad) donde se les pidió que

ordenaran las mezclas de acuerdo a su preferencia. El test utilizado fue “Ranking for preference”(Anexo 1) (Manson y Nottingham, 2002).

Las tres formulaciones con mejor aceptación sensorial se muestran en el cuadro 7 donde, aquí es importante mencionar que la mayor parte de los panelistas mostraron preferencia por las mezclas con mayor contenido de mango variedad Ataulfo.

Cuadro 7. Formulaciones seleccionadas para el procesamiento.

Formulación	% Pulpa Total	Variedad		
		Ataulfo	Manila	Haden
1	45	0.8	0.1	0.1
2	35	0.8	0.1	0.1
3	45	0.33	0.33	0.33

5.6 Preparación de mezclas para la aplicación de tratamientos

Una vez que se definieron las tres mezclas finales, se llevó a cabo otra producción para la aplicación de los posteriores tratamientos a evaluar. Se prepararon 28 kg de bebida para cada una de las formulaciones. Las cantidades exactas de pulpa y de agua se muestran en Anexos. De igual manera se ajustaron las formulaciones a 13 °Brix y a un pH de 3.5-3.8. El porcentaje de sólidos solubles se ajustó con la adición de sacarosa y el pH con la adición de ácido cítrico solo en caso de ser necesario estos valores se muestran en Anexos.

Con el objetivo de obtener una consistencia característica y evitar la separación de fases en bebida tipo smoothie se utilizó carboximetil celulosa de sodio (CMC) como estabilizante. Y los porcentajes que se manejaron se muestran también en el apartado de Anexos.

Una vez obtenidas las tres formulaciones estandarizadas, se separaron y se destinaron de acuerdo al procedimiento de cada tratamiento.

Para tener un punto de comparación respecto a los tratamientos aplicados, se analizaron muestras sin tratamientos (muestras control) de cada mezcla correspondiente a las tres formulaciones finales; éstas fueron distribuidas en

bolsas estériles con un volumen de 500 mL(Figura 10) aproximadamente y almacenadas a temperatura de refrigeración al igual que las muestras tratadas.



Figura 10. Bolsas contenedoras de la bebida preparada.

5.7 Aplicación de tratamientos

5.7.1 Pasteurización convencional

Las formulaciones destinadas al tratamiento térmico convencional se sometieron a una temperatura de 72 °C por 15 s, condiciones que han sido empleadas en la aplicación de pasteurización suave (Walking, 2010) en bebidas frutales tipo smoothie, obteniendo diversos resultados. Posterior al tratamiento térmico, las muestras envasadas fueron sometidas a choque térmico en agua helada y almacenadas en refrigeración a 4 °C.

El efecto de la pasteurización convencional sobre la carga microbiológica en las formulaciones de la bebida tipo smoothie se observa en el cuadro 8, donde se muestran los valores promedio de cada una de las tres mezclas en los diferentes tiempos de monitoreo. Los resultados se expresan en Log de UFC/mL para BMA y

hongos y levaduras y en UFC/mL para CT.No se detectaron microorganismos sobrevivientes en las mezclas de cada una de las formulaciones en general después de los tratamientos.

La formulación 1 con una carga inicial de 3.197 Log UFC/mL de BMA, se redujo por completo después de la pasteurización convencional, al día 5 presentó una cuenta de 1.296 Log UFC/mL de BMA. En la misma formulación del día 10 hasta el día 50, se incrementó la cuenta de BMA hasta 4.382 Log UFC/mL. Se puede observar que durante el tiempo de almacenamiento la formulación 1 mostró un crecimiento gradual. El tratamiento térmico también redujo por completo la población de hongos y levaduras de una cuenta inicial de 3.099 Log UFC/mL respecto a la muestra sin tratamiento, sin embargo, al día 5 presentó una cuenta <10 UFC/mL, la cual se mantuvo hasta el día 10, pero para el día 25 mostraron un incremento cercano a 2 Log UFC/mL y posteriormente se observó una disminución en el día 50 con un valor de 1.691 Log UFC/mL de hongos y levaduras. Los coliformes totales, no fueron detectados en las mezclas sin tratamiento ni en las muestras sometidas a pasteurización convencional.

La formulación 2, con una carga inicial de 2.915 Log UFC/mL de BMA, se redujo por completo bajo pasteurización convencional. Al día 5, presentó una cuenta <10 UFC/mL e incremento paulatinamente hasta el día 50 con una cuenta de 3.206 Log UFC/mL.

Cuadro 8. Recuentos microbianos de las mezclas pasteurizadas.

Formulación	Día	BMA [\log_{10} UFC/MI]	HYL [\log_{10} UFC/MI]	CT[UFC/MI]
1-C	0	3.197 ± 0.107	3.099 ± 0.154	ND
1	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
1	5	1.296 ± 0.178	0.883 ± 0.244	ND
1	10	2.244 ± 0.377	0.303 ± 0.525	ND
1	25	3.162 ± 0.041	2.076 ± 0.097	ND
1	50	4.382 ± 0.021	1.691 ± 0.020	ND
2-C	0	2.915 ± 0.114	2.984 ± 0.061	<3UFC/MI
2	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
2	5	0.447 ± 0.144	0.173 ± 0.300	ND
2	10	1.496 ± 0.291	0.000 ± 0.000	ND
2	25	2.972 ± 0.064	0.100 ± 0.100	ND
2	50	3.206 ± 0.097	2.885 ± 0.042	ND
3-C	0	3.307 ± 0.017	3.242 ± 0.068	18 UFC/mL
3	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
3	5	0.259 ± 0.125	0.000 ± 0.000	ND
3	10	1.414 ± 0.169	0.852 ± 0.000	ND
3	25	2.738 ± 0.171	0.614 ± 0.485	ND
3	50	2.446 ± 0.302	NC	ND

En la figura 11 se puede apreciar que el crecimiento microbiológico de la muestra sin tratamiento parece no tener una fase lag definida aún en condiciones de refrigeración, lo cual podría relacionarse con la composición de la formulación 2, ya que esta tenía un menor contenido de pulpa y mayor porcentaje de agua, una condición que podría favorecer la sobrevivencia y el crecimiento de la microflora presente respecto a las formulaciones con mayor contenido de fruta. El crecimiento de hongos y levaduras antes de procesar la mezcla fue de 2.984 Log UFC/mL, sin embargo, se redujo totalmente una vez pasteurizadas las mezclas, mostrando al día 5 una cuenta <10 UFC/mL, al día 10 fue no detectable, en el día 25 tuvo una cuenta <10 UFC/mL y para el monitoreo del día 50 se vio un mayor incremento del crecimiento de hongos y levaduras. En esta formulación se registró el crecimiento de coliformes totales en las muestras sin tratamiento o muestras control, con una cuenta <3 UFC/mL. El hallazgo de coliformes totales es un indicador de operaciones sanitarias objetables y en ciertos casos su presencia

no guarda relación con las condiciones sanitarias bajo las cuales un alimento ha sido elaborado.

Para la formulación 3, el promedio de las muestras sin tratamiento fue de 3.307 Log UFC/mL de BMA, el cual se redujo por completo con la aplicación del tratamiento térmico. Al día 10 y 25, la cuenta de BMA fue incrementando lentamente, y posteriormente disminuyó en el día 50 con una cuenta de 2.446 Log UFC/mL (figura 11). El crecimiento de hongos y levaduras fue no detectable en las muestras post-tratamiento ni en el monitoreo del día 5 hasta el día 10 y 25 con una cuenta < 10 UFC/mL, sin embargo, al día 50 de evaluación hubo inflado de las bolsas como signo de deterioro, lo cual provocó la ruptura y liberación del gas producido (Figura 12). Algunas autores describen los efectos que pueden provocar la presencia de levaduras en los alimentos: la producción de turbidez, espuma, películas, gasificación, cambios de color, malos olores, mucosidad o formación de sedimento en alimentos como jugos de fruta donde el contenido de azúcares favorece el crecimiento de las levaduras; sin embargo, los efectos de éstas en los alimentos son muy diversos, lo que guarda relación con su composición y las especies o cepas de levaduras; existen levaduras que poseen un carácter extremadamente psicrótrofo, que generalmente son incapaces de prosperar a 20 °C. En el otro límite, la máxima no suele alcanzar 50 °C (Fernández, 2000). La cuenta de coliformes para la formulación 3 fue de 18 UFC/mL en las muestras sin tratar. De acuerdo a la literatura, el hallazgo de coliformes está condicionado al nivel de contaminación original y al tiempo transcurrido hasta la ejecución del análisis, por lo que de acuerdo a los resultados obtenidos la carga inicial fue baja y trascurrido el tiempo no se observó desarrollo de coliformes, presuntivamente por el pH de la bebida tipo smoothie así como temperatura de almacenamiento que estuvieron al límite o por debajo para su desarrollo. Normalmente un amplio espectro de microorganismos se desarrollan con un pH de entre 4.0 y 8.5, y temperaturas de 4 y 46°C (Fernández, 2000). Así mismo pudo haber influencia de la competencia microbiológica y la inhibición por hongos y levaduras.

En la figura 11 y figura 12, se puede observar el comportamiento de BMA y hongos y levaduras, respectivamente, donde se puede comparar a cada una de las

formulaciones con su muestra sin tratamiento. En ambas figuras, se muestra el Log UFC/ mL de cada mezcla en función de los días de almacenamiento.

En el tiempo cero las tres mezclas redujeron a cuentas no detectables la carga inicial de microorganismos y posteriormente, mostraron crecimiento.

En general, las muestras tratadas por pasteurización convencional, a los 25 días sobrepasaron el límite de BMA establecidos por la NOM-130-SSA1-1995, el cual es de 100 UFC/ml para jugos y néctares pasteurizados, comportamiento que pudo deberse a limitaciones del tratamiento al tratarse de una pasteurización suave y no del tipo convencional que se establece como recomendación una temperatura de entre 85 y 93 °C arriba de 16 min de tiempo de tratamiento (Vázquez-Caicedo, 2006), o condiciones post-tratamiento ya que al ser un proceso por lotes sin un sistema certificado de llenado aséptico, con mayor susceptibilidad a recontaminación, es posible que no se haya logrado la temperatura letal durante el tratamiento que se le dio a las mezclas de la bebida.

Para las 3 formulaciones pasteurizadas, los niveles de hongos y levaduras se redujeron una vez que se aplicó el tratamiento térmico. Las cuentas fueron bajas en los primeros días de monitoreo, sin embargo al día 25 la formulación 1 ya superaba las 25 UFC/mL permitidas por la NOM-130-SSA1-1995 y la formulación 2 los alcanzó hasta el día 50. La formulación 3 mostró niveles siempre por debajo, sin embargo en el día 50 la cuenta superaba la norma en varias proporciones.

El tiempo de conservación de las formulaciones fue menor, comparado con un estudio en smoothies pasteurizados a 72°C por 15 s, donde se observó que la carga microbiológica de la bebida disminuyó significativamente de 5.3 a 1.8 Log UFC/mL una vez que se aplicó el tratamiento y se mantuvo con una carga aceptable de 2.5 Log UFC/mL hasta los 14 días. Sin embargo, a los 21 días, mostró una carga de 3.3 Log UFC/mL, la cual fue superior a la permitida por la unión europea en jugos de fruta (EU, 2005) que considera hasta 10^3 Log de UFC/mL de BMA (Walking, 2010). Los resultados indican que una pasteurización convencional a temperaturas suaves no puede ser recomendable como tratamiento en este tipo de producto.

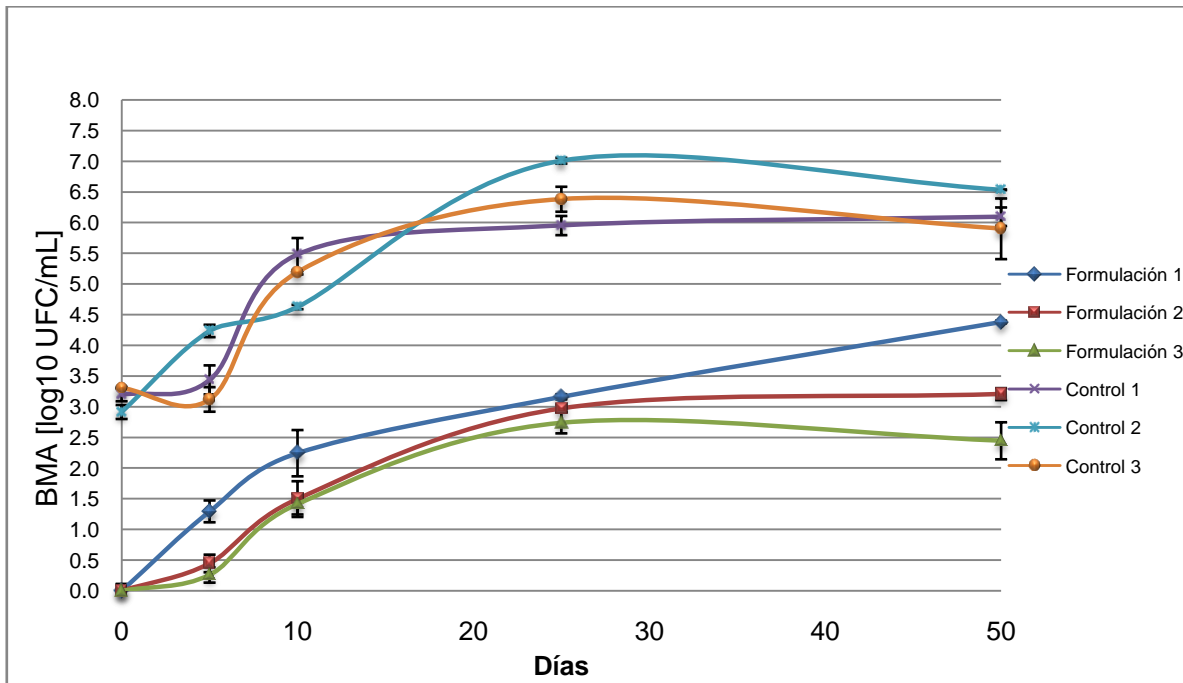


Figura 11. Crecimiento de BMA en las mezclas pasteurizadas.

En frutas se pueden encontrar cuentas altas de estos microorganismos (10^3 - 10^5 UFC/mL), especialmente cuando no se aplican correctamente buenas prácticas de manufactura (Doores y col., 1981) (Tribst,2009). Aunque, estos hongos se pueden destruir fácilmente bajo condiciones de pasteurización (Pacheco-Massaguer 2005). Datos obtenidos por Tournas y col (2006) en una evaluación de 65 jugos pasteurizados muestran que 22% se encontraron contaminados por hongos y levaduras, con cuentas abarcando rangos entre <1 a 6.83 Log UFC/mL. Estos resultados indican que el peligro existente y se podrían presentar riesgos en la inocuidad o conservación del producto

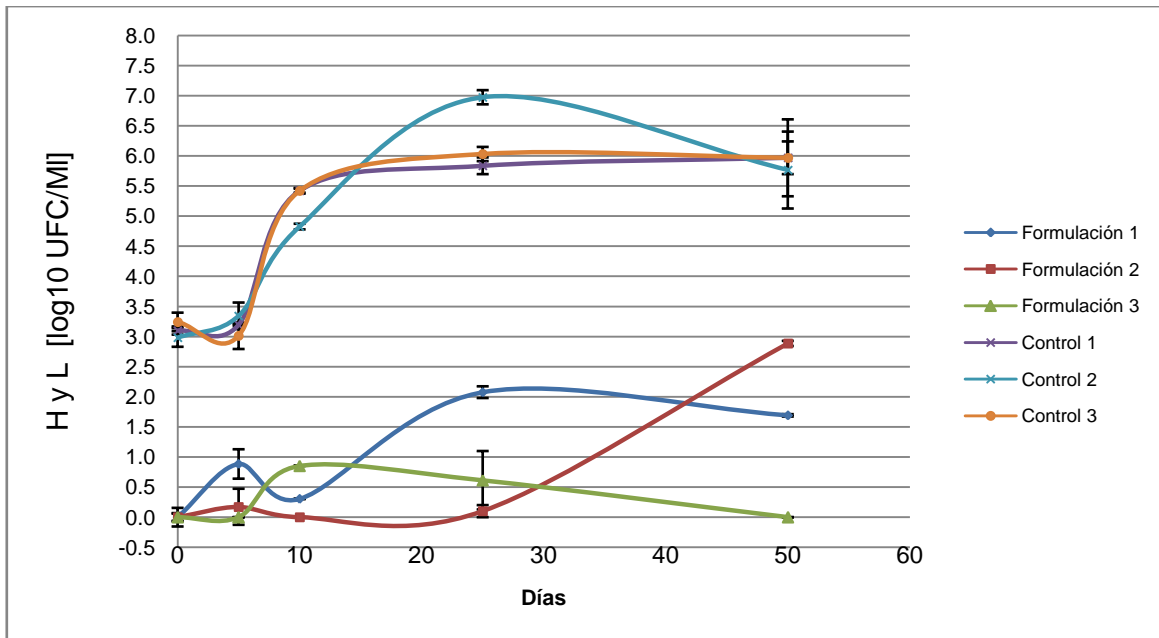


Figura 12. Crecimiento de hongos y levaduras de las muestras pasteurizadas.

5.7.2 Altas presiones hidrostáticas

La aplicación del tratamiento de altas presiones se realizó en la planta procesadora “Verfruco”, ubicada en Uruapan, Michoacán se utilizó un equipo Hyperbaric (Figura 13), el cual es capaz de operar a una presión de trabajo de 6000MPa/87.000 psi y en un rango de temperatura de entre 5°C y 30°C(41°F a 86°F). Las condiciones que se manejaron para los tratamientos de la formulaciones de la bebida tipo smoothie fueron en base a los parámetros establecidos en el manual de procedimientos de la planta procesadora, los cuales fueron: 4500Bar/15s, 5000Bar /90s y 6000Bar/80s a una temperatura de procesamiento de 15 ° C.

El efecto de los tratamientos de HPP sobre la carga microbiológica de las formulaciones de los smoothies se comparó con las mezclas sin tratamiento.

La aplicación de altas presiones hidrostáticas muestra un efecto importante contra microorganismos, con ausencia total de microorganismos sobrevivientes en las bebidas después de la aplicación del tratamiento, sin embargo, en los días posteriores se observó un ligero incremento bacterias y levaduras en algunas de

las formulaciones. La presencia de hongos y coliformes fue nula en todas las muestras analizadas.

Cuadro 9. Recuentos microbianos de las mezclas sometidas a HPP.

Formulación	Presión	Día	BMA [\log_{10} UFC/MI]	HYL [\log_{10} UFC/MI]	CT[UFC/MI]
1-C	---	0	3.197 ± 0.107	3.099 ± 0.154	ND
1	4500/15	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
1	4500/15	5	0.418 ± 0.102	0.000 ± 0.000	ND
1	4500/15	10	0.748 ± 0.185	0.000 ± 0.000	ND
1	4500/15	25	0.572 ± 0.188	0.222 ± 0.000	ND
1	4500/90	50	0.704 ± 0.142	0.000 ± 0.000	ND
2-C	---	0	2.915 ± 0.114	2.984 ± 0.061	<3UFC/mL
2	5000/90	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
2	5000/90	5	0.931 ± 0.171	0.000 ± 0.000	ND
2	5000/90	10	1.125 ± 0.090	0.328 ± 0.000	ND
2	5000/90	25	0.793 ± 0.114	0.000 ± 0.000	ND
2	6000/80	50	0.237 ± 0.135	0.000 ± 0.000	ND
3-C	---	0	3.307 ± 0.017	3.242 ± 0.068	18 UFC/mL
3	6000/80	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
3	6000/80	5	1.650 ± 0.019	0.000 ± 0.000	ND
3	6000/80	10	0.834 ± 0.230	0.000 ± 0.000	ND
3	6000/80	25	0.662 ± 0.139	0.033 ± 0.058	ND
3	6000/80	50	1.080 ± 0.071	0.000 ± 0.000	ND

La formulación 1, con una carga inicial de 3.197 Log UFC/mL de BMA, descendió por completo al someterse a 4500Bar/15s de presión (Figura 14). Durante los siguientes días de medición las cuentas se mantuvieron por debajo de 10 UFC/ml, comportamiento semejante para H y L, donde en efecto, al aplicar el tratamiento se inactivó la cuenta por completo partiendo de una carga de 3.099 Log UFC/mL y sólo en el día 25 se registró un ligero crecimiento de levaduras <10UFC/mL.

En la formulación 2, se tuvo una disminución completa de más de 2 Log en la cuenta de BMA, al día 5 presentó crecimiento con una cuenta de 0.931Log UFC/mL, la cual incrementó a 1.125Log/UFC/mL en el día 10 y se fue reduciendo

en los siguientes días con cuentas menores a 10 UFC/mL. Comportamiento semejante se observó para H y L, donde al aplicar el tratamiento se inactivó la cuenta por completo partiendo de una carga inicial de 2.984 Log UFC/mL, creciendo sólo al día 10, con una cuenta menor a 10 UFC/mL. Estos valores se pueden observar a detalle en cuadro 9 con su respectiva desviación estándar.

En la formulación 3, al igual que las formulaciones anteriores se disminuyó la carga bacteriana, de hongos y levaduras una vez que se sometieron al tratamiento de HPP, sin embargo, en los días siguientes se presenció crecimiento ya que al día 5 se tuvo 1.650 Log UFC/mL de BMA y disminuyó a 0.834 Log UFC/mL al día 10 continuando con una cuenta baja de 0.662 Log UFC/mL en el día 25, e incrementó al día 50 con 1.080 Log UFC/mL. En cuanto a hongos y levaduras se observó únicamente crecimiento en el día 25 con una carga <10 UFC/mL.

Las cuentas obtenidas de las tres formulaciones en general desde la aplicación de los tratamientos hasta el último muestreo, se encontraron por debajo del límite permitido tanto por la NOM-130-SSA1-1995, el cual es de 100 UFC/ml de BMA para jugos y néctares pasteurizados como de la Unión Europea que considera hasta 10^3 Log de UFC/ mL de BMA. Además, se ha reportado que esta tecnología causa distintos tipos de daños en la carga microbiana presente dependiendo del nivel de presión que se aplique. En el rango de 20 a 180 MPa hay un retraso en el crecimiento microbiano, la pérdida de viabilidad celular se presenta aproximadamente a 180 MPa y la velocidad de inactivación incrementa con el nivel de presión. El efecto letal de las HPP se manifiesta en la disrupción de la integridad de la membrana y desnaturalización de las proteínas (Lado y col., 2002). En este estudio se observó que cualquiera de los tratamientos aplicados fue efectivo en la reducción microbiana, debido a que los niveles de presión que estuvieron arriba de 450 MPa haciéndolo recomendable como una tecnología de conservación para este producto.

El crecimiento de hongos y levaduras fue distintivo para éste tratamiento ya que la mayoría de las muestras analizadas de las formulaciones sometidas a altas presiones hidrostáticas mostraron una reducción a gran escala comparada con las muestras control y se mantuvo hasta las últimas evaluaciones. La formulación 1 y

3 mostraron únicamente una cuenta de 0.222 y 0.058 Log UFC/mL al día 25 y la formulación 2 de 0.328 Log UFC/mL en el día 10. Este comportamiento se observa claramente en la figura 15. Todas las muestras se encontraron con una cuenta por debajo del límite permitido para levaduras, ya que todas las UFC que se contaron fueron únicamente levaduras. Crecimiento que puede provenir de los microorganismos sobrevivientes que se inactivaron, pero quedaron viables, los cuales podrían comprometer la conservación de la bebida en periodos mayores de almacenamiento y abusos de temperaturas. Estudios realizados con mango precortado de la variedad Tommy Atkins y Keitt y tratados por HPP tuvieron una reducción de 3 Log UFC que se mantuvo hasta las 7 semanas mientras que en los controles de Mango Keitt fueron mayores a $> 10^6$ a la semana 7 (Boynton, 2002).



Figura 13. Equipo de HPP en Verfruco, Uruapan, Michoacán

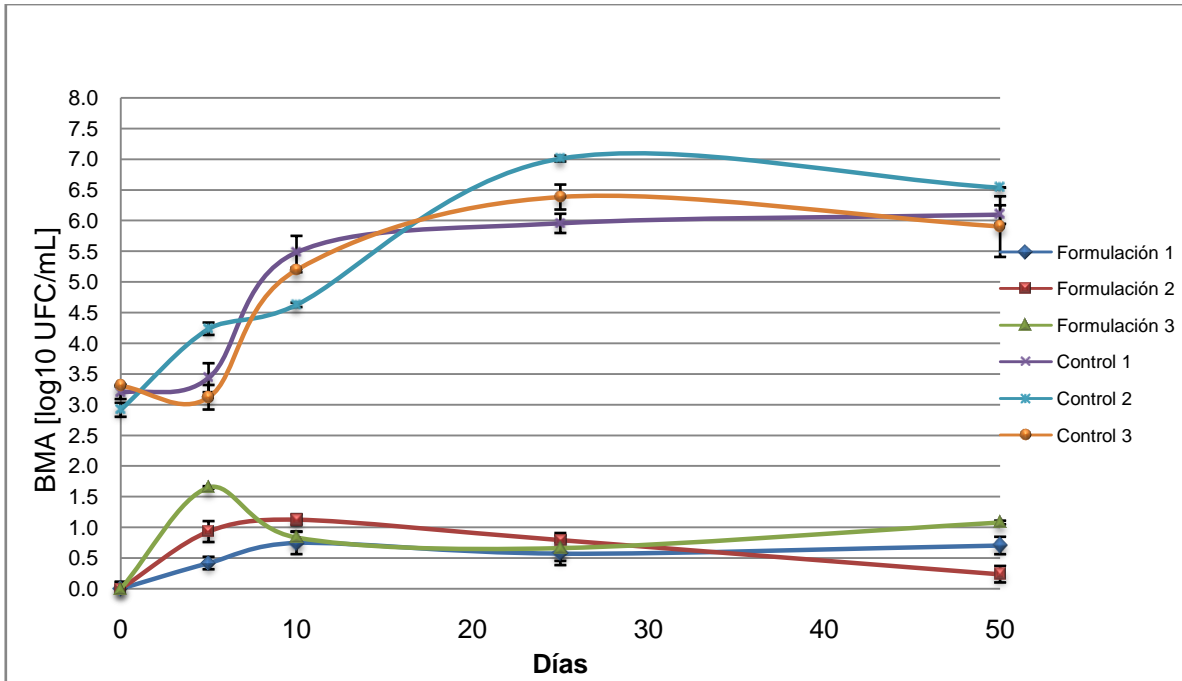


Figura 14. Crecimiento de BMA en las mezclas sometidas a HPP.

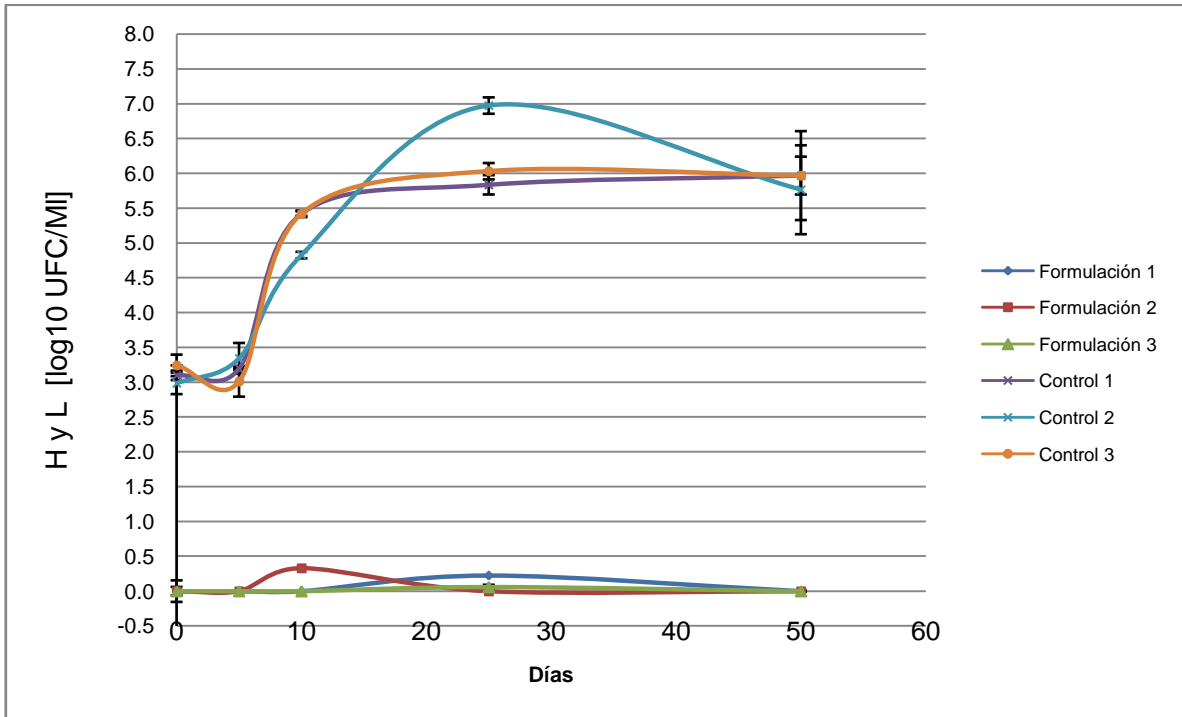


Figura 15. Crecimiento de H y L de las muestras sometidas a HPP.

5.7.3 Calentamiento óhmico

La aplicación de Calentamiento óhmico se realizó utilizando una celda diseñada exclusivamente para llevar a cabo esta investigación (Figura 16). Los resultados se encuentran en el cuadro 10 para las muestras sin tratamiento y las mezclas tratadas; donde se puede observar que la aplicación del tratamiento redujo por completo la carga de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, hongos y levaduras. Sin embargo, en los días posteriores al análisis hubo ligero crecimiento microbiológico en algunas muestras analizadas. En la formulación 1, la cuenta de BMA fue de 1.505 Log UFC/mL al día 5, e incremento paulatinamente a 1.616 UFC/mL, para disminuir a 1.236 UFC/mL en el día 25 y finalmente aumentó a 1.961 UFC/mL (Figura 17). La carga de H y L de las muestras sin tratar fue en promedio 3.099 Log/UFC/mL y se redujo completamente con el tratamiento y sólo en los días 25 y 50 se contaron cantidades <10 UFC/mL (Figura 18).

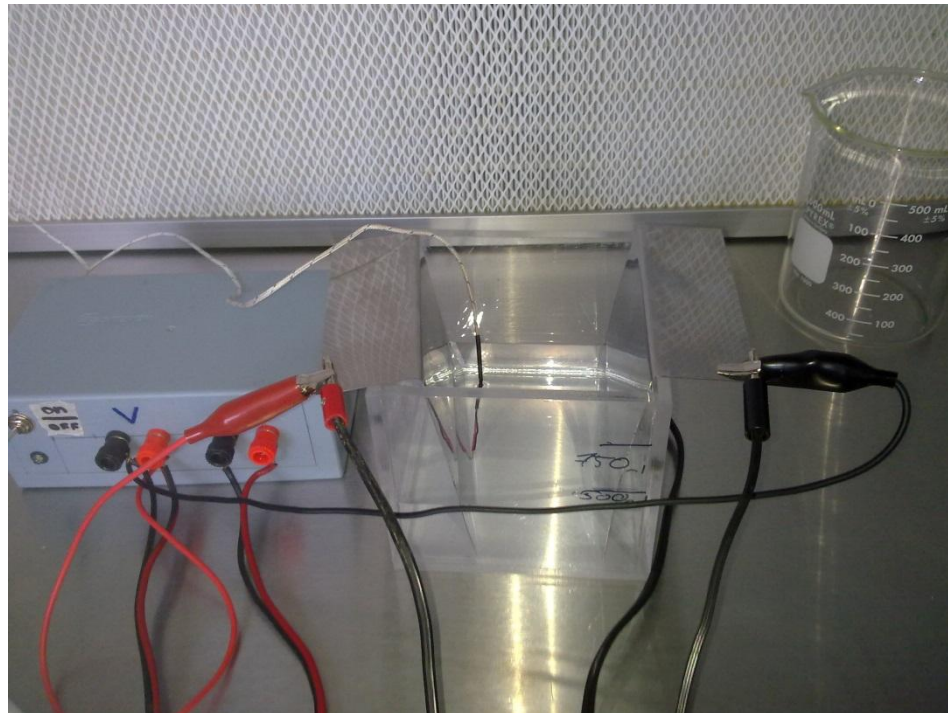


Figura 16. Celda diseñada calentamiento óhmico

La formulación 2, tuvo una carga inicial de 2.916 Log/UFC/mL de H y Ly se redujo completamente después de la pasteurización por CO. En los días posteriores se mantuvo con una cuenta <10 UFC/MI de H y L al igual que la carga en los días 25 y 50, donde se observó solo crecimiento de levaduras a diferencia de los primeros días de monitoreo en muestras sin tratamiento, lo cual refleja el efecto del tratamiento en las formulaciones tratadas por pasteurización con CO. Lo mismo ocurrió con los coliformes totales presentes en la mezcla sin tratamiento, se inactivaron con una vez que fueron sometidos al calentamiento óhmico.

La formulación 3, al igual que la formulación 2, la cuenta microbiana se inactivó completamente con el calentamiento óhmico y en los siguientes días de monitoreo se obtuvieron cuentas menores a 10 UFC/mL para hongos y levaduras solo en el día 5 se tuvo una cuenta <10 UFC/ mL de levaduras (Figura 18).

Con estos resultados podemos afirmar que este tratamiento fue efectivo para inactivar la carga microbiana que presentaron las bebidas tipo smoothie en un inicio. Sin embargo, se presentó crecimiento microbiano posterior al tratamiento, donde solo en la formulación 2, sobrepasó el límite de 25 UFCUFC/mL permitidas de hongos y levaduras de acuerdo a la NOM-130-SSA1-1995, por lo tanto desde el día 10 podría ser no apta para consumo humano. Las mezclas 1 y 3, se mantuvieron por debajo de los límites establecidos por la NOM-130-SSA1-1995 y la EU (2005) para jugos de fruta. Por lo tanto, es posible obtener productos con alta estabilidad si además, se previene una recontaminación al tiempo de envasado y se mantiene hermético el envase del producto.

El efecto térmico del calentamiento óhmico podría no ser el único asociado a la inactivación microbiana, evidencias sugieren que otro efecto podría verse involucrado (Somavat y col., 2012). Adicionalmente, tratamientos eléctricos subletales también han mostrado una reducción en la fase *lag* y modificación de las propiedades metabólicas de la fermentación de bacterias acidolácticas (Cho y col., 1996). La razón para el adicional efecto de la electricidad en microorganismos es debido a la carga (y resultado del estrés) en la membrana de la célula durante el tratamiento bajo campos eléctricos alternativos. Se ha observado en particular, que a frecuencias bajas (50-60 Hz) han sido efectivas para la

permeabilización de las membranas celulares (Somavat,2012,Kulsrestha y Sastry 2003).

Los esfuerzos enfocados en el tratamiento térmico por calentamiento óhmico han sido bien aceptados sin embargo podría haber omitido la existencia adicional de activación de microorganismos, por lo que se ha planteado el estudio de diversos factores, tales como: amperaje, pH, fuerza iónica y temperatura (Guillou & El Murr, 2002).

Cuadro 10. Recuentos microbianos de las mezclas sometidas a CO.

Formulación	Día	BMA [\log_{10} UFC/MI]	HYL [\log_{10} UFC/MI]	CT[UFC/MI]
1-C	0	3.197 ± 0.107	3.099 ± 0.154	ND
1	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
1	5	1.505 ± 0.105	0.259 ± 0.000	ND
1	10	1.616 ± 0.131	1.643 ± 577	ND
1	25	1.236 ± 0.367	1.710 ± 683	ND
1	50	1.961 ± 0.592	1.961 ± 992	ND
2-C	0	2.915 ± 0.114	2.984 ± 0.061	<3UFC/mL
2	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
2	5	0.745 ± 0.070	0.000 ± 0.000	ND
2	10	0.691 ± 0.150	0.000 ± 0.000	ND
2	25	0.206 ± 0.186	0.301 ± 0.301	ND
2	50	0.378 ± 0.186	0.067 ± 0.116	ND
3-C	0	3.307 ± 0.017	3.242 ± 0.068	18 UFC/mL
3	0	0.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	ND
3	5	0.773 ± 0.021	0.000 ± 0.000	ND
3	10	0.682 ± 0.092	0.000 ± 0.000	ND
3	25	0.120 ± 0.208	0.000 ± 0.000	ND
3	50	0.827 ± 0.029	0.573 ± 0.993	ND

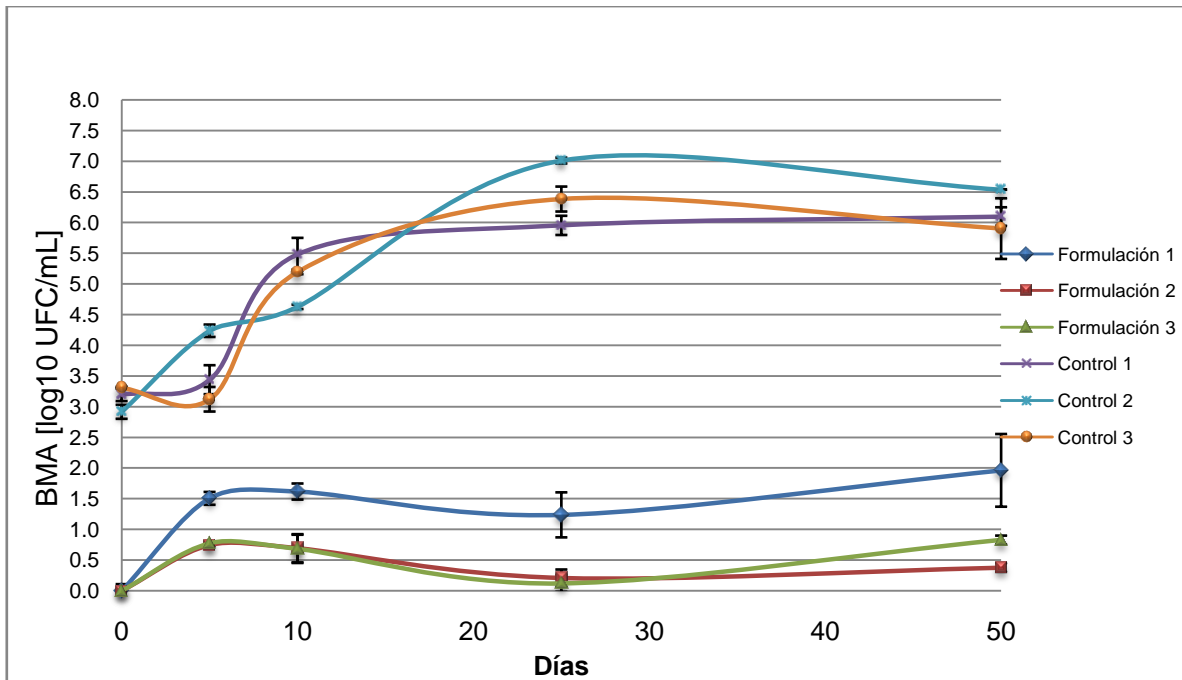


Figura 17. Crecimiento de BMA en las mezclas tratadas por CO.

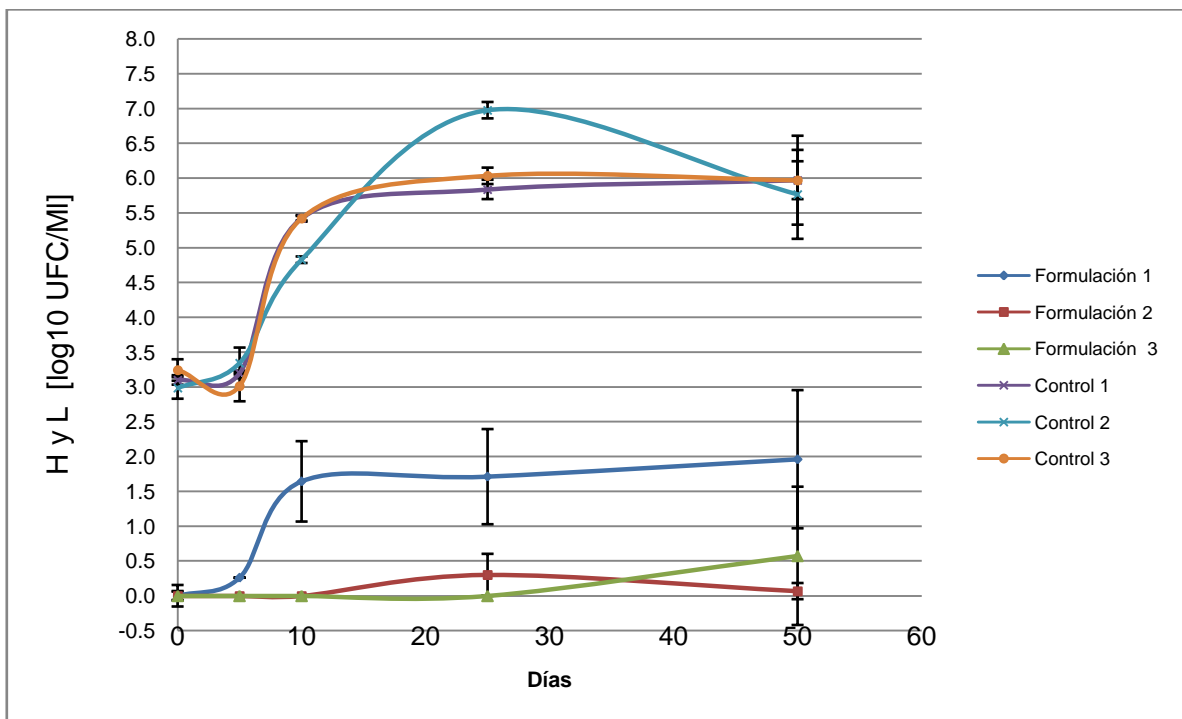


Figura 18. Crecimiento de hongos y levaduras en las mezclas tratadas por CO.

6 CONCLUSIONES

Los tratamientos térmicos son efectivos para inactivar la carga microbiológica de las bebidas tipo smoothie, sin embargo se debe tener especial cuidado en el tiempo y temperatura de pasteurización para que el efecto sea homogéneo

Durante en el envasado se debe evitar una recontaminación proveniente del ambiente externo o bien de la ineficiente manipulación de la bebida pasteurizada.

La posible recuperación y desarrollo de microorganismos podría darse aun después de aplicar un tratamiento térmico.

El deterioro de las bebidas tipo smoothie se ve potencialmente afectado por la presencia de bacterias lácticas, levaduras y hongos.

La aplicación de altas presiones hidrostáticas en la bebida tipo smoothie mostró mayor estabilidad microbiológica que las bebidas tratadas por pasteurización convencional y calentamiento óhmico.

La bebida tipo smoothie tratada por altas presiones hidrostáticas tiene menores posibilidades a recontaminación.

Es necesaria una investigación de mayor control que permita la comparación de la eficiencia de pasteurización por calentamiento óhmico y pasteurización convencional.

Para conocer la aceptación de la bebida con cada uno de los tratamientos, se requiere de una evaluación sensorial después de la aplicación de cada uno de los tratamientos de conservación en estudio.

7 REFERENCIAS

AbcAgro(Agricultura chilena). El Cultivo del Mango. 2012. Disponible en: http://www.abcagro.com/frutas/frutas_tropicales/mango4.asp

An H, Calik H, He H, Adams R, & Morrissey M. T. Use of high hydrostatic pressure to control pathogens in raw oysters. *Journal of Shellfish Research*. **2000**;19: 655–656.

Balci AT , Wilbey RA. High pressure processing of milk-the first hundred years in the development of a new technology. *International Journal of Dairy Technology*. **1999**;524:149-155.

Barbosa-Cánovas, G. V., Sepúlveda, D.2005 . Present status and the future of PEFtechnology. In Gustavo V. Barbosa-Cánovas, María S. Tapia, M. Pilar Cano, Olga Martín-Belloso, & Antonio Martínez (Eds.), *Novel food processing technologies*. Boca Raton, USA: CRC Press.

Beuchat LR. Pathogenic microorganisms associated whit fresh produce. *J. Food Prot.* **1996**; 59:204-216.

Boynton BB, Sims CA, Sargent S, Balaban MO, Marshali MR. Quality and Stability of Precut Mangos and Carambolas Subjected to High-Pressure Processing. *JFS: Sensory and Nutritive Qualities of Food*. **2002**;67: 409-415.

Cheftel JC. Review: High pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Sci. Technol.* **1996**;1:75-90.

Cho HY, Sastry SK, Yousef AE. Kinetics of inactivation of *Bacillus subtilis* spores by continuous or intermittent ohmic and conventional heating. *Biotechnol Bioeng***2000**;62:368-372.

Caicedo-Vásquez AL, Schilling S, Carle R, Neidhard S. Effects of termal processing and fruit matrix on B-carotene stability and enzyme inactivation during transformation of mangoes into purée and nectar. *Food Chemistry*. **2006**;102:1172-1186

Doores S, Westhooff DC. Heat resitence of *Sporolactobacillus inulinus*. *J Food Sci*, **1981**,48: 810-12

Dreak T, Beuchat LR. Identification of foodborne yeasts. *Journal of Food Protection*. **1987**;50:243-262.

Falcon M, Lidster P. Patente US 6,383,546 B1. Formulation and process for producing a universal fruit base for use in preparing no-setting,cremy,smooth,fruit beverage [monografía de internet].Vancouver [Consultado 2012]. Disponible en <http://www.google.com/patents?id=l6EKAAAEBAJ&printsec=abstract&zoom=4#v=onepage&q&f=false>

Fernández EE. Microbiología sanitaria de agua y alimentos. **1981** Vol. 1. Universidad de Guadalajara.

Fernández EE. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos. **2000**. Universidad Autónoma de Querétaro.

Goel L.G. Beverages: Consumers are increasingly turning to beverages containing ingredients that address specific health issues. *Food Technology* . 2007; 61:12

Gould GW. Introduction In: Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures (ed. G.W. *Gould*). 1989. Elsevier Applied Science, London

Keenan DF, Tiwari BK, Patras A, Gormley R, Butler F, Brunton N. Effect of sonication on the bioactive, quality and rheological characteristics of fruit smoothies. *International Journal of Food Science and Technology* [serie en internet] 2012 [consultado 2012 agosto 24]; 47(4):[aprox. 9 pp]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.2011.02915.x/full>

Lamikanra O, Watson MA. Effects of ascorbic acid on peroxidase and polyphenoloxidase activities in fresh-cut cantaloupe melon. *J Food Sci*. **2001**; 66(9): 1283-1286.

Looder J. The Yeasts. A taxonomic study, Publishing North-Holland, Company Amsterdam-London, **1971**, vol. I y II, 2a Ed.

Ludwig DS, Perterson KE. Relation between consumption of sugarsweetened drinks and childhood abesity: A prospective, observational analysis. *Lancet*, 2001;357(9255):505-508.

Mata BJ, Mosqueda VR. Cosecha y post-cosecha. La producción del mango en México. México: Editorial Limusa, **1995**: 135-147.

Mondragón PA. 1999. Diferencias fisiológicas y metabólicas entre frutos sensibles y tolerantes al estrés térmico. Tesis de maestría. UAQ. Querétaro, México
NMX-F-057-S-1980: Néctar de Mango. Norma Mexicana. Dirección General de Normas.

NOM-111-SSA1-1994: Norma Oficial Mexicana. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

NOM-092-SSA1-1994: Norma Oficial Mexicana. Método para la cuenta de bacterias mesófilas aerobias en placa.

NOM-113-SSA1-1994: Norma Oficial Mexicana. Método para la cuenta de coliformes totales en placa.

Proweb. Online Visibility from Vocus. 2012. Disponible en: http://www.prweb.com/releases/smoothies_market/frozen_mix_smoothie/prweb3808804.htm

Palgan I, Muños A, Noci F., Whyte P., Morgan D.J., Cronin D.A., Lyng J.G. Effectiveness of combined Pulsed Electric Field (PEF) and Manothermosonication (MST) for the control of *Listeria innocua* in a smoothie type beverage. Food Control, Institute of Food and Health. 2011.

Palaniappan, S. Sastry SK. Electrical Conductivities of Selected Solid Foods during Ohmic Heating. J Food Process Engr **1991**;14: 221–236

Perzanese M. Tecnología de altas presiones hidrostáticas [monografía de internet]. Argentina: Alimentos Argentinos-MiniAgri., 2011 [consultado en 2012 octubre 12]. Disponible en: <http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/sectores/tecnologia>

Rahman MS, Ahmed J. Handbook of Food Process Design. [monografía de internet]. Londres: Editorial Taylor & Francis Group, 2007 [consultado en 2012 agosto 25]. Disponible en: <http://es.scribd.com/doc/72160702/Handbook-of-Food-Preservation>

Ramírez VJ. Cultivo y enfermedades del Mango. Sinaloa: Universidad Autónoma de Sinaloa. **1991**:137.

Rojas T, Castillo Z. Supervivencia de un aislado Escherichia Coli 0157:H7 en jugos de naranja no pasteurizados de expendio comercia. Rev. Soc. Ven. Microbiol. Caracas ene. **2003**; 23(1)

SAGARPA(Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación) **2010**.Servicio de Información Agroalimentaria (SIAP) ."Uno de cada cinco mangos mexicanos se consumen en el extranjero". Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/opt/123/77/76.html>. Fecha de consulta: 12 Septiembre 2012.

SergentE. El cultivo del Mango (*Mangifera indica* L.) Botánica, manejo y comercialización. Caracas: U.C.V., Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico,**1999**: 23-24.

Simpson R, Jimenez PM, Carevic GE, Grancelli MG. Aceleración de la deshidratación osmótica de frambuesas (*Rubus idaeus*) por medio de calentamiento óhmico. ALAN. **2007**; 61(4)

Somavat R, Mohamed M.H, Chung Y-k, Yousef A.E, Sastry S.K. Acelerated inactivation of Geobacillus stearothermophilus spores by ohmic heating. Journal of Food Engineering, **2012**; 108: 69-76.

Tewari G, Jayas DS, Holley RA. High Pressure Processing of Foods: An Overview, Science des Aliments, **1999**;19:619-661.

Torres JA, Velázquez . Commercial opportunities and research challenges in the high pressure processing of foods. Journal of Food Engineering **2005**;67 95–112

Tribst Aa, Sant´ Ana AS, Massaguer RP. Review: Microbiological quality and safety of fruit juices- Past, present and future prespectives. Critical Reviews in Microbiology, **2009**; 35 : 310-339.

USDA (United States Department of Agriculture). Disponible en: <http://www.usda.gov/wps/portal/usdahome>.Fecha de consulta: 20 Septiembre 2012

Vámos-Vigyazo L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. CriticalReviews in Food Science and Nutrition, **1981**; 9: 49-127

Velazquez G, Gandhi K, Torres JA. Hydrostatic pressure processing: A review. Biotam, **2002**; 12(2): 71–78

Yahía E, Carrillo LA, Rivera DM. Manejo Poscosecha del mango. Colima: Universidad de Colima. **1997**: 117.

Yildiz F. Initial preparation, handling, and distribution of minimally processed refrigerated fruits and vegetables. In Minimally Processed Refrigerated Fruits & Vegetables. Ed.: Wiley, R.C. Chapman & Hall, New York. 1994.

Walking RM. Shelf and sensory attributes of a fruit smoothie-type beverage processed with moderate heat and pulsed electric fields. LWT-Food Science and Technology. **2010**:43; 1067-1073.

Wouters R. Innovación en Productos Lácteos. ORAFI Active Food Ingredients. 2006. 2011 [consultado en 2012 octubre 10]. Disponible en: http://www.alimentariaonline.com/apadmin/img/upload/MLC013_INNOVALAC_F.pdf

ANEXOS

A1. Encuesta de análisis sensorial

Fecha: _____

Nombre: _____

Por favor, deguste las muestras de izquierda a derecha en el orden que se le han presentado y colóquelas en el orden de su preferencia. Es posible que requiera degustar nuevamente las muestras para comprobar el orden de su preferencia. Indique con el número 1 la muestra de su mayor preferencia, la siguiente con el número 2 y así sucesivamente hasta completar todas las muestras. Es necesario que indique cada muestra con un número diferente.

Muestra						
Orden						

A2. Formulaciones finales para la bebida tipo smoothie

Mezclas	Ataulfo (kg)	Manila (kg)	Haden (Kg)	Total de bebida (28 kg)			
				% pulpa	kg pulpa	% agua	Kg pulpa
1	0.8(10.08)	0.1(1.26)	0.1(1.26)	45	12.6	55	15.4
2	0.8(7.48)	0.1(0.98)	0.1(0.98)	35	9.8	65	18.2
3	0.33(4.2)	0.33(4.2)	0.33(4.2)	45	12.6	55	15.4

A3. Parámetros de ajuste de las formulaciones finales

Mezcla	°Bx inicial	g azúcar	°Bx final	pH final	%CMC	g CMC
1	11.6	364	12.9	3.19	0.01	2.8
2	9.7	924	13	2.99	0.05	1.4
3	11.2	385	13.1	3.05	0.01	2

