



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA**



Facultad de Ciencias Químicas

Departamento de Bioquímica-Alimentos

TESIS:

**Aplicación de métodos combinados para
aumentar la vida útil del jugo de naranja**

**Tesis para obtener el grado de licenciado en:
Químico Farmacobiólogo**

Presenta:

p.Q.F.B. Arely Peralta Pérez

Director de tesis:

D.C. Carlos Enrique Ochoa Velasco

Co-director de tesis:

D.C. Paola Hernández Carranza

Diciembre 2019

Dedicatoria

A mis padres

Dedico este logro a mis padres Andrés Peralta y Mariela Pérez quienes son mi mayor inspiración para cumplir mis metas, gracias por su paciencia y por ser un ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer a las adversidades, de trabajar día a día para cumplir un objetivo.

Agradecimientos

Todo esto nunca hubiera sido posible sin el amparo incondicional que me otorgan y el cariño que me inspiran mis padres, que de forma incondicional entendieron mi ausencia y mis malos momentos, las palabras nunca serán suficientes para testimoniar mi aprecio y agradecimiento

De igual manera agradezco al D.C. Carlos Enrique Ochoa Velasco y a la D.C. Paola Hernández Carranza, por confiar en mí, abrirme las puertas y permitirme realizar todo el proceso investigativo, con sus conocimientos, su experiencia y motivación me ayudaron a concluir este trabajo de investigación.

Mi agradecimiento a mis hermanos Karina, Fani, Edgar y Verónica, por estar ahí para brindarme su apoyo y saber que siempre puedo contar con ellos. De igual forma gracias a mi incondicional amiga por su compañía a lo largo de nuestra formación profesional.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.



Puebla, Pue. a 14 de Junio de 2019

**C. PERALTA PÉREZ ARELY
PRESENTE**

Toda vez que se cuenta con la aprobación del Coordinador del Área de Bioquímica y Alimentos,

DC. CARLOS ENRIQUE OCHOA VELASCO, Director de Tesis,

DC. PAOLA HERNANDEZ CARRANZA, Asesor,

se le comunica la autorización de su anteproyecto de tesis denominado:

"Aplicación de métodos combinados para aumentar la vida útil del jugo de naranja"

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales a los que haya lugar

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

**DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ
DIRECTOR**





BUAP

Puebla, Pue. a 11 de Noviembre de 2019

DC. RAUL AVILA SOSA SANCHEZ

MC. ARMANDO MENA CONTLA

MC. MARTIN ALVARO LAZCANO HERNANDEZ

Con toda atención comunico a Uds. que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora de Tesis que presenta el (la) Pasante de la Carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO

PERALTA PÉREZ ARELY

cuyo título es :

"Aplicación de métodos combinados para aumentar la vida útil del jugo de naranja"

Realizada en el Area de Bioquímica y Alimentos;

asimismo, les ruego que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"

DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ

DIRECTOR



C.c.p. Archivo



BUAP

DR. JORGE RAÚL CERNA CORTEZ
DIRECTOR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
P R E S E N T E

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de la Tesis del alumno
de la carrera de QUIMICO FARMACOBIOLOGO
PERALTA PÉREZ ARELY

realizada en el area de Bioquímica y Alimentos, comunican a Ud. la aprobación
de la misma con la siguiente redacción:

**"Aplicación de métodos combinados para aumentar la vida útil del jugo de
naranja"**

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan, a los
2 días del mes de Diciembre de 2019

Atentamente

"Pensar bien para vivir mejor"



DC. RAUL AVILA SOSA SANCHEZ

MC. ARMANDO MENA CONTLA

MC. MARTIN ALVARO LAZCANO HERNANDEZ

C.c.p. Archivo

Vo. Bo.

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 55 00 Ext. 7390 y 01 (222) 244 31 06

ÍNDICE GENERAL

Resumen	1
1. Introducción.....	2
2. Antecedentes.....	3
2.1. Conservación de alimentos.....	3
2.2. Calor	4
2.3. Radiación de luz ultravioleta.....	4
2.3.1. Uso de la radiación ultravioleta como tratamiento de jugos de frutas.....	7
2.4. Antimicrobianos.....	8
2.4.1. Generalidades	8
2.4.2. Antimicrobianos de origen natural.....	9
2.5. Limón.....	11
2.6. Naranja	12
2.7. Microorganismos presentes en jugos de frutas.....	14
2.8. Métodos combinados o tecnologías de obstáculos.....	15
3. Justificación	17
4. Objetivos.....	18
4.1. Objetivo general.....	18
4.2. Objetivos particulares	18
5. Diagrama general de trabajo.....	19
6. Materiales y métodos.....	20
7. Metodología.....	21
7.1. Obtención de la materia prima.....	21
7.2. Obtención del extracto de limón y análisis microbiológico.	21
7.3. Tratamientos aplicados.....	21
7.4. Análisis microbiológico.....	22
7.5. Análisis sensorial.....	23
7.6. Análisis estadístico.....	23
8. Resultados y discusión.....	24
8.1. Análisis microbiológico del extracto de limón.....	24
8.2. Evaluación del efecto de irradiación de luz UV-C y/o tratamiento térmico sobre la flora nativa de jugo de naranja.....	24
8.3. Evaluación del efecto de la aplicación de luz UV-C, tratamiento térmico y/o extracto de limón sobre la flora nativa de jugo de naranja.....	26
8.3.1. Almacenamiento a temperatura ambiente.....	26
8.3.2. Almacenamiento en refrigeración.....	28
8.4. Prueba sensorial del jugo de naranja con mejor estabilidad microbiana.....	30
9. Conclusiones.....	32
10. Recomendaciones.....	33
11. Referencias.....	34

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación de la longitud de onda de la radiación UV.....	5
Tabla 2. Dosis de radiación UV-C requeridas para la inactivación de diversos microorganismos en alimentos líquidos.....	6
Tabla 3. Antimicrobianos utilizados en sistemas modelos a base de frutas y especias.....	10
Tabla 4. Efectividad antimicrobiana de extractos de plantas de la familia Rutaceae (naranja, limón, mandarina).....	11
Tabla 5. Composición nutricional de la naranja por 100 g de porción comestible.....	13
Tabla 6. Géneros de microflora comúnmente presente en frutas y jugos de frutas.....	15
Tabla 7. Métodos y referencias utilizadas.....	20
Tabla 8. Equipos utilizados.....	20
Tabla 9. Tratamientos aplicados al jugo de naranja.....	22

Índice de figuras

Figura 1. Espectro electromagnético.....	5
Figura 2. Dimerización de timina en microorganismos irradiados con luz UV...	6
Figura 3. Estructura química del Limoneno.....	11
Figura 4. Morfología de la naranja, exocarpo, mesocarpo y endocarpo.....	12
Figura 5. Estabilidad de alimentos basados en el efecto obstáculo.....	16
Figura 6. Reactor tipo espiral.....	22
Figura 7. Boleta del nivel de agrado en escala estructurada.....	23
Figura 8. Efecto de los tratamientos de luz UV-C, tratamiento térmico y combinación, sobre la población de bacterias mesófilas aerobias en jugo de naranja.....	24
Figura 9. Efecto de los tratamientos de luz UV-C, tratamiento térmico y combinación, sobre la población de hongos y levaduras en jugo de naranja.....	25
Figura 10. Evaluación de la población de bacterias mesófilas aerobias en jugo de naranja fresco (A), tratado con calor (B), luz UV-C (C), combinación de luz UV-C y calor (D), adicionado con extracto de limón y almacenado a temperatura ambiente.....	26
Figura 11. Evaluación de la población de hongos y levaduras, en jugo de naranja fresco (A), tratado con calor (B), luz UV-C (C), combinación de luz UV-C y calor (D), adicionado con extracto de limón y almacenado a temperatura ambiente.....	27

Figura 12. Evaluación de la carga de bacterias mesófilas aerobias en jugo de naranja fresco, tratado con luz UV-C, calor y la combinación de luz UV-C más calor y almacenado en refrigeración.....	28
Figura 13. Evaluación de la carga de hongos y levaduras en jugo de naranja fresco, tratado con luz UV-C, calor y la combinación de luz UV-C más calor y almacenado en refrigeración.....	29
Figura 14. Evaluación sensorial del nivel de satisfacción del jugo de naranja fresco y jugo tratado y almacenado por 9 días	30

Resumen

Para la producción y comercialización de jugos de frutas generalmente se utilizan métodos de procesamiento con calor lo que reduce la carga microbiana y genera un producto inocuo, sin embargo, esto provoca algunas veces pérdida de nutrientes y afectación sensorial. Como respuesta a esta situación la industria de jugos ha comenzado a utilizar tecnologías emergentes o métodos combinados. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento de la flora nativa de jugo de naranja al aplicar tratamientos solos o combinados de luz UV-C, calor, extracto de limón y refrigeración. Se utilizó jugo de naranja fresco el cual se procesó con luz UV-C o calor (50°C) durante 5 min, posteriormente se adicionó extracto de limón (1000 ppm) y se almacenó a temperatura ambiente o de refrigeración (4°C), se evaluó la presencia de bacterias mesófilas aerobias (BMA), hongos y levaduras (H y L). Y al sistema con menor población microbiana se le realizó un análisis sensorial. Los resultados mostraron que los tratamientos individuales (luz UV-C y calor) presentaron poco efecto sobre los microorganismos evaluados, mientras que la combinación de ambos generó un efecto sinérgico principalmente en BMA. La aplicación de métodos combinados (luz UV-C, calor, extracto de limón y refrigeración) generó una mayor reducción (0.5 ciclos logarítmicos) de los H y L respecto al jugo fresco durante el almacenamiento, permitiendo que la vida útil del jugo naranja sea de alrededor de 9 días. El análisis sensorial mostró buena aceptación del jugo tratado por métodos combinados respecto al control.

1. Introducción

México es un gran productor a nivel mundial de cítricos, los cuales son considerados frutos universales ya que están presentes en más de 100 países abarcando un 20% del mercado mundial, además, a partir de estos se generan productos con una alta demanda de consumo como los jugos y extractos (SAGARPA, 2016). El jugo de naranja en particular aporta vitamina C, minerales y flavonoides (Khan *et al.*, 2014).

Los jugos de frutas, idealmente, deberían ser elaborados utilizando métodos de procesamiento que permitan retener al máximo los nutrientes (Annunziata y Vecchio, 2011). Como respuesta a esta situación, se han desarrollado tecnologías de procesamiento conocidas como emergentes, las cuales, utilizan formas de energía alternas a la calórica para la conservación de alimentos (Leonelli y Mason, 2010).

La radiación ultravioleta de onda corta es considerada una tecnología emergente que se perfila como un método de conservación prometedor, debido a su capacidad para inactivar una amplia gama de microorganismos y evitar pérdidas nutricionales o sensoriales mínimas (López y Palou, 2005). También se ha abierto la posibilidad de combinar tecnologías emergentes con otros métodos como lo son los tratamientos leves de calor y el uso de aceites esenciales extraídos de plantas y frutas. Lo anterior, se fundamenta en la existencia de un efecto aditivo o sinérgico entre los diferentes mecanismos de inactivación y de esta manera, potenciar su acción para preservar características de calidad fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales de los productos (Caminiti *et al.*, 2012).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue la aplicación de métodos combinados sobre la carga microbiana del jugo de naranja para alargar la vida de anaquel.

2. Antecedentes

2.1 Conservación de alimentos

La conservación de alimentos es un conjunto de procedimientos aplicados a los productos alimenticios con el fin de guardarlos y consumirlos mucho tiempo después. Generalmente, el deterioro de los alimentos es producido por alteraciones: químicas, físicas y biológicas (Argaiz *et al.*, 2004), por lo que el objetivo principal de la conservación es prevenir o retardar el daño causado principalmente por microorganismos y, por ende, evitar un efecto nocivo sobre los consumidores. Los métodos de conservación de alimentos se dividen en: métodos que utilizan temperatura y métodos no térmicos, dentro de los primeros se encuentran el secado, refrigeración, pasteurización y congelación. Por otro lado, los métodos no térmicos comprenden altas presiones hidrostáticas, pulsos eléctricos, pulsos magnéticos, ultrasonido e irradiación con radiación ultravioleta de onda corta (UV-C) (Herrero y Romero, 2006; Mohammad, 2007).

Uno de los métodos de conservación más empleado es el tratamiento térmico, técnica que muchas veces modifica las características, tanto sensoriales (textura, sabor y color), como nutricionales (pérdidas de vitaminas, principalmente) del alimento, sin embargo, destruye a los microorganismos patógenos e inactiva enzimas, que producen cambios en la apariencia del producto (Acevedo *et al.*, 2004). Debido a los efectos adversos de los tratamientos por altas temperaturas, se encuentran en desarrollo procesos no térmicos de conservación, también denominados tecnologías emergentes (Domínguez y Parzanese, 2011), las cuales, utilizan formas de energía alternativas a la calórica para la preservación de alimentos (Chemat *et al.*, 2011). Usualmente, se utilizan varias tecnologías emergentes en conjunto o se combinan con un calentamiento leve, para aprovechar los diferentes mecanismos de inactivación de microorganismos y enzimas, así como la sinergia que puede existir entre ellas (Caminiti *et al.*, 2012). Además, son poco agresivas y tienen la ventaja de ofrecer productos semejantes a los frescos, garantizando la inocuidad del alimento (Pelayo, 2009). En este sentido, la radiación

ultravioleta de onda corta (UV-C), ha sido aprobada por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos) (2000) como una novedosa tecnología para el tratamiento de jugos de frutas, la cual se explicará a continuación con más detalle.

2.2 Calor

La aplicación de calor a los alimentos se remonta a los tiempos en que el ser humano descubrió cómo hacer fuego y observó empíricamente los beneficios que esta práctica aportaba. Actualmente, la aplicación de calor es uno de los tratamientos que hacen posible la existencia de productos inocuos y por tanto prolongan la vida comercial de un alimento. Una de las tecnologías que se utiliza mayormente en la industria alimentaria es la aplicación de altas temperaturas, es decir, calor. Los parámetros más destacados y determinantes para la conservación de alimentos son el tiempo que se mantienen y las temperaturas que alcanzan, pues de ellos dependerá la calidad final del producto que se presente al consumidor, en este sentido, la temperatura es uno de los parámetros ambientales más importantes que condiciona el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos (Mohammad, 2007), el intervalo entre la temperatura mínima y máxima para el crecimiento se suele llamar margen de crecimiento, y en muchas bacterias suele comprender unos 40°C. A partir de la temperatura óptima, si se incrementa la temperatura se produce un descenso acusado de la tasa de crecimiento hasta alcanzar la temperatura máxima. Dicha temperatura refleja desnaturalización e inactivación de proteínas enzimáticas esenciales, colapsamiento de la membrana citoplásmica y lisis térmica de la bacteria. Cada especie o cepa bacteriana tiene temperaturas cardinales distintas, de modo que una bacteria puede presentar una temperatura óptima superior a la temperatura máxima de otra, o inferior a la temperatura mínima de una tercera. Las bacterias mesófilas aerobias presentan intervalos de temperatura mínima a los 10 a 15°C, óptima a los 25 a 40°C y máxima entre 35 y 47°C (Raisman y González, 1998).

2.3 Radiación de luz ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV), es un agente esterilizador natural. Está ubicada en una región de energía del espectro electromagnético que se encuentra situada

entre la luz visible y los rayos X, con una longitud de onda entre 10 y 400 nm. Se puede subdividir en: UV de vacío (10-200 nm), UV de onda corta UV-C (200-280 nm), UV de onda media UV-B (280-315 nm) y UV de onda larga UV-A (315-400 nm) (González, 2001). La máxima eficiencia para la desinfección se sitúa en el intervalo de la UV-C, específicamente a 254 nm. En la Figura 1 se muestra la región ultravioleta en el espectro electromagnético.

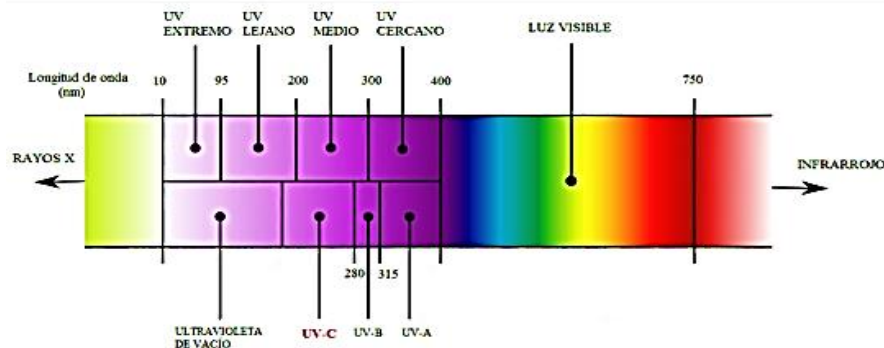


Figura 1. Espectro electromagnético. Tomada de: Domínguez y Parzanese, 2011.

La Tabla 1 presenta la clasificación de la radiación UV y sus efectos en los organismos.

Tabla 1. Clasificación de la longitud de onda de la radiación UV.

Clasificación	Longitud de onda (nm)	Efectos en organismos
Larga	320-400	Cambios en la piel humana (bronceado)
Media	280-320	Quemaduras serias (cáncer)
Corta	200-280	Efecto germicida

Tomado de: Guerrero y Barbosa, 2004.

A excepción de las bacterias fotosintéticas, la mayoría de los microorganismos son susceptibles al daño por la radiación UV (Mendonca, 2002). El efecto destructivo de la radiación UV sobre los microorganismos está en función de la longitud de onda. Como se mencionó anteriormente, la radiación UV de longitud de onda a 254 nm, se absorbe en un nivel que es suficiente para la desinfección; esto se debe a que ocasiona cambios físicos en los electrones y el rompimiento de enlaces en el ácido desoxirribonucleico (ADN), inactivando así los procesos de crecimiento y

reproducción microbiana (Bolton y Cotton, 2001). La Tabla 2 muestra la dosis de radiación de luz UV-C necesaria para inactivar microorganismos en alimentos y la reducción logarítmica alcanzada.

Tabla 2. Dosis de radiación UV-C requeridas para la inactivación de diversos microorganismos en alimentos líquidos.

Alimento	Microorganismo	Dosis UV-C (mJ/cm ²)	Reducción de ciclos logarítmicos
Jugo de naranja	Bacterias mesófilas aerobias	12.3-120	2
	Levadura y mohos	-----	3
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		2.71
Sidra de manzana	<i>Escherichia coli</i> K12	0.75	<1
Jugo de guayaba	Levaduras	21.5	1.2
Jugo de piña	Mohos	21.5	1

Tomado de: Koutchma, 2009.

La luz UV absorbida promueve la formación de enlaces entre nucleótidos adyacentes, con lo que se crean moléculas dobles o dímeros (Jagger, 1967). Si bien la formación de dímeros de timina-timina (Figura 2) son los más comunes, también suelen formarse dímeros de citosina-citosina, citosina-timina y dimerización del uracilo.

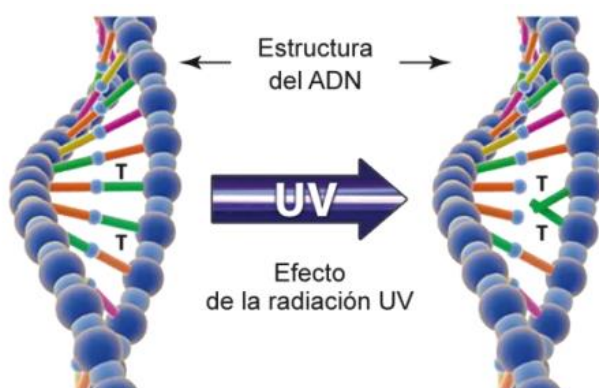


Figura 2. Dimerización de timina en microorganismos irradiados con luz UV.

Tomado de: LIT, 2017.

La formación de un número suficiente de dímeros dentro de un microorganismo impide que éste replique su ADN y ARN, lo que imposibilita su reproducción. Debido a la dependencia de la longitud de onda para la absorción de UV por parte del ADN, la inactivación de los microorganismos también está en función de la longitud de onda.

2.3.1 Uso de la radiación ultravioleta como tratamiento de jugos de frutas

Las frutas poseen gran cantidad de componentes como carbohidratos, vitaminas, compuestos antioxidantes y fibra, entre otros, cuya ingesta es fundamental para gozar de una buena salud (Fornaguera y Gómez, 2007; American Dietetic Association, 2009). Mediante su procesamiento para la obtención de jugos, es posible darle un valor agregado al producto, poniendo a disposición del mercado una alternativa llamativa, conveniente, rápida y fácil consumo. Al mismo tiempo, se extiende la vida de anaquel del alimento, con lo cual se reducen las pérdidas postcosecha y se facilita su trasiego y comercialización (Enachescu, 1995).

Los jugos de frutas, idealmente, deberían ser elaborados utilizando métodos de procesamiento que permitan retener al máximo los nutrientes y compuestos con actividad biológica, como antioxidantes. Además, sin dejar de lado la inocuidad del producto, se busca preservar sus características de calidad sensorial como el sabor, aroma y color, lo más similares a las del fruto fresco. Lo anterior, ha captado la atención de la industria alimentaria cada vez más consciente de la importancia de producir alimentos de calidad, los cuales, se adecúen a las tendencias actuales y las exigencias de los consumidores cada vez más preocupados por su salud (Annunziata y Vecchio, 2011).

Recientemente, el uso de la radiación UV-C en jugos de frutas ha incrementado, por ser un proceso no térmico capaz de preservar las características del producto fresco y alargar su vida útil. La radiación ultravioleta se ha usado, individualmente

y en combinación con bajas temperaturas, y se ha demostrado que el tratamiento con luz UV-C aumenta la vida de anaquel de jugos sin producir cambios en el color y sabor, al respecto Tran y Farid (2004) mencionaron que la aplicación con luz UV-C en jugo de naranja no generó cambios en el color y pH del jugo, haciendo que su vida de anaquel se mantuviera durante 5 días. Sin embargo, al incrementar la dosis de radiación a 100 mJ/cm² se presentó una degradación de nutrientes como la vitamina C, lo cual es similar a la degradación de esta vitamina al aplicar tratamiento térmico.

En un estudio realizado por Torkamani y Niakousari (2011) en jugo de naranja tratado con luz UV-C se demostró que la vida de anaquel aumentó de 2 a 7 días, pero que se presentó degradación de vitamina C, además, la aplicación de luz UV-C no fue efectiva para inactivar enzimas. Al realizar comparaciones entre el tratamiento térmico tradicional y la radiación UV-C para tratar jugo y sidra de manzana, se ha encontrado que no existe diferencia significativa en cuanto al sabor y preferencia entre los productos procesados. Sin embargo, en el caso de sidra tratada con radiación UV-C, estas características no se mantienen después de una semana de almacenamiento (Tandon *et al.*, 2003).

Por otro lado, el efecto de penetración de la radiación UV-C se ve afectado por diversos factores, como son el tipo de líquido, materia suspendida y principalmente por los sólidos solubles de los jugos (Shama, 1999), al respecto Ochoa *et al.*, (2011) mencionaron que la aplicación de luz UV-C en jugo de pitaya que contenía 6.7% de sólidos solubles totales, se observó una reducción de 1.2 y 2 ciclos logarítmicos para bacterias mesófilas aerobias y mohos y levaduras, respectivamente, lo cual no es suficiente para garantizar su inocuidad. Esto puede deberse principalmente a los sólidos solubles presentes en el jugo que impide la penetración de la radiación.

2.4 Antimicrobianos

2.4.1 Generalidades

Los antimicrobianos son sustancias que destruyen microorganismos o impiden su multiplicación o desarrollo (Girón, 2008). El uso de antimicrobianos (conservadores)

es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente, los cuales en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis. Muchos investigadores concuerdan en que la evaluación de aditivos para alimentos debe basarse en un balance entre los riesgos y beneficios. Su acción dependerá de los factores microbianos (resistencia intrínseca, carga inicial, velocidad de crecimiento, tipo de microorganismo, competitividad, condición celular, etc.) así como también de factores intrínsecos (composición, pH, capacidad buffer, potencial óxido-reducción y actividad de agua), extrínsecos (temperatura, tiempo de almacenamiento, atmósfera y humedad relativa) y de procesamiento de los alimentos (cambios en la composición de los alimentos, alteración de la microflora, cambios de la carga microbiana y microestructura) (Davidson y Branen, 1993). Los antimicrobianos se han clasificado tradicionalmente en bactericidas (ejercen una acción letal para la bacteria) o bacteriostáticos (sólo inhiben transitoriamente el crecimiento bacteriano). Por otra parte, debido a que algunos microorganismos pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados individualmente, puede ser preferible utilizar una combinación de ellos, ampliando así el espectro de cobertura en la preservación de frutas o alimentos en general (Blanchard, 2000).

2.4.2 Antimicrobianos de origen natural

Algunos antimicrobianos naturales son aquellos que se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias, con la finalidad de destruir o impedir el desarrollo o crecimiento de microorganismos en un alimento. Muchos alimentos contienen compuestos naturales con actividad antimicrobiana, pero su uso implica el aislamiento, purificación y estabilización (Beuchat y Golden, 1989).

Los antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen en:

- Origen animal: incluye proteínas, enzimas como lisozima, lipasas y proteasas y polisacáridos como el quitosano (Davidson y Branen, 1993).

- Origen vegetal: incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Beuchat, 2001).

En la Tabla 3 se muestra el efecto de algunos antimicrobianos preparados a base de frutas y especias.

Tabla 3. Antimicrobianos utilizados en sistemas modelos a base de frutas y especias.

Antimicrobiano	Efecto	CMI	Referencia
Vainillina	Inhibición de la tasa de crecimiento radial de colonias de especies de <i>Aspergillus</i> .	100-2000 ppm	López, 2000.
Eugenol, timol, mentol y eucalipto	Inhibición del crecimiento de bacterias aerobias mesófilas, mohos y levaduras.	1000 µL	Rodríguez, 2011.
Carvacrol y ácido cinnámico	Reducción de los recuentos de microorganismo viables en kiwi y melón.	1 mM	Roller y Seedhar, 2002
Aceite y extracto de mandarina, limón y lima	Aumento de la vida de anaquel o reducción del crecimiento microbiano.	NR	Raybaudi <i>et al.</i> , 2006

CMI: Concentración mínima inhibitoria; NR: No reportado.

Tomado de: Raybaudi *et al.*, 2006.

2.5 Limón

El limón es un cítrico, fruto en baya del limonero, árbol de hoja perenne y espinoso de la familia de las Rutáceas. Es originario del sudeste asiático, aunque actualmente se produce en todas las áreas tropicales y templadas. El principal país productor es México seguido de la India, mientras que España es el primer país exportador de limones y limas (Escobar y Vanegas, 2002).

Aunque su principal uso es en fresco también se usa para la obtención de zumos, concentrados, aceites esenciales, pectinas, flavonoides y aderezos (Ruiz *et al.*, 2012) además se le han atribuido diferentes tipos de propiedades como son:

- Antisépticas
- Acción antibacteriana y antifúngica
- Excipiente aromático y saborizante en medicamentos
- Reforzador del sistema inmunológico
- Elimina las toxinas del organismo

Lo más rescatable del limón es su acción bacteriostática y bactericida que comparte con otros miembros de su familia, en la Tabla 4 se muestra algunos microorganismos contra los que actúa.

Tabla 4. Efectividad antimicrobiana de extractos de plantas de la familia Rutaceae (naranja, limón, mandarina).

Tipo de cítrico	Microorganismos que controlan
Naranja	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella spp</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> y otras Micobacterias no tuberculosas
Limón	<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 19434), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 10145), <i>Salmonella</i> entérica y <i>Escherichia coli</i> O157:H7.
Mandarina	<i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> y <i>L. monocytogenes</i> , <i>Shigella flexneri</i> y los hongos <i>Neurospora crassa</i> y <i>Candida albicans</i>

Tomado de: Crandall *et al.*, 2012.

Entre los compuestos que encontramos en el limón está el limoneno, con fórmula química (C₁₀H₁₆), este es un isómero monoterpeno (terpenos con 10 carbonos en su fórmula), el limoneno es a su vez precursor del terpenoide llamado carvona con multitud de usos en la industria de los alimentos, que por lo general las distintas variedades de cítricos lo poseen, especialmente en su cáscara, en la Figura 3 se presenta la estructura química del limoneno.

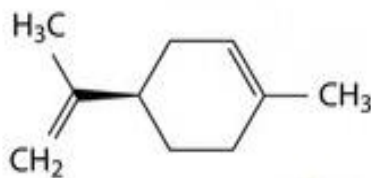


Figura 3. Estructura química del limoneno. Tomado de: Cerutti y Neumayer, 2004.

2.6 Naranja

La naranja pertenece al género *Citrus* de la familia de las Rutáceas (*Rutaceae*), es un fruto que consta de varios carpelos o gajos fáciles de separar. Los frutos de los cítricos son bayas modificadas llamados hesperidios, es un fruto subgloboso, oval, achatado con un diámetro de entre 6 y 12 cm que se caracterizan por ser carnosos y tener semillas dispuestas en forma radial en su parte central. Morfológicamente el fruto se divide en tres partes (Figura 4), la cáscara de la naranja está formada por el exocarpo (flavedo), capa externa de la cáscara delgada no amarga, y mesocarpo (albedo) que se localiza inmediatamente debajo del epicarpio, es una capa interna esponjosa de color blanco. El endocarpo es la parte comestible del fruto, corresponde a la porción interior de los carpelos, los cuales son segmentos cerrados que contienen vesículas con jugo y semillas (Davies y Albrigo, 1994).

Se consume como fruta fresca, y se emplea para hacer postres y ensalada. En la repostería se utiliza tanto el jugo como la cáscara. En la agroindustria es insumo para la elaboración de jugos. También se obtienen aceites esenciales y pectina con la extracción de jugo (SIAP, 2016).



Figura 4. Morfología de la naranja, exocarpo, mesocarpo y endocarpo. Tomado de: Megías y Molist, 2018.

La naranja es rica en vitamina C, que interviene en la formación de colágeno, huesos, dientes, glóbulos rojos y favorece la absorción de hierro de los alimentos,

produce resistencia a las infecciones, es fuente de folatos que contribuye a la formación normal de las células sanguíneas. Además, las naranjas aportan carotenoides y posee actividad provitamínica (principalmente β -criptoxantina). También contiene otros carotenoides sin actividad provitamínica, como la luteína y la zeaxantina. Las naranjas son ricas en flavonoides. En la Tabla 5 se presenta la composición por 100 g de porción comestible de naranja (Monreal, 2018).

Tabla 5. Composición nutricional de la naranja por 100 g de porción comestible

Nutrientes	Naranja con cáscara	Naranja sin cáscara
Componentes principales (g)		
Agua	82.30	86.75
Proteínas	1.3	0.94
Lípidos totales	0.30	0.12
Cenizas	0.60	0.44
Azúcares totales	- - - -	9.35
Minerales (mg)		
Calcio	70	40
Hierro	0.80	0.10
Magnesio	14	10
Fósforo	22	14
Potasio	196	181
Sodio	2	0
Zinc	0.11	0.07
Cobre	0.057	0.045
Vitaminas (mg)		
Vitamina C	71.0	53.2
Tiamina	0.100	0.087

Tomado y modificado de: Monreal, 2018; USDA, 2007.

La naranja es un cultivo de tipo perenne. Su producción comercial se da en regiones de clima tropical y subtropical (Davies y Albrigo, 1994). Los principales factores que influyen en su cultivo son la temperatura, la humedad relativa, la luminosidad y el suelo. De estos elementos, la temperatura durante el desarrollo del fruto es el que tiene mayor efecto en la calidad de la naranja. El árbol de naranjo presenta moderada resistencia al frío y requiere de temperaturas cálidas durante el verano para una maduración correcta del fruto. En general, las especies de cítricos pueden crecer y fructificar en un rango de 10 a 40°C de temperatura, y en

forma óptima de 24 a 32°C (Samaniego *et al.*, 2004). Los suelos destinados al cultivo de cítricos deben ser de textura liviana a media. El cultivo en un suelo de textura pesada presenta un drenaje lento, lo que da lugar a la proliferación de enfermedades causadas por hongos y un crecimiento lento de las plantas. Los valores de pH en suelo de 5.5 a 6 se consideran óptimos para el desarrollo del naranjo, si bien un rango de valores pH de 4 a 9 es aceptable (Molina, 2000).

La naranja es la fruta de mayor importancia económica en México, tanto por la superficie que se destina para su cultivo, como por el volumen de la producción y por el consumo interno. En el año 2007, cerca del 30 % de la superficie cosechada en el sector frutícola correspondió a este cítrico. De igual manera, el volumen de producción de naranja conformó casi un 30 % de la producción nacional de frutas (SIAP, 2016).

México ocupa el quinto lugar como productor mundial de naranja, las principales entidades productoras de este cítrico son Veracruz, quien aporta el 44.5% del volumen nacional; Tamaulipas 14.6%, y San Luis Potosí 8.8%, estados que conjuntan el 67.9% del total cosechado en el país, también se produce en los estados de Nuevo León, Puebla, Yucatán, Sonora, Tabasco, Hidalgo, Oaxaca entre otros. El valor de la producción de naranja en México se estima en más de 6 mil millones de pesos, con un consumo anual per cápita de 37 kg y aporta el 22% del volumen de frutas que son producidas en nuestra nación (SIAP, 2016).

2.7 Microorganismos presentes en jugos de frutas

Los jugos de frutas son matrices que contienen agua, carbohidratos, ácidos orgánicos, vitaminas y elementos traza, lo cual los convierte en medios apropiados para el crecimiento de microorganismos. Estas condiciones permiten principalmente el desarrollo de bacterias acidúricas, mohos y levaduras, las cuales ocasionan el deterioro del producto. Entre las alteraciones que pueden producir se encuentran la generación de sabores y olores extraños, la fermentación y el agriado plano, entre otros (Battey *et al.*, 2002).

En la Tabla 6 se muestran algunos de los géneros de bacterias, levaduras y mohos que comúnmente se encuentran en frutas y productos derivados.

Tabla 6. Géneros de microflora comúnmente presente en frutas y jugos de frutas.

Bacterias	Levaduras	Mohos
<i>Acetobacter</i>	<i>Brettanomyces</i>	<i>Byssochlamys</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Paecilomyces</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>Neosartorya</i>
<i>Gluconobacter</i>	<i>Torulopsis</i>	<i>Talaromyces</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Candida</i>	<i>Aureobasidium</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Schwanniomyces</i>	<i>Cladosporium</i>
<i>Saccharobacter</i>	<i>Torulaspota</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Zymomonas</i>		<i>Eupenicillium</i>
<i>Zymobacter</i>		

Tomado de: Vasavada, 2003.

Durante la elaboración de jugos se realizan procedimientos que eliminan o reduzcan el número de microorganismos presentes hasta niveles aceptables. Esto permite no solamente asegurar la inocuidad del producto, sino también reducir la velocidad de su deterioro. Para aseverar que los jugos cumplen con los criterios estipulados en los reglamentos correspondientes y para cuantificar la efectividad de los procesos para el control microbiológico, se realizan recuentos como el de bacterias mesófilas aerobios y de mohos y levaduras. Además, se efectúan otros análisis para determinar la ausencia o presencia de patógenos específicos como por ejemplo *E. coli* y *Salmonella* spp (Maturin y Peeler, 2001).

2.8 Métodos combinados o tecnologías de obstáculos

En la actualidad, se busca la combinación de dos o más factores que controlen la población microbiana de los alimentos, evitando la aplicación de un solo factor de conservación en forma severa (Alzamora y López, 2002). A esta combinación de factores se le ha denominado tecnología de obstáculos o de barrera. Se combinan inteligentemente factores de conservación que representan obstáculos para el crecimiento microbiano, ya que interaccionan de forma aditiva o sinérgica, lo que permite tener una estabilidad durante el almacenamiento y al aplicar los factores en

dosis bajas se logra tener un efecto antimicrobiano mayor que provoca una menor pérdida de calidad sensorial que si se aplicara un solo factor en forma severa para lograr el mismo fin (Leistner, 2006). Por ejemplo: elaborar conservas de hortalizas aplicando un escaldado y adicionando sustancias químicas como ácido cítrico, láctico y acético, permite la conservación del alimento, estos métodos combinados, también se emplean para la conservación de néctares (Fernández y Sluka, 2005). Los obstáculos comúnmente usados en la preservación de alimentos se muestran en la Figura 5.

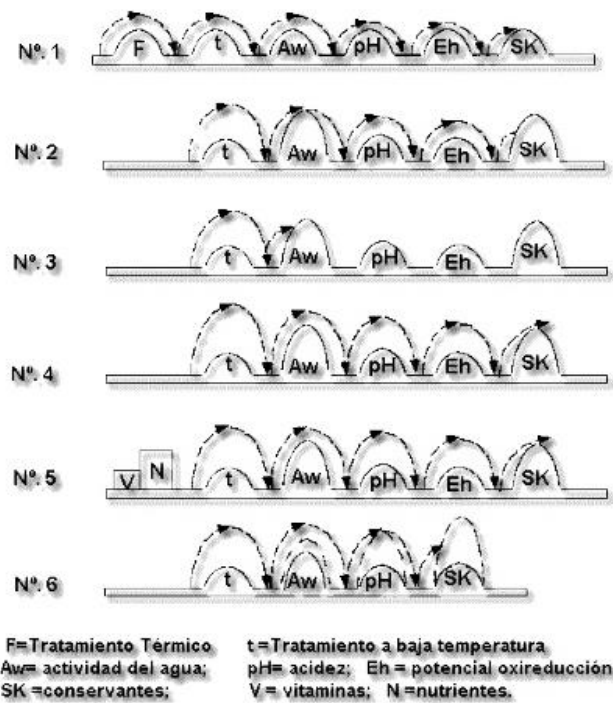


Figura 5. Estabilidad de alimentos basados en el efecto obstáculo. Tomado de: Leistner, 2000.

Cada vez es más común el combinar tecnologías emergentes y otros métodos de barrera, lo anterior se fundamenta en la existencia de un efecto aditivo y/o sinérgico entre los diferentes mecanismos de inactivación y de esta manera, es posible potenciar su acción antimicrobiana y preservar características de calidad fisicoquímicas, nutricionales y sensoriales de los productos. Un efecto aditivo es un efecto combinado de dos o más sustancias que equivalen a la suma de los efectos

aislados de cada una de ellas. Cada sustancia realiza sus acciones como si no existiera la otra. Mientras que un efecto sinérgico supone la combinación de dos o más sustancias que es mucho mayor que la suma de los efectos de cada sustancia en forma individual (Caminiti *et al.*, 2012).

3. Justificación

Hoy en día la demanda de productos frescos mínimamente tratados está aumentando, esta alza trae consigo la necesidad de aplicar métodos de conservación que aumenten la vida útil de los alimentos. De forma particular, la aplicación de métodos de conservación en alimentos frescos y listos para el consumo como los jugos, exigen la aplicación de técnicas que logren mantener la inocuidad del alimento, así como su calidad. Si bien, los tratamientos térmicos han sido la principal vía para producir alimentos seguros para el consumidor, la aplicación de tecnologías y/o métodos combinados es hoy en día una alternativa, en particular la luz ultravioleta de onda corta, que es una tecnología que reduce la carga microbiológica de los alimentos sin afectar las características sensoriales de los mismos; sin embargo, la adición de extractos naturales puede ser de gran utilidad debido a que pueden alargar la vida en anaquel de los alimentos. Dado lo anterior, la combinación métodos que interaccionen de forma aditiva o sinérgica puede ser una alternativa para el procesamiento de jugos frescos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue aplicar métodos combinados para aumentar la vida útil del jugo de naranja.

4. Objetivos

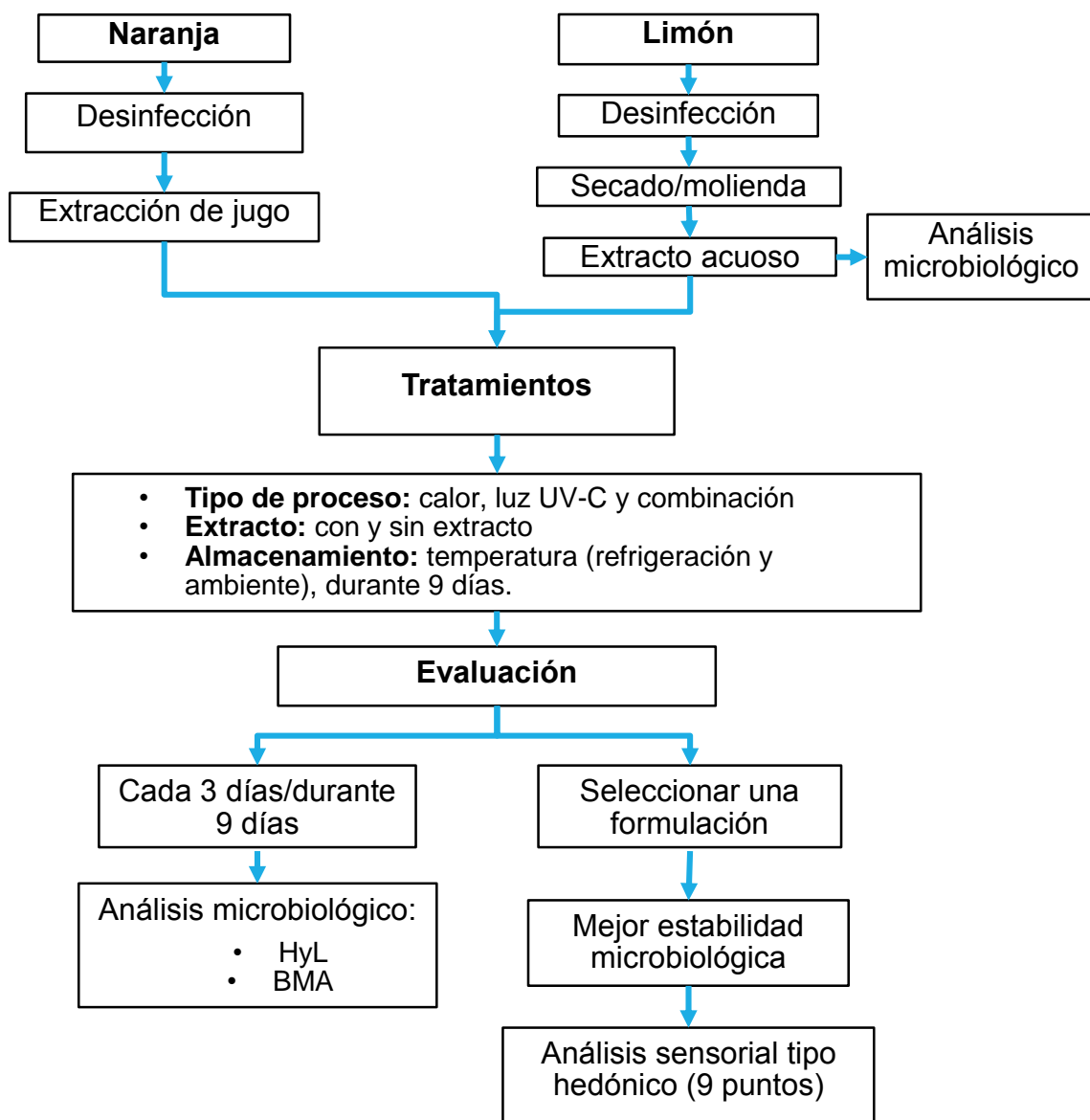
4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de métodos combinados sobre la flora nativa de jugo de naranja fresco y durante el almacenamiento.

4.2. Objetivos particulares

- Obtener un extracto acuoso de limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka) y realizar su análisis microbiológico.
- Evaluar el efecto de irradiación de luz UV-C y/o tratamiento térmico sobre la flora nativa de jugo de naranja.
- Evaluar el efecto de la aplicación de luz UV-C, tratamiento térmico y/o extracto de limón sobre la flora nativa de jugo de naranja almacenado en refrigeración y temperatura ambiente.
- Realizar una prueba sensorial del jugo de naranja tratado con mejor estabilidad microbiana.

5. Diagrama general de trabajo.



6. Materiales y métodos

- Material de vidrio el necesario para cada determinación.
- Material biológico: naranjas (*Citrus sinensis*) variedad Valencia y limones persa o sin semilla (*Citrus latifolia*), sin magulladuras o contaminación evidente.
- Reactivos los necesarios para cada determinación, grado analítico o alimenticio.

En la Tabla 7 y 8 se muestran los métodos y equipos que se emplearon en este trabajo.

Tabla 7. Métodos y referencias utilizadas.

Determinación	Técnica	Referencia
Análisis microbiológico	Método de conteo para bacterias mesófilas aerobias en placa	NOM-092-SSA1-1994
	Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos	NOM-111-SSA1-1994
Análisis sensorial	Evaluación hedónica	Wichchukit y O'Mahony, 2014

Tabla 8. Equipos utilizados.

Equipo	Marca	Modelo
Deshidratador	Excalibur food dehydrater	3926TB
Balanza analítica	Pioneer™ OHAUS	PA224C

Parrilla de calentamiento y agitación	Cimarec	Thermolyne
Autoclave	CISA	A6-25
Lámpara de luz UV-C	Stenner pump Company	170MD5
Vortex	IKA	VORTEX3
Bomba de bajo vacío	Felisa	FE-1500

7. Metodología

7.1. Obtención de la materia prima.

El trabajo se realizó con naranjas (*Citrus sinensis*) variedad Valencia las cuales fueron obtenidas de un supermercado local, seleccionadas tomando en cuenta algunos criterios: madurez firme y libre de contaminación evidente; posteriormente se lavaron con agua potable y se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 100 ppm. De las naranjas se obtuvo el jugo y posteriormente se utilizó.

7.2. Obtención del extracto de limón y análisis microbiológico.

Se utilizaron limones persa o sin semilla (*Citrus latifolia*) se lavaron, desinfectaron y se cortaron en rebanadas para después ser deshidratados a una temperatura de 60°C durante 24 h, posteriormente, la cáscara y la pulpa fueron sometidas a un proceso de molienda, obteniendo un tamaño de partícula de 350 µm, el polvo se guardó en un frasco limpio y protegido de la luz.

Se preparó una mezcla acuosa con el polvo de limón (1:25), la cual se filtró y analizó microbiológicamente para garantizar que estuviera libre de microorganismos, se determinó la presencia de bacterias mesófilas aerobias (BMA), hongos y levaduras (H y L) se empleó la técnica de vertido en placa. Las cajas Petri fueron incubadas a 37°C por 24 h para BMA y para H y L se incubaron a 28°C durante 72 h. Finalmente, se cuantificó la población microbiana.

7.3. Tratamientos aplicados

Se aplicaron dos tipos de tratamientos: luz UV-C y tratamiento térmico de 50°C. Se utilizó un reactor tipo espiral que administra calor y radiación UV-C (Figura 6).

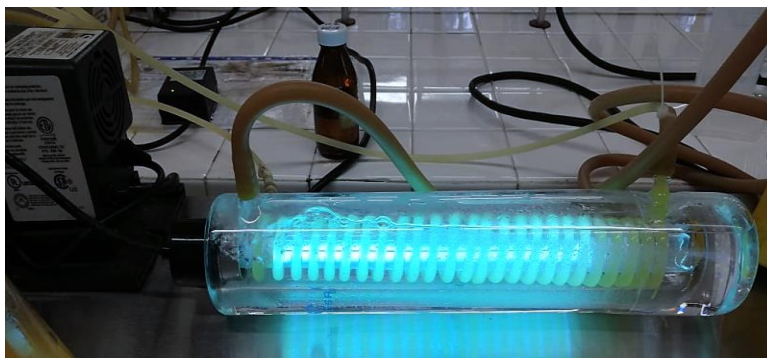


Figura 6. Reactor tipo espiral.

En la Tabla 9 se muestra la combinación de tratamientos aplicados, la irradiación con luz UV-C y el tratamiento con calor se realizaron cada uno durante 5 min, una vez aplicados los tratamientos se almacenó el jugo de naranja en frascos estériles y se adicionó 1 mL del extracto de limón a una concentración de 1000 ppm. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4°C y a temperatura ambiente, durante 10 días. Se elaboraron dos controles que consistieron en mezclar jugo de naranja fresco con o sin adición de extracto de limón.

Tabla 9. Tratamientos aplicados al jugo de naranja

Sistemas	Tratamientos							
	Jugo fresco		Luz UV-C		Calor		Luz UV + Calor	
1-2	Sin extracto	Con extracto						
3-4			Sin extracto	Con extracto				
5-6					Sin extracto	Con extracto		
7-8							Sin extracto	Con extracto

7.4. Análisis microbiológico

De los sistemas preparados se evaluó la población de bacterias mesófilas aerobias (BMA) y hongos y levaduras (H y L). El análisis de estos microorganismos se llevó a cabo como lo descrito en el apartado 7.2.

7.5. Análisis sensorial

Finalmente, al sistema que presentó la menor carga microbiana se le realizó un análisis sensorial empleando una prueba de nivel de agrado de tipo hedónico, con una escala de 9 puntos, considerando el menor valor como me disgusta mucho, mientras que el valor de 9 se consideró como me gusta mucho. La prueba se realizó comparando el jugo fresco y el tratado durante 10 días de almacenamiento. La boleta utilizada se muestra en la Figura 7, esta evaluación se realizó a 100 personas no entrenadas, en una edad comprendida entre 18 a 40 años. El atributo evaluado fue sabor. A continuación, en la Figura 7 se muestra la boleta utilizada.

Prueba de nivel de agrado escala estructurada	
Nombre:	Producto: Jugo de naranja
Pruebe por favor las muestras e indique su nivel de agrado marcando con una "X" en la escala que mejor describe su sentir.	
Código de muestras:	_____
Me gusta muchísimo	_____
Me gusta mucho	_____
Me gusta moderadamente	_____
Me gusta poco	_____
No me gusta ni me disgusta	_____
Me disgusta poco	_____
Me disgusta moderadamente	_____
Me disgusta mucho	_____
Me disgusta muchísimo	_____

Figura 7. Boleta del nivel de agrado en escala estructurada.

7.6. Análisis estadístico

Todas las determinaciones fueron hechas por duplicado, cada determinación se realizó dos veces. Los resultados de la evaluación de cada tratamiento fueron analizados mediante un ANOVA usando el programa minitab 18 (Minitrab Inc. PA,

USA). Se empleó una prueba de Tukey ($\alpha=0.05$) para determinar diferencias significativas.

8. Resultados y Discusión

8.1. Análisis microbiológico del extracto de limón.

Para poder evaluar el efecto del extracto de limón sobre la flora nativa del jugo de naranja, fue necesario realizar un análisis microbiológico, los resultados mostraron que no hubo crecimiento ni de bacterias mesófilas aeróbicas ni de hongos y levaduras.

8.2. Evaluación del efecto de irradiación de luz UV-C y/o tratamiento térmico sobre la flora nativa de jugo de naranja.

La figura 8 muestra los resultados del efecto de la luz UV-C y calor sobre la población de bacterias mesófilas aeróbicas, mientras que la figura 9 muestra la población de hongos y levaduras.

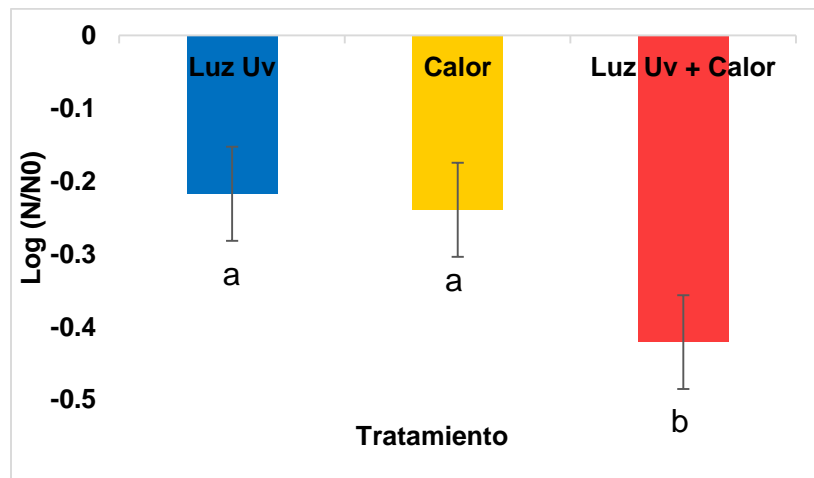


Figura 8. Efecto de los tratamientos de luz UV-C, tratamiento térmico y combinación, sobre la población de bacterias mesófilas aeróbicas en jugo de naranja.

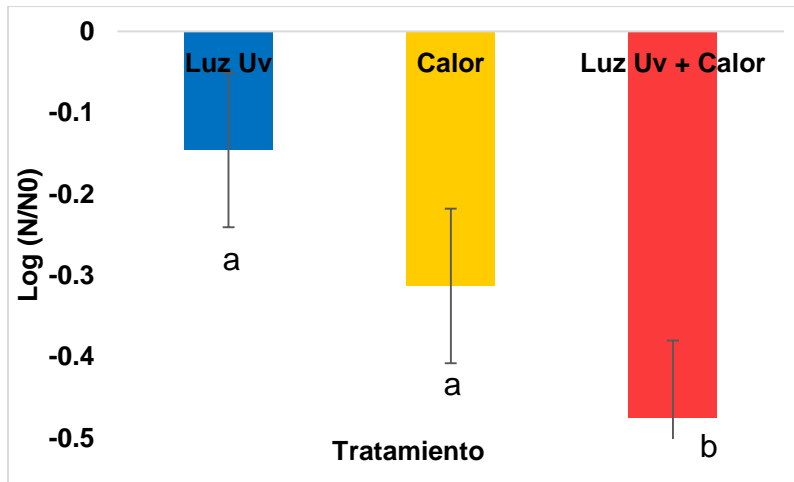


Figura 9. Efecto de los tratamientos de luz UV-C, tratamiento térmico y combinación, sobre la población de hongos y levaduras en jugo de naranja.

Se observa que los tratamientos aplicados generaron una reducción mínima en la flora nativa del jugo de naranja. La población de bacterias mesófilas aerobias se redujo 0.21 log con la aplicación de luz UV-C y 0.23 log con calor, mientras que cuando se aplicaron ambos tratamientos se redujo la población 0.42 log, al respecto Gayán y Álvarez (2012) mencionaron que la aplicación de luz UV aumenta su eficacia letal contra bacterias patógenas como *Salmonella*, al combinarse con temperaturas moderadas (50-60°C), generando un efecto sinérgico entre ambas tecnologías. Para el caso de hongos y levaduras el tratamiento de luz UV-C generó una reducción 0.14 log, el de calor redujo 0.31 log, y la combinación de ambos tratamientos 0.47 log. A pesar de que la reducción de ambos grupos de microorganismos fue mínima con los tratamientos aplicados, se ha reportado que los organismos eucariotas son más resistentes que los procariotas; y que los hongos, por ejemplo, resisten una dosis de radiación superior a la requerida para conseguir el mismo porcentaje de destrucción que las bacterias. Por otro lado, se menciona que las esporas son menos sensibles a la radiación UV que los respectivos micelios, esto se debe a la estructura de las células (Valea, 1998).

8.3. Evaluación del efecto de la aplicación de luz UV-C, tratamiento térmico y/o extracto de limón sobre la flora nativa de jugo de naranja.

8.3.1. Almacenamiento a temperatura ambiente

En la figura 10 y 11 se muestran los resultados de la carga microbiana de bacterias mesófilas aerobias y de hongos y levaduras respectivamente de jugo de naranja tratado y almacenado a temperatura ambiente.

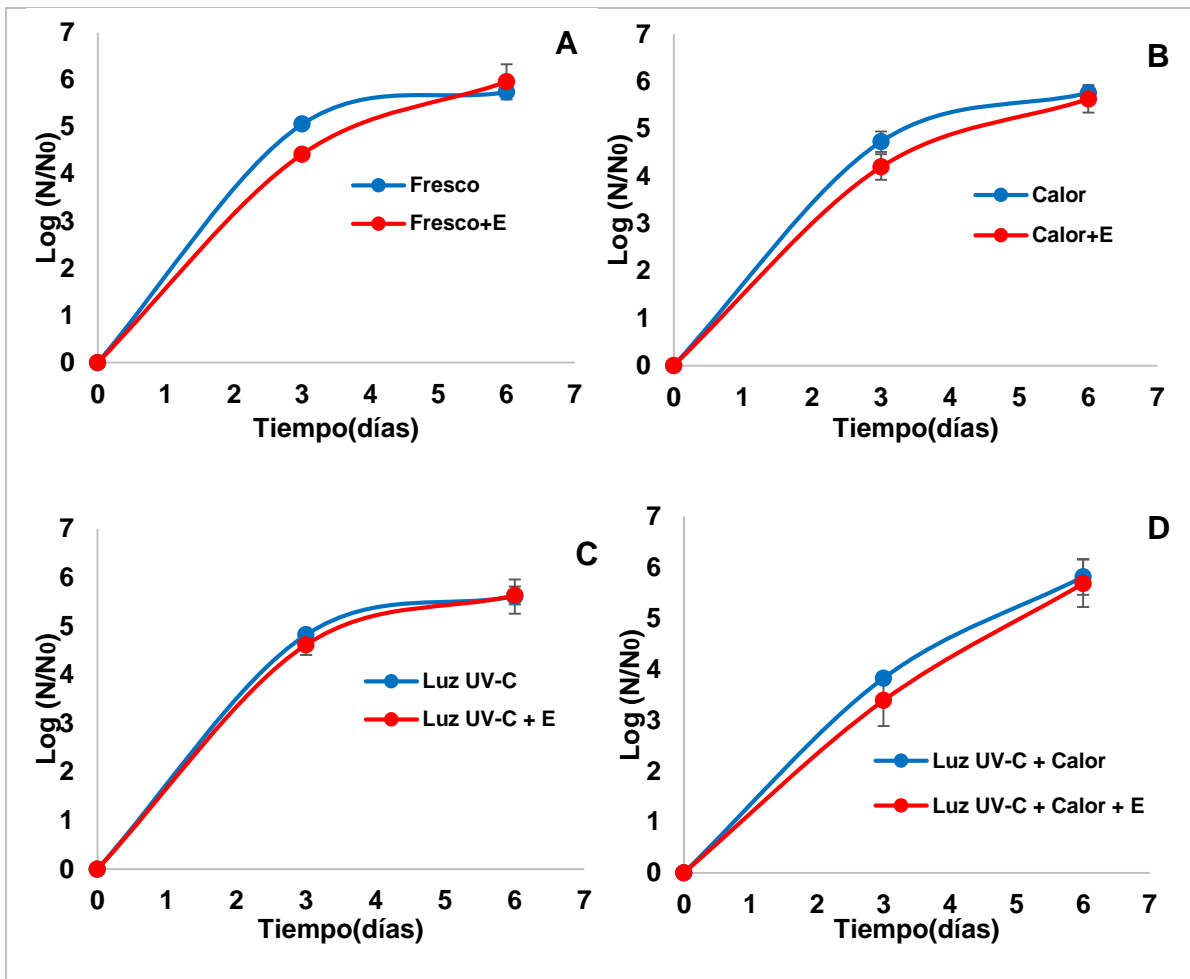


Figura 10. Evaluación de la población de bacterias mesófilas aerobias en jugo de naranja fresco (A), tratado con calor (B), luz UV-C (C), combinación de luz UV-C y calor (D), adicionado con extracto de limón y almacenado a temperatura ambiente.

En la figura 10 se observa un incremento de la población de bacterias mesófilas aerobias en el jugo fresco, tratado y adicionado con y sin extracto de limón, es decir no hay un efecto de los tratamientos aplicados ni de la adición del extracto de limón. Por otro lado, se observa también aumento de la población de hongos y levaduras

(figura 11), la figura 11 B muestra que la población de H y L aumentó entre 3.9 y 4.4 log al cabo de 6 días de almacenamiento, la figura 11 D presentó el menor crecimiento de H y L, es decir hay un probable efecto sinérgico de los tratamientos aplicados (calor más luz UV-C), alcanzando después de 6 días entre 3.5 y 4 log. Vasavada y Heperkan (2002) reportaron que los jugos de frutas pueden presentar poblaciones de levaduras entre 3 y 5 log, en este trabajo los tratamientos con calor, luz UV-C y combinación de ambos aplicados en el jugo de naranja, están dentro de lo reportado.

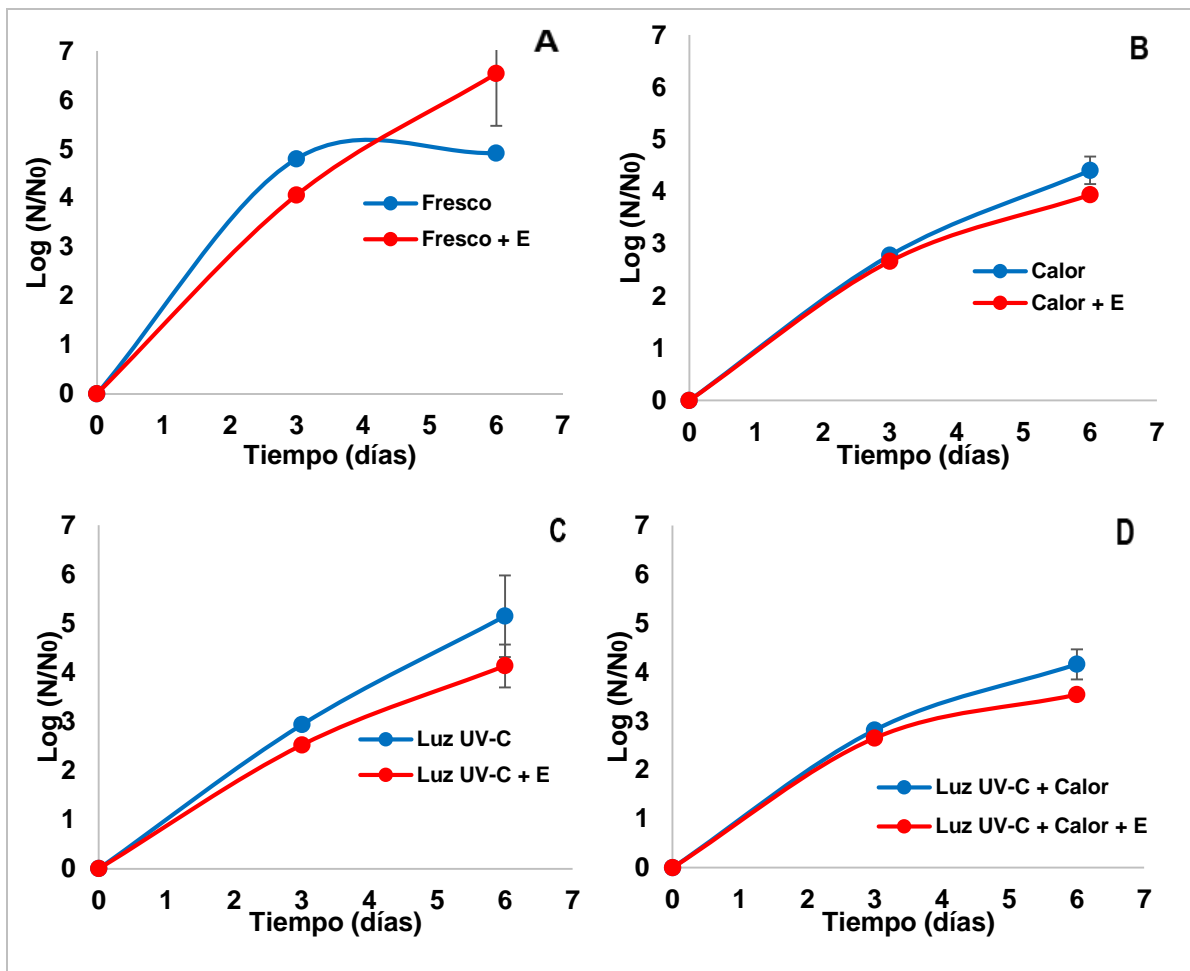


Figura 11. Evaluación de la población de hongos y levaduras, en jugo de naranja fresco (A), tratado con calor (B), luz UV-C (C), combinación de luz UV-C y calor (D), adicionado con extracto de limón y almacenado a temperatura ambiente.

8.3.2. Almacenamiento en refrigeración.

Cuando se analizaron los resultados del jugo de naranja tratado y almacenado a temperatura de refrigeración, se observó que el extracto de limón no presentó un efecto significativo sobre la carga microbiana tanto de BMA como de H y L, por lo que se decidió presentar únicamente los promedios del jugo con y sin extracto de cada tratamiento. En la figura 12 se presenta la carga microbiana de bacterias mesófilas aerobias presentes en jugo de naranja tratado, sin tratar y almacenado en refrigeración.

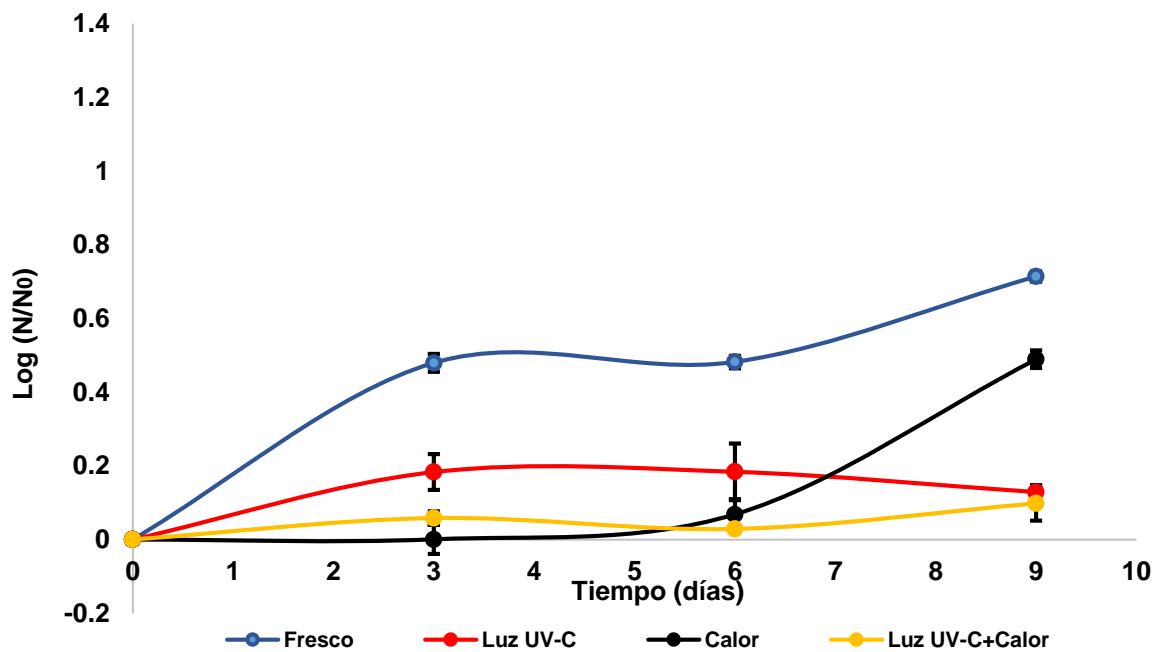


Figura 12. Evaluación de la carga de bacterias mesófilas aerobias en jugo de naranja fresco, tratado con luz UV-C, calor y la combinación de luz UV-C más calor y almacenado en refrigeración.

En este caso se observa que la temperatura de almacenamiento (4°C) en conjunto con los diversos tratamientos disminuyeron la población de BMA comparados con los jugos almacenados a temperatura ambiente, además se observa una menor población de BMA en los jugos tratados respecto al jugo fresco. La carga microbiana del jugo tratado con luz UV-C y la combinación de luz UV-C más calor presentaron a partir del día 5 una disminución de la población.

Torkamani y Niakousari (2011) demostraron que el tratamiento de luz UV-C aumenta la vida de anaquel de jugos de 2 a 7 días, a pesar de que en este estudio la población de BMA no se eliminó completamente con los tratamientos aplicados, se puede considerar que la luz UV-C más calor podrían prolongar la vida útil del jugo durante más de 5 días a una temperatura de almacenamiento de 4°C, lo cual confirma que las condiciones de almacenamiento en este tipo de productos son muy importantes para prolongar la vida útil. Por otro lado, en la figura 13 se presenta la población de hongos y levaduras.

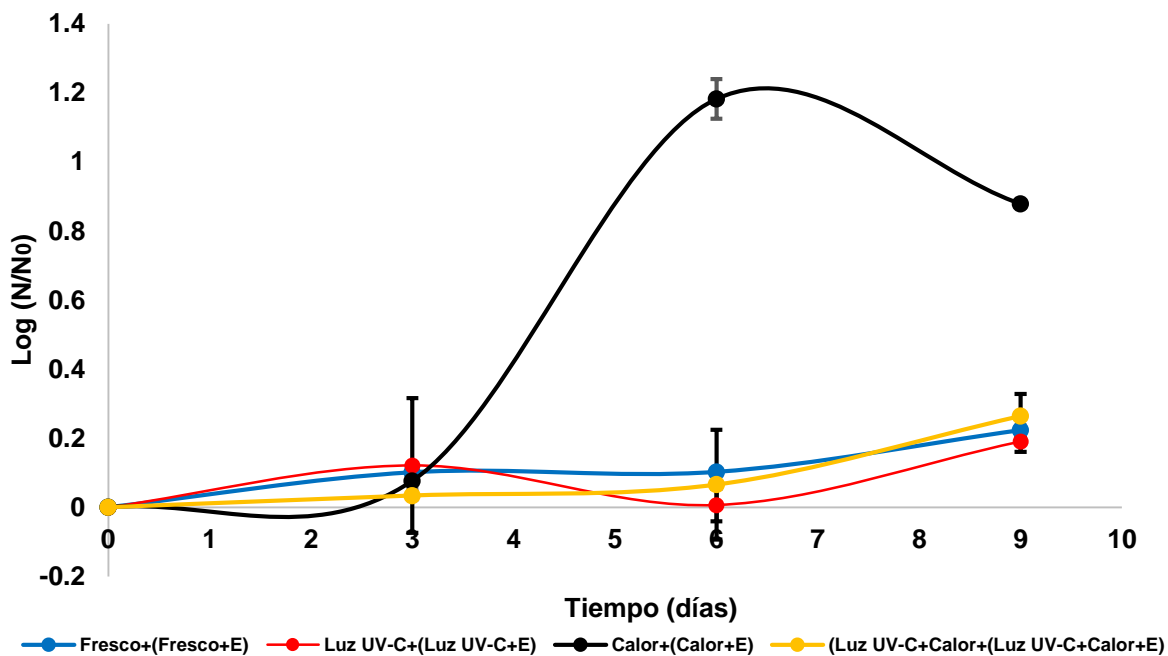


Figura 13. Evaluación de la carga de hongos y levaduras en jugo de naranja fresco, tratado con luz UV-C, calor y la combinación de luz UV-C más calor y almacenado en refrigeración.

En la figura 13 se observa que la población de hongos y levaduras se mantuvo estable durante el almacenamiento a excepción del jugo fresco, los jugos tratados se presentan poblaciones menores a 0.5 log hasta el día 9, en cambio el jugo fresco presentó un aumento de la población después del día 6. Los resultados de este trabajo son similares a los reportados por

Tran y Farin (2004) quienes mencionan que la población de H y L se controla en jugo de naranja tratado luz UV-C manteniendo su vida útil durante 5 días, además, muestran cierta efectividad de los tratamientos aplicados contra H y L, debido a que algunas investigaciones mencionan que el deterioro que se produce en jugos de cítricos en refrigeración es debido a levaduras como la *Sacharomyces cerevisiae* (Alwazeer *et al.*, 2002), además de que su presencia produce afectación en el sabor (Swanson, 1989).

8.4. Prueba sensorial del jugo de naranja con mejor estabilidad microbiana.

En la figura 14 se presenta el análisis sensorial que se realizó a la formulación con mayor estabilidad microbiana, la cual fue jugo de naranja tratado con luz UV-C más calor más extracto de limón (1000 ppm) durante 9 días de almacenamiento a 4°C, se observa una mayor puntuación para este con un promedio de 6.97 mientras que el jugo fresco obtuvo un 6.75.

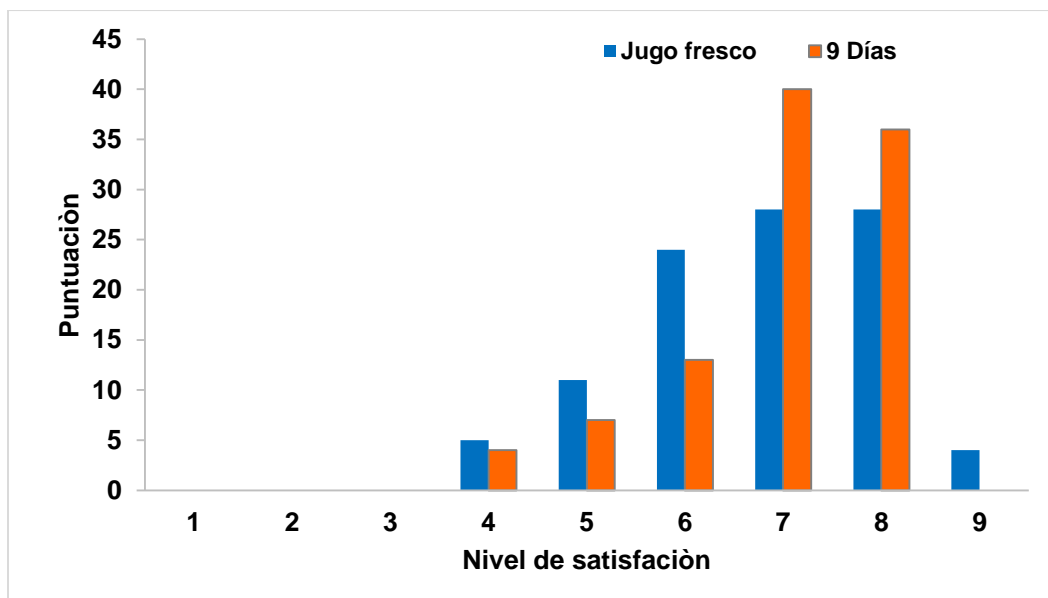


Figura 14. Evaluación sensorial del nivel de satisfacción del jugo de naranja fresco y jugo tratado y almacenado por 9 días.

*(1) me disgusta muchísimo (2) me disgusta mucho (3) me disgusta moderadamente (4) me disgusta poco (5) no me gusta ni me disgusta (6) me gusta poco (7) me gusta moderadamente (8) me gusta mucho (9) me gusta muchísimo

En base a los resultados, se determinó que los tratamientos aplicados al jugo de naranja no modifican su sabor, ya que su porcentaje de aceptación con respecto al fresco no es significativo. El trabajo realizado por Tandon *et al.*, (2003) llegaron a la misma conclusión acerca de la preferencia de una sidra de manzana fresca y una tratada.

9. Conclusiones

- El extracto de limón no presento carga de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras
- La adición de extracto de limón no influyó en la reducción de la flora nativa de jugo de naranja.
- La aplicación de luz UV-C y calor en jugo de naranja, presentó un efecto sinérgico sobre la carga de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras.
- La combinación luz UV-C, calor, extracto de limón y refrigeración aplicados al jugo de naranja generaron un mayor efecto en la reducción de BMA y HyL respecto al jugo fresco.
- La vida útil del jugo de naranja tratado por métodos combinados se estima en 9 días.
- El análisis sensorial mostró que los métodos combinados aplicados al jugo de naranja presentan una buena aceptación en la población, lo cual puede ser considerado como aceptable.

10.Recomendaciones

- Realizar el análisis sensorial con jueces entrenados.
- Evaluar el comportamiento de levaduras específicas en el jugo de naranja para determinar la efectividad de los métodos combinados empleados.
- Utilizar otro tipo de extractos naturales para evaluar su efecto antimicrobiano, en combinación con los tratamientos usados.

11.Referencias

Acevedo, B., Montiel, M., y Avanza, J. (2004). Estudio cinético de la degradación de la actividad antioxidante hidrosoluble de jugos cítricos por tratamiento térmico. FACENA. 91-95.

Alzamora, S., y López, A. (2002). Microbial behavior modeling as a tool in the design and control of minimally processed foods. En: Welti, J., Barbosa, G. Aguilera, J. (Eds.). Engineering and food for the 21st century. Nueva York. Pag: 631-650.

Alwazeer, D., Cachon, R., y Divics, C. (2002). Behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae* in fresh and thermally processed orange juice. Journal of Food Protection 65(10): 1586-1589.

American Dietetic Association. (2009). Position of the American Dietetic Association:Functional foods. Revista: American dietetic association. 109(4):735-746.

Annunziata, A., y Vecchio, R. (2011). Factors affecting Italian consumer attitudes toward functional foods. Revista de agrobiotecnología. Pag: 20.

Argaiz, A., López, A., Jiménez, T., Ramírez, M., y Milacatl, V. (2004). Thermal treatments optimization of mango nectar and puree products. International Conference of Engineering and Food. 1- 6.

Batthey, S., Duffy, S., y Schaffner, W. (2002). Modeling yeast spoilage in cold-filled ready-to- drink beverages with *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii* and *Candida lipolytica*. Revista Applied and Environmental Microbiology. 68: 1901-1906.

Beuchat, L., y Golden, D. (1989). Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technology. 43(1):134-142.

Beuchat, L. (2001). Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. *Microbial Food Contamination*. CRC Press. London, UK. Pag: 149-169.

Blanchard, J. (2000). Los antimicrobianos naturales refuerzan la seguridad en los alimentos. Consultado: 18/05/2019. Disponible en: <http://www.directoalpaladar.com/2006/10/28-los-antimicrobianos-naturales-refuerzanla-seguridad-en-los-alimentos>.

Bolton, J. R. y Cotton, C. (2001). *Ultraviolet Applications Handbook*. Segunda edición. American Water Works Association, EE.UU. 168 p.

Caminiti, I., Noci, F., Morgan, D., Cronin, D., y Lyng, J. (2012). The effect of pulsed electric fields, ultraviolet light or high intensity light pulse un combination with manothermosonication on selected physico-chemical and sensory attributes of an orange and carrot juice blend. *Articulo: food and bioproducts processing*. 90(3): 442-448.

Cerutti, M., y Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención de aceite esencial de limón. *INVENIO*. 149-155.

Chemat, F., Zill, H., y Kamran, M. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Artículo: Ultrasonic Sonochemistry*. 18:813-835.

Crandall, P., Ricke, S., Bryan, C., y Parrish, N. (2012). In vitro effects of Citrus oils against *Mycobacterium tuberculosis* and non tuberculosis *Mycobacterium* of clinical importance. *Journal of Health*, 47(7), 736-741.

Davies, F., y Albrigo, L. (1994). Citrus. *Crop Production Science in Horticulture*. CAB International, Gran Bretaña. 52-82, 202-224.

Davidson, P., y Branen, A. (1993). Antimicrobials in foods. Tercera edición. Taylor y Francis Group, Boca Raton. Pag: 2-10.

Domínguez, L., y Parzanese, M. (2011). Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. Revista Alimentos Argentinos. 71-76.

Enachescu, M. (1995). Fruit and vegatble processing. FAO, Roma.

Escobar, J., y Vanegas, M. (2002). Guía técnica cultivo del limón pérsico: usos y propiedades. Consultado el: 24/06/2019. Disponible en: <http://repositorio.iica.int/bitstream/11324/7365/1/BVE19039652e.pdf>.

FDA (Food and Drug Administration). (2000). 21 CFR Part 179. Irradiation in the production, processing and handling of food. Registro federal, 65, 71056– 71058.

Fernández, E., y Sluka, E. (2005). Métodos de conservación de alimentos. Consultado el: 24/06/2019. Disponible en: https://universidad-une.com/contenido/b7e465255_archivo_guia_estudio.pdf.

Fornaguera, J., y Gómez, G. (2007). Bioquímica. EUNED, San José. Pag: 226-228.

Gayán, E., y Álvarez, I. (2012). Optimización de un proceso combinado de luz uv y calor para la higienización de caldos vegetales. Consultado el: 24/10/2019. Disponible en: <https://previa.uclm.es/area/cta/cesia2012/cd/PDFs/2-MOD/MOD-O04T.pdf>.

González, C. (2001). Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. Ambiental Socoter. Consultado el: 29/04/2019. Disponible en: http://www.ambientalsocoter.cl/008_Luz%20UltravioletaDesinfAguayAire.pdf.

Girón, W. (2008). Antimicrobianos. Consultado el: 25/10/2019. Disponible en: <http://cidbimena.desastres.hn/RFCM/pdf/2008/pdf/RFCMVol5-2-2008-11.pdf>.

Guerrero, A., y Barbosa, G. (2004). Advantages and limitations on processing foods by UV-C light. *Food Science and Technology International*. 10(3): 137.

Herrero, A., y Romero, M. (2006). Innovaciones en el procesado de alimentos: Tecnologías no térmicas. *Revista de Medicina de la Universidad Navarra*. 71-74.

Jagger, J. (1967). *Introduction to research in ultraviolet photobiology*. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice-Hall Inc.

Khan, M., Huma, E., y Dangles, O. (2014). A comprehensive review on flavanones, the, major citrus polyphenol. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33: 85-104.

Koutchma, T. (2009). Advances in ultraviolet light technology for non-thermal processing of liquid foods. *Food Bioprocess Technology*. 138-155.

Leistner, L. (2006). *Tecnologías Emergentes de Conservación de Alimentos, técnica*. Consultado: 15/10/2019. Disponible en: <http://www.alimentatec.com/muestrapaginas .asp-contenido-content=+pdf>.

Leonelli, C., y Mason, T. (2010). Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry. *Chemical Engineering and Processing*. Pag: 885.

LIT. (2017). *Tecnología de desinfección UV*. Consultado el: 05/07/2019. Disponible en: <https://www.lit-uv.com/es/technology/>.

López, A., y Palou, E. (2005). Multifactorial fungal inactivation combining thermosonication and antimicrobials. *Revista de ingeniería de alimentos*. Pag: 87-93.

López, A. (2000). La preservación multiobjetivo de Alimentos: Efecto de Factores Tradicionales y Emergentes en la Respuesta de *Aspergillus flavus*. Consultado: 14/09/2019. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/8361/05ef638e10ae031671a76acccc3bd2d33008.pdf>.

Maturin, L., y Peeler, J. (2001). Bacteriological analytical manual. Capitulo 3: aerobic plater count. Estados unidos. Consultado: 14/10/2019. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBam/ucm063346.html>.

Megías, M., y Molist, P. (2018). Organos vegetales fruto. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la salud. Consultado: 09/10/2019. Disponible en: <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/o-v-fruto.pdf>.

Mendonca, A. (2002). Inactivation by irradiation. Control of Foodborne Microorganisms. New York. CRC Press.

Mirrazavi, F. (2011). New science and technology achievements. Consultado: 7/11/2019. Disponible en: http://www.iranreview.org/content/Documents/New-Science_and_Technology.

Mohammad, S. (2007). Food Preservation: Overview. En: Handbook of Food Preservation. Second Edition. Food Science and Technology. CRC Press.

Molina, E. (2000). Nutrición y fertilización de la naranja. Informaciones Agronómicas. 40: 5-11.

Monreal, A. (2018). Naranja: propiedades, beneficios y valor nutricional. 2-3.

NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México, D.F. 10/11/1995.

NOM-111-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. México, D.F. 10/05/1995.

Ochoa, C., Luna, J., y Guerrero, J. (2011). Jugo de pitaya (*Stenocereus griseus*) tratado con luz ultravioleta. Conferencia. 8° Congreso Iberoamericano de Ingeniería de alimentos. Centro de convenciones del colegio medico de Perú, Lima. Perú. 23-26 Octubre.

Pelayo, M. (2009). Alternativas a los tratamientos térmicos para garantizar la seguridad de los alimentos. Ingeniería de Alimentos. 16-17.

Raybaudi, R., Fortuna, R., y Belloso, O. (2006). Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. Universidad de Leida Consultado: 24 de julio de 2019. Disponible en: http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf.

Raisman, J., y González, A. (1998). Acción de los agentes físicos sobre las bacterias. Consultado el: 06/07/2019. Disponible en: http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/17_micro.htm.

Rodríguez, E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos en la conservación de frutas y hortalizas. Consultado el: 11/09/2019. Disponible en: revista.unam.mx.

Roller, S., y Seedhar, P. (2002). Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4° and 8°C. Letters Appl. Microbiol. 35: 390-394.

Ruiz, E., Valero, T., Ávila, G., y Varela, G. (2012). Valor nutricional de los limones. Consultado el: 26/06/2019. Disponible en: http://www.ailimpo.com/documentos/Valores_nutricionales_Limones.pdf.

SAGARPA. (2016). Cítricos: Limón, naranja y toronja Mexicanos. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257073/Potencial-C_tricos-parte_uno.pdf.

Samaniego, J., Cabrera, F., Madrid, M., y Medina, V. (2004). Tecnología de producción de naranja y toronja. Memoria Jornada de Tecnología de Producción de Cítricos. Fundación Produce Sinaloa. México. Pág: 15.

Shama, G. (1999). Ultraviolet light. Encyclopedia of food microbiology. Academic press, Londres. Pag:2208-2214.

SIAP. (2016). Cítricos mexicanos, limón, naranja y toronja. Consultada el: 19/04/2019. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257073/Potencial-C_tricos-parte_uno.pdf.

Swanson, K.M.J. (1989). Microbiology and preservation. In Downing, D.L. (Ed). Processed apple product, p. 343-363. New York: Van Nostrand Reinhold.

Tandon, K., Worobo, R., Churley, J., y Padilla, O. (2003). Storage quality of pasteurized and UV-treated apple cider. Revista: Food processing preservation. 27:21-35.

Torkamani, A., y Niakousari, M. (2011). Impact of UV- C light on orange juice quality and shelf life. International Food Research. 1265-1268.

Tran, M., y Farid, M. (2004). Ultraviolet treatment of orange juice. Innovative Food Science Emerging Technology. 4: 495–502.

United States Department of Agriculture (USDA). (2007). National Agriculture Statistic Service. Consultado el: 26/06/2019. Disponible en: https://www.nass.usda.gov/Publications/Ag_Statistics/2007/index.php.

Valea, A. (1998). Radiación infrarroja y ultravioleta. Ed. McGraw Hill, España. 240, 241, 307-310.

Vasavada, P., (2003). Microbiology of fruit juice and beverages. En: Foster, T. y Vasavada, P. (Eds.). Beverage quality and safety. CRC Press, Boca Ratón, Florida.

Vasavada, P., y Heperken, D. (2002). Non-thermal alternative processing technologies for the control of spoilage bacteria in fruit juices and fruit based drinks. Food Safety Magazine 8(1)8: 10-13.