

Benemerita Universidad Autónoma de Puebla



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

“Innovación de subproductos de tuna variedad copena y cristal para desarrollo sostenible de la comunidad de San Sebastián Villanueva Acatzingo, Puebla”

TESIS PROFESIONAL

**Que para obtener el Título de:
Licenciatura en Ingeniería en Alimentos**

Presenta:

ARIANNA MEDINA RUIZ

Asesor de Tesis:

M.C. Teresita Jiménez Salgado

Coasesor M.C. Armando Tapia Hernández

Puebla, Pue. 2018

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer en estas líneas a muchas personas que han estado presentes durante este largo proceso de aprendizaje. A la maestra Teresita Jiménez quien con su experiencia, conocimiento y motivación me oriento en la realización de esta investigación y sobre todo al apoyo y amistad brindada en los momentos más difíciles de mi vida. Al maestro Armando Tapia por su valioso aporte durante este periodo gracias por haberme incluido al equipo de trabajo que conforman.

A mis padres Alejandro Medina y Guadalupe Ruiz por todo su amor, comprensión y esfuerzo, por ser mi pilar fundamental y que a pesar de todo me hayan permitido ser como soy y darme su apoyo incondicional. A mis hermanos Alejandro, Erika, Tony y Gerardo que además de ser mis mejores ejemplos de vida son una parte muy importante y por estar siempre dispuestos a ayudarme los quiero demasiado.

A mis mejores amigos y más cercanos Alma, Adriana, Sandra, Cadmiel, Kennet, Carlos, Erick que siempre estuvieron en contacto y a pesar de las diferencias de actividades han estado presentes en etapas importantes de mi vida. A Fredy una de las personas más importantes de mi vida gracias por siempre estar y ayudarme a encontrar mi camino. A mis compañeras de laboratorio Delia, Veredith, Beatriz, Olivia, Brenda y Alexia que bueno fue conocerlas y tener algo en común, y por compartir momentos que hicieron más divertido el laboratorio.

ABREVIATURAS

UFC: Unidades Formadoras de Colonias
ETA: Enfermedades Transmitidas por Alimentos
FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura o la Alimentación
BMA: Bacterias Mesófilas Aerobias
FTIR: Infrarrojo con transformada de Fourier
CG-MS: Cromatografía de Gases-Masas
NFb: Medio libre de Nitrogeno
HYL: Hongos y Levaduras
CT: Coliformes Totales
AA: Araquidónico
EPA: Eicosapentaenoico
DHA: Docosahexaenoico
BPCV: Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal
SPC: Recuento en Placas Normales
DMC: Recuento Microscópico Directos

INDICE

1. INTRODUCCION.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	3
4. OBJETIVOS.....	4
5. HIPOTESIS.....	6
6. MARCO TEÓRICO	7
6.1. Sostenibilidad.....	7
6.1.2. Sostenibilidad del cultivo de Tuna (<i>Opuntia Ficus-indica</i>).....	8
6.2. Tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	9
6.2.1. Origen y distribución de Tuna.....	9
6.3. Características y condiciones de producción del fruto de la tuna.....	10
6.4 Sostenibilidad Agrícola.....	11
6.4.1 Alternativa de sustitución de fertilizantes químicos.....	11
6.5 Microorganismos del suelo.....	12
6.6 Análisis Microbiológicos.	13
6.7 Microbiología de los Alimentos.....	14
6.8 Inocuidad y Calidad Alimentaria.....	17
6.9 Innovación de subproductos	19
6.10 Análisis Bromatológicos en Alimentos.	20
6.11 Cromatografía.	24
6.12 Espectrometría FTIR.....	25
6.13 Producción y conservación de subproductos agrícolas.....	25
Existen diferentes procesos de pasteurización entre ellos:.....	27
7. DIAGRAMA DE FLUJO	28
8. METODOLOGIA	29
8.1. Muestreo	29
8.2. Caracterización fisicoquímica del suelo de <i>Opuntia ficus-indica</i>	29
8.3. Cuantificación y aislamiento de bacterias rizosféricas del suelo del cultivo de tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>).	29
8.3.1. Determinación de actividad reductora de acetileno (ARA).....	29

8.4. Análisis microbiológico asociado en fruta de Tuna <i>Opuntia Ficus-indica</i> ...	30
8.5. Análisis Bromatológico en tuna <i>Opuntia Ficus-Indica</i> .	30
8.5.1. Determinación de Humedad	30
8.5.2. Determinación de Cenizas	31
8.5.3. Determinación de Fibra Cruda	31
8.5.4. Determinación de Proteínas	31
8.5.5. Determinación de Extracto Etéreo	31
8.5.6. Determinación de Carbohidratos	31
8.5.7. Determinación de pH	31
8.5.8 Determinación de Grados Brix (°B)	31
8.6 Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de tuna por cromatografía CG-MS	32
8.7 Análisis del aceite de la semilla de tuna por espectroscopia de infrarrojo FTIR	32
8.8 Elaboración de subproductos de Tuna: Jugo y Mermelada.	32
9. RESULTADOS Y DISCUSION	35
9.1 Muestreo	35
9.2. Poblaciones benéficas asociadas al suelo rizosférico de tuna <i>Opuntia ficus-indica</i>	35
9.2.2 Determinación de actividad reductora de acetileno (ARA)	41
9.3 Análisis Bromatológico de la pulpa de tuna. (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	43
9.4 Análisis microbiológico de la fruta tuna.	44
9.5 Evaluación bromatológica y microbiológica de subproductos obtenidos de la Tuna (Jugo y Mermelada).	58
9.5.1 Análisis bromatológico de subproductos Tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	58
9.5.2 Análisis microbiológicos de subproductos de Tuna (<i>Opuntia ficus-indica</i>)	63
9.6 Extracción y caracterización de aceite de semilla de Tuna por cromatografía y espectrofotómetro de infrarrojo (FTIR)	64
10. CONCLUSIONES	69
11. BIBLIOGRAFÍA	70

1. INTRODUCCION

La presente investigación se realizó con la finalidad de elaborar subproductos derivados de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) siendo este uno de los frutos endémicos de nuestro país. Debido a las características sensoriales que presenta la fruta de la tuna, y ser un cultivo climatérico, su sistema de control y manejo ha generado grandes pérdidas de ganancia para los agricultores.

Al mismo tiempo que se ha dado el crecimiento poblacional las necesidades de los alimentos ha ido en aumento, por lo que las prácticas agrícolas han sido modificadas con el paso del tiempo, adicionando agroquímicos para satisfacer las necesidades nutricionales para su crecimiento, desarrollo y producción de los cultivos, mismos que han ocasionado alteraciones a los diferentes ecosistemas, acumulando, disolviendo o volatilizando derivados de los agroquímicos, existen investigaciones donde se reportan alimentos alterados por el uso productos químicos o deteriorados por manejo, que han causado daños a la salud del consumidor.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) pueden adquirirse en alguna de las diferentes etapas que existen a lo largo de la cadena alimentaria, desde la producción primaria hasta la mesa. La implementación de las buenas prácticas de manejo de los alimentos y en conjunto con el análisis microbiológico, han sido indicadores para un control de calidad y asegurar la producción de alimentos inocuos.

México se está constituyendo como una potencia exportadora de productos hortofrutícolas ya que cada vez más productores aplican a los programas de sanidad e higiene para ofrecer al mundo alimentos de calidad (SAGARPA, 2011). La tuna es uno de los productos representativos de México y también un fruto que ha llamado la atención a otros países. El aprovechamiento del fruto de la tuna en la industria abarca desde alimentos hasta el sector energético y de construcción por lo que es importante conocer el manejo de la inocuidad de la fruta y que medios puedan ayudar a su extensión en el tiempo de almacenamiento, así como en el proceso de producción de subproductos del fruto.

En la presente investigación se crearon subproductos de las dos variedades de tuna de la comunidad San Sebastián Villanueva del municipio Acatzingo, Puebla., en la cual se manejaron las muestras con los estándares de calidad en las buenas prácticas de laboratorio contribuyendo en una producción sostenible, innovando alimentos inocuos y nutritivos para el consumidor.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los alimentos aportan las cantidades de energía y nutrientes que el ser humano necesita, una alimentación sana es fundamental para la salud. Los alimentos deben ser inocuos, garantizando que no causen daño al consumidor, por lo que deben producirse con alta calidad además de ser nutritivos (FAO, 2002; Escartin E. F., 2000).

Existen diferentes fuentes para la producción de alimentos: suelo y agua, de las cuales se debe tener un control estricto para prevenir la contaminación de los mismos. Desde hace varias décadas, durante la producción de alimentos, se han empleado diferentes prácticas agrícolas, fertilizantes químicos y productos orgánicos, como abonos o residuos de animales, además son irrigados con aguas residuales. Durante el proceso de producción de los alimentos en el campo, estos pueden contaminarse o alterarse, presentando cambios en sus características físicas, químicas y microbiológicas, conllevando a pérdidas económicas (Frazier, 1993).

Además es conocido que en el suelo existe una amplia diversidad de microorganismos benéficos y patógenos, entre ellos hongos, virus y bacterias. Diversos estudios han demostrado la presencia de microorganismos patógenos asociados a hortalizas y frutas frescas, esto ha llevado a proponer el manejo de buenas prácticas agrícolas del cultivo, junto con métodos higiénicos de cosecha, envasado y transporte aceptable que garanticen la inocuidad de los alimentos (ICMSF, 1994).

La calidad comercial y capacidad de conservación de los alimentos depende de las condiciones de cosecha; factores genéticos, climáticos, humedad relativa, características de terreno, el uso de fertilizantes, pesticidas o reguladores del desarrollo y crecimiento de plantas. El uso de estos químicos ha originado riesgos para la salud y el ambiente (Escartin E. F., 2000).

Bajo este panorama se planteó contribuir para una producción sostenible, realizando evaluación microbiológica y físico-química del cultivo de dos variedades de tuna *Opuntia Ficus-indica*, roja copena y verde cristal del municipio San Sebastián Villa Nueva, Acatzingo., Puebla, para la innovación de subproductos de alto valor nutricional realizando las evaluaciones mencionadas por las normas respectivas obteniendo productos de buena calidad.

3. JUSTIFICACIÓN

El índice demográfico en países como México, ha provocado la demanda de alimentos. Esta situación creó la llamada revolución verde, elevando la producción agrícola, mediante el uso de fertilizantes químicos y pesticidas, las consecuencias del uso indiscriminado de los agroquímicos, ha cobrado la factura al mundo, debido al los daños a la salud, impacto ecológico, económico y social.

La preocupación surgida recientemente por la preservación de nuestro planeta, creando un paradigma de economía ecológica, que plantea la sostenibilidad de un desarrollo sin crecimiento, ajustando la economía a las exigencias de la ecología y del bienestar social global. Es el crecimiento lo que no puede continuar indefinidamente en un mundo finito, pero si es posible el desarrollo que será preciso diseñar y orientar adecuadamente (Macedo, 2005).

En la comunidad de San Sebastián Villanueva localizada en el municipio de Acatzingo en el estado de Puebla, gran parte del territorio se dedica a la actividad agrícola, siendo uno de sus principales cultivos el nopal tunero, las prácticas agrícolas no controladas han conllevado a la pérdida de la fertilidad de sus suelos, actualmente algunos productores consientes de la situación de sus suelos y de la necesidad de mejorar la producción del cultivo han buscado alternativas para mejorar la calidad del suelo y la producción de cultivos.

Ante el panorama incierto sobre la recuperación de fertilidad de suelo y desarrollo de producción en la región de San Sebastián Villanueva, Acatzingo, Puebla. Se consideró importante investigar la presencia de microorganismos altamente potenciales con aplicaciones tecnológicas, que ayuden al desarrollo y producción del nopal tunero. Así como la realización de análisis microbiológicos y físico-químicos en dos variedades de tuna roja copena y verde cristal, para poder identificar los puntos críticos en el manejo de producción, cosecha, transporte y almacenamiento de su producto primario, y con esto ayudar en la mejora de una producción sostenible sin el uso de agroquímicos, para contribuir con la innovación de subproductos como el jugo, mermelada y aceite de tuna que garanticen calidad del producto primario y subproductos para el consumidor.

4. OBJETIVOS

❖ Objetivo General

Innovar con subproductos derivados de dos variedades de tuna roja copena y verde cristal, aportando nuevas tecnologías con procesos estandarizados para un desarrollo sostenido del cultivo y de la región de Acatzingo, Puebla.

❖ Objetivos Específicos

- Obtener subproductos innovadores jugo y mermelada, a partir de dos variedades de tuna roja copena y verde cristal realizados con métodos estandarizados de higiene y seguridad alimentaria.
- Realizar muestreo de suelo y fruta de tuna de dos variedades roja copena y verde cristal de la comunidad de San Sebastián Villa Nueva, Acatzingo, Puebla.
- Cuantificar e identificar las poblaciones microbianas asociadas a la fruta fresca (TFS) y después del proceso de limpieza (TSP).
- Caracterizar la fertilidad del suelo de la tuna e identificar las poblaciones fijadoras de nitrógeno asociadas al cultivo de las dos variedades roja copena y verde cristal.
- Realizar el análisis bromatológico en la fruta fresca y subproductos obtenidos de jugo y mermelada de las dos variedades de tuna roja copena y verde cristal.
- Extraer y analizar el aceite de la semilla de tuna por Cromatografía de Gases-Masas CG-MS, y por Espectroscopia de infrarrojo IR.

5. HIPOTESIS

- El manejo estandarizado de elaboración de subproductos innovadores a partir de las dos variedades de tuna permitirá obtener productos altamente competitivos en calidad e higiene y ayudará al desarrollo sostenible de la región de San Sebastián Villa Nueva, Acatzingo., Puebla.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Sostenibilidad

Existe una relación entre el crecimiento en la agricultura y la erradicación del hambre y la pobreza. Al mismo tiempo, la agricultura entendida en sentido amplio proporciona ingresos, puestos de trabajo, alimentos y otros bienes y servicios. La actual trayectoria de crecimiento de la producción agrícola es insostenible, debido a sus impactos negativos sobre los recursos naturales (FAO, 2017).

La toma de conciencia a nivel mundial de la estrecha relación existente entre el desarrollo económico y el ambiente, tuvo su expresión en el marco de las Naciones Unidas con la creación en el año 1983 de la Comisión de Desarrollo y Medio Ambiente, integrada por un grupo de personalidades del ámbito científico, político y social, representativo de los diversos intereses existentes en la comunidad internacional (Gómez, 2015).

En abril del año 1987 la Comisión publicó y dio a conocer su informe, titulado *Nuestro Futuro Común*, conocido también como Informe de Brundtland, en el cual se introduce el concepto de desarrollo sostenible, definido en estos términos:

“Está en manos de la humanidad asegurar que el desarrollo sea sostenible, es decir, asegurar que satisfaga las necesidades del presente sin comprometer la capacidad de las futuras generaciones para satisfacer las propias” (Gómez, 2015).

El nuevo conocimiento científico y la posibilidad tecnológica de evaluar integralmente fenómenos antes considerados por separado, contribuyen de modo relevante a identificar cambios operados en el mundo natural a escala global. El desarrollo sostenible demanda la modificación de tecnologías enfatizando en reducir el consumo material y energético, la emisión de residuos nocivos al ambiente, y las condiciones de trabajo propensas a generar riesgos para la salud humana y el ecosistema o daños irreversibles a los recursos naturales, estos antecedentes crearon el llamado “Club de Roma” integrado por destacados científicos, políticos, empresarios y economistas, promotores de un crecimiento económico más estable y equilibrado para todos los países (Gómez, 2015).

6.1.2. Sostenibilidad del cultivo de Tuna (*Opuntia Ficus-indica*).

El suelo da soporte a las plantas en forma de una capa permeable para las raíces y es una especie de depósito para los nutrientes y el agua. Los cultivos anuales requieren una preparación de suelo cada año, esta actividad proporciona a los cultivadores la oportunidad de controlar las malas hierbas y de mantener el aporte apropiado de materia orgánica y fertilizantes (Plaster, 2000; Sinergia L. , 2003).

La agricultura sostenible debe garantizar la seguridad alimentaria y al mismo tiempo promover ecosistemas saludables y apoyar la gestión sostenible del suelo, el agua y los recursos naturales. Los desafíos globales a los que nos enfrentamos son la creciente escasez y la degradación rápida de los recursos naturales en un momento en que la demanda de alimentos, los bienes y servicios procedentes de la agricultura están aumentando rápidamente (FAO, 2017).

La producción agrícola actualmente es muy demanda debido al crecimiento de la población, sin embargo las malas prácticas agrícolas de los productores la han hecho insostenible debido a sus impactos negativos sobre los recursos naturales y el ambiente. Al mismo tiempo, alrededor de un tercio de los alimentos producidos 1,300 millones de toneladas al año se pierden o desperdician en todo el mundo a lo largo de la cadena de suministro, con enormes costos económicos y medioambientales (FAO, 2017).

México es el mayor productor mundial y el que cuenta con la mayor variabilidad genética, también ocupa el primer lugar mundial de superficie cultivada y consumo de tuna (Corrales, 2005). Actualmente en la producción de tuna, participan aproximadamente 20 000 productores, y se siembra una superficie de 2414.00 ha, cosechando 2414.00 Ha, y produciendo un total de 43290.00 Ton (SIAP, 2004).

A pesar del uso integral del cultivo tuna, este representa un gran atractivo para diferentes sectores del cultivo de tuna (Castro M.J., 2009).

- ❖ Agroindustria de alimentos y bebidas
- ❖ Industria farmacéutica
- ❖ Industria cosmética
- ❖ Industria de aditivos y colorantes alimenticios
- ❖ Sector de construcción
- ❖ Sector energético
- ❖ Así como mejorar y ayudar a los ecosistemas

6.2. Tuna (*Opuntia ficus-indica*)



6.2.1. Origen y distribución de Tuna.

- ❖ Reino: *Plantae*
- ❖ División: *Magnoliophyta*
- ❖ Clase: *Magnoliopsida*
- ❖ Orden: *Caryophyllales*
- ❖ Familia: *Cactaceae*
- ❖ Subfamilia: *Opuntioideae*
- ❖ Género: *Opuntia*
- ❖ Especie: *ficus-indica*
- ❖ Nombre binomial: *O. ficus-indica* (L.)1768 Mill.

La tuna es oriunda de México, durante la conquista, los españoles saquearon y se la llevaron a Europa y desde ahí fue distribuida hacia otros países del mundo. La familia de las *cactáceas* es endémica del Continente Americano los géneros de *Opuntia* y *Nopalea* se han desarrollado de manera natural desde hace miles de años en las zonas áridas y semiáridas de México; ahora se le encuentra en condición cultivada y silvestre en España, Portugal, Italia, Chile, Estados Unidos, Brasil, Argentina, Israel, Sudáfrica, Argelia, Jordania, etc (Torres-Ponce, 2015).

En México se pueden distinguir cuatro grandes zonas nopaleras, considerando su abundancia, características fisiológicas y las condiciones climáticas donde crecen:

1) Zona Centro-Sur, comprende los Estados de México, Puebla, Querétaro y Oaxaca; se encuentran nopaleras de porte alto, productoras de verdura, fruta y forraje, la mayoría son especies cultivadas en pequeñas huertas.

- 2) Zona del Altiplano, ocupa en mayor extensión los estados de Zacatecas y San Luis Potosí y en menor proporción Aguascalientes, Durango, Guanajuato y Jalisco.
- 3) Zona Norte (Desierto Chihuahuense), es la región más extensa; comprende parte de los Estados de Chihuahua, Durango, Zacatecas y Coahuila; área donde el nopal crece en forma natural y su porte es arbustivo.
- 4) Zona de la Planicie Costera del Golfo, es la parte noreste de México, abarca la zona noreste de Coahuila, el área norte de Nuevo León y Tamaulipas. Las plantas de nopal son de tipo arbustivo y otras de importancia forrajera (Castro M.J., 2009).

6.3. Características y condiciones de producción del fruto de la tuna.

El nopal tunero se adapta bien a diversas texturas y composiciones de suelo, pero se desarrolla mejor en suelos calcáreos, arenosos, de profundidad media, con un pH preferentemente alcalino (Castro M.J., 2009).

El ciclo de desarrollo de los frutos de tuna a partir del inicio de floración en la planta hasta la completa maduración del fruto y punto máximo de desarrollo y madurez fisiológica de los frutos se obtiene 80 días después de la (antesis) floración. La madurez fisiológica corresponde al momento en que el fruto acumula la mayor parte de las reservas. El conocimiento de los estadios de madurez es importante para planificar la cosecha, siendo el contenido de azúcares un indicador de madurez y el clima uno de los factores que más influye en el acumulo de azúcares (Castro M.J., 2009).

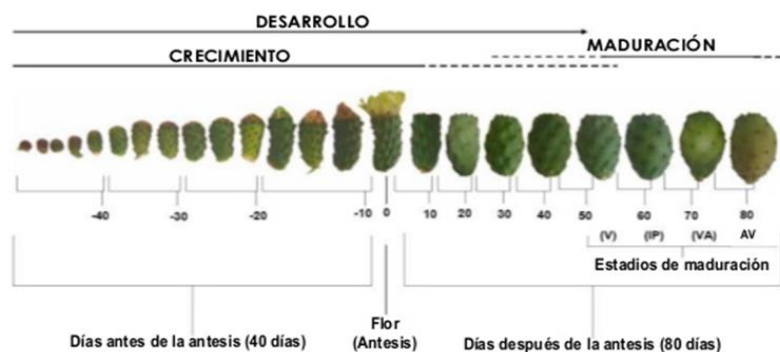


Figura 1. Evolución del desarrollo y maduración de frutos de tuna (*Opuntia ficus-indica*) antes de la antesis.

La cosecha de la tuna aún se efectúa de manera manual, siendo los dos métodos más utilizados el corte usando torsión y el corte auxiliado con cuchillo, así mismo es preferible realizar la cosecha por la mañana ya que la temperatura es baja y la humedad relativa alta, favoreciendo la turgencia de los tejidos lo cual facilita el corte. Las principales actividades postcosecha son: el despeinado o remoción de

espinas, la selección, el empaque, el almacenamiento y el transporte (Corrales, 2005).

La temperatura óptima se encuentra entre los 6° y 8° C, teniendo un máximo de almacenamiento de 2 a 5 semanas dependiendo la variedad, la madurez y la temporada de cosecha del fruto.

La humedad relativa optima debe encontrarse preferentemente entre el 90 y 95% HR, si las condiciones de temperatura de almacenamiento son menores a 5°C, la fruta sufre daño en la cascara lo cual genera depresiones o picado, además de manchas de color pardo en la superficie (Corrales, 2005).

6.4 Sostenibilidad Agrícola

6.4.1 Alternativa de sustitución de fertilizantes químicos.

Los fertilizantes químicos se han empleado para incrementar la producción de cultivos adicionando nitrógeno, fósforo, potasio entre otros nutrimentos. Sin embargo en los últimos años las investigaciones aseguran que los fertilizantes o pesticidas se han empleado indiscriminadamente, provocando la degradación de la calidad del suelo y cambio de la biodiversidad, debido a que no aportan materia orgánica, microorganismos, insectos, elementos necesarios para el correcto desarrollo del cultivo. Hay que considerar que los microorganismos son esenciales para mantener la salud de los suelos (Sinergia L. , 2003).

En algunas plantaciones del cultivo de tuna, se sugiere utilizar 5 ton/ha de estiércol vacuno, que equivale a 8 kg por planta. Una vez iniciadas las lluvias se agregan 100 g de sulfato de amonio por planta. Al segundo año se aplicarán 100 g del mismo sulfato y al iniciar la etapa de fructificación en adelante, cada tercer año, incorporar cantidades semejantes de estiércol adicionando 50 g de superfosfato de calcio simple a cada planta. También se puede utilizar urea y superfosfato de calcio triple en cantidades equivalentes en suelos con pH cercano al neutro (Castro M.J., 2009).

La contaminación por fertilizantes se produce cuando estos se utilizan en mayor cantidad de la que pueden absorber los cultivos, o cuando se eliminan por acción del agua o del viento de la superficie del suelo antes de que puedan ser absorbidos. En las últimas décadas se ha tomado conciencia del agotamiento de los recursos naturales debido a la explotación desmesurada de los mismos.

En el ámbito agrícola una de las alternativas para aminorar los daños causados al ambiente es mediante el uso de nuevas tecnologías que estén orientadas a mantener la sostenibilidad del sistema (FAO, 2013).

Se llama desarrollo sostenible aquél que es capaz de satisfacer las necesidades actuales sin comprometer los recursos y posibilidades de las futuras generaciones. Intuitivamente una actividad sostenible es aquella que se puede mantener (Gomez, 2015).

La alternativa para la sustitución parcial o total de los fertilizantes es el desarrollo y uso de los biofertilizantes. Cuando la agricultura tiene la necesidad de adoptar medidas conservacionistas, los microorganismos utilizados como biofertilizantes juegan un papel muy importante.

La interpretación del término biofertilizantes es muy amplio, representando desde microorganismos, abonos verdes, y estiércoles, hasta extractos de plantas. Así que podemos decir que son productos que contienen microorganismos, que al ser inoculados pueden vivir asociados o en simbiosis con las plantas y le ayudan a su nutrición y protección (Vessey, 2002).

Estos microorganismos se encuentran de forma natural en el suelo y abarcan diversos grupos, la producción de biofertilizantes se centra en países desarrollados donde es una práctica adoptada.

6.5 Microorganismos del suelo.

Los microorganismos son los verdaderos descomponedores de restos orgánicos transformándolos en compuestos inorgánicos, cerrando el ciclo de los elementos, constituyen cerca del 85% de la fracción viva del suelo. De manera general los microorganismos se distribuyen según las condiciones ambientales y la disponibilidad del alimento (Atlas, 2002).

Los microorganismos del suelo no actúan de manera aislada, sino que establecen relaciones tróficas y ambientales con el resto de la vida del suelo. Las interacciones pueden ser de carácter positivo o negativo, según si los componentes de la relación se benefician o perjudican mutuamente (Atlas, 2002).

El aprovechamiento de las actividades microbianas de manera directa interviene en hacer realidad lo que se ha llamado agricultura sostenible. Se ha identificado la funcionalidad de grupos benéficos en la productividad de las plantas y algunas actividades en las que participan los microorganismos del suelo son: fijación biológica del nitrógeno, degradación de celulosa, incorporación de fósforo a la planta, interacción con otros microorganismos y control biológico (Olealde, 1998).

Dentro de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PBCV) han sido empleadas para el desarrollo de biofertilizantes, ya sea directamente al ayudar a proporcionar nutrientes a la planta huésped, o indirectamente influyendo positivamente en la raíz crecimiento y morfología. No todos las BPCV son

biofertilizantes muchas, estimulan el crecimiento de las plantas ayudando a controlar los organismos patógenos (Vessey, 2002).

Azospirillum es uno de los géneros más estudiados de las plantas, se aísla en medio Nfb y su crecimiento se caracteriza por una película o globo 10mm o más por debajo de la superficie, este patrón de crecimiento en medios semisólidos permite su identificación en cultivos de enriquecimiento, las temperaturas de crecimiento óptimas están entre 35 y 37 °C, el organismo es oxidasa positivo y pueden ser autótrofos de hidrógeno facultativos, crecen bien en ácidos orgánicos como L-malato, lactato, piruvato, fructosa, galactosa y algunos otros azúcares muchos requieren biotina (Döbereiner J., 1987).

La capacidad que presenta de estimular el crecimiento y de aumentar el rendimiento de los cultivos se han realizado un sin número de estudios sobre la ecología, fisiología y genética de esta bacteria., así como su aplicación como inoculante y biofertilizante en un amplio espectro de cultivos, registrando un rendimiento de un 20 a un 30% con la aplicación de esta bacteria. En la actualidad su uso comercial comienza a extenderse en diferentes países, incluido México (Caballero M, 2003).

6.6 Análisis Microbiológicos.

Durante el desarrollo y realización de productos de calidad, los resultados microbiológicos son una herramienta que tiene una repercusión decisiva en el ámbito del diagnóstico clínico, de la salud pública, de la tecnología alimentaria y del medio ambiente. En los últimos años las actividades relacionadas con la verificación y validación de métodos analíticos han tenido gran importancia debido por un lado al continuo desarrollo y actualización de técnicas y equipos analíticos cada vez más complejos, y por otro lado al interés de los profesionales en garantizar la calidad de sus procesos y resultados (Camaro, 2013).

Los microorganismos no se encuentran aislados, sino que su número suele ser muy elevado por unidad de volumen o por unidad de superficie. Por consiguiente, allí donde se encuentran son muy abundantes. Además suelen formar agrupaciones de varios microorganismos que interactúan entre sí; unos pueden usar como alimento los productos residuales de otros, o pueden ser atacados por los vecinos que compiten por el mismo alimento (Allerte, 2002).

Los métodos básicos empleados para los números totales son los siguientes:

1. Recuento en placa normal (SPC)

El método más usado para determinar los números de células viables o de unidades formadoras de colonias (UFC) en un producto alimenticio, se mezclan y se homogeneizan porciones de muestras, se diluyen

seriadamente, en un diluyente apropiado, se siembran en el espesor del medio que contiene la placa y se encubran a temperaturas y tiempo definido, se cuentan todas las colonias visibles mediante uso de un contador Quebec o un contador electrónico.

2. Método del Número más Probable (NMP)

En este método se preparan diluciones de las muestras de alimentos de igual forma que en el método convencional de recuento en placa. A continuación se siembran tres partes alícuotas a diluciones seriadas en 9 o en 15 tubos de un medio apropiado según se trate de la técnica de 3 tubos o de 5 tubos, respectivamente. El número de organismos en la muestra original se determina usando las tablas de NMP. El método es de por sí estadístico y los resultados del NMP generalmente son más elevados que los resultados de SPC.

3. Recuento Microscópico Directo (DMC)

El recuento consiste en hacer un frotis de muestras o cultivos en un portaobjetos, tiñendo con un colorante apropiado, observando y contando las células con la ayuda de un microscopio (Jay J.M., 2002).

Cuando se citan los recuentos viables totales para un producto, los recuentos deben ser considerados función de por lo menos alguno de los factores siguientes:

- Métodos de muestreo empleados
- Distribución de los organismos en la muestra de alimento
- Naturaleza de la flora del alimento
- Naturaleza del material del alimento
- Los antecedentes del producto alimenticio antes del examen previo
- Temperatura de incubación y tiempo usados
- pH, actividad de agua, y potencial de oxidación-reducción (Eh) del medio de siembra en placa
- Tipo de diluyente usado (Jay J.M., 2002).

6.7 Microbiología de los Alimentos.

En la naturaleza, las células viven asociadas a otras en conjuntos llamados poblaciones. Las poblaciones celulares raramente viven solas en la naturaleza, antes bien se relacionan con otra formando las llamadas comunidades microbianas. Por otra parte la composición de una comunidad microbiana en un hábitat está determinada por las características físicas y químicas de ese medio. Hay importantes ecosistemas microbianos acuáticos, terrestres e incluso asociados a organismos superiores plantas y animales (Madigan, 2010).

Las propiedades de textura en un alimento dependen del contenido de agua que contenga un alimento, y este también influye en las reacciones físicas, químicas, enzimáticas y microbiológicas. La llamada actividad de agua (a_w) es un valor empírico que puede predecir la estabilidad y la vida útil de un producto. En general mientras más alta sea la a_w y más se acerque a 1.0 que es la del agua pura, mayor será su inestabilidad, en el cuadro 1.1 se muestra el valor correspondiente de a_w en algunos alimentos.

Cuadro 1.1 Actividad de agua (a_w) en algunos alimentos.

Alimentos	Aw
Frutas frescas y enlatadas	0.97
Verduras	0.97
Jugos	0.97
Huevos	0.97
Carne	0.97
Queso	0.95
Pan	0.94
Mermeladas	0.86
Miel	0.70
Huevo en polvo	0.40
Cereales	0.35
Azúcar	0.10

Los microorganismos necesitan condiciones propicias de pH, nutrimentos, oxígeno, presión, temperatura, y de actividad de agua para su crecimiento. Por cada 0.1 unidades de aumento de a_w el crecimiento microbiano puede incrementarse un 100%, los que más requieren agua son las bacteria (>0.91), después las levaduras (>0.88) y luego los hongos (>0.80); de todos, los patógenos son los que más necesitan para su desarrollo como se muestra en el cuadro 1.2.

Cuadro 1.2 Actividad de agua (a_w) necesaria para el crecimiento de microorganismos.

Organismo	aw mínima
Mayoría de bacterias dañinas	0.91
Mayoría de levaduras dañinas	0.88
Mayoría de hongos dañinos	0.80
Bacteria halófila	0.75
Levadura osmófila	0.60
<i>Salmonella</i>	0.95
<i>Clostridium botulinum</i>	0.95
<i>Escherichia coli</i>	0.96
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86

Para poder predecir y controlar la invasión o contaminación del alimento, hay que conocer la composición química misma que puede funcionar como medio de soporte del crecimiento de microorganismos y los microorganismos que colonizan habitualmente dicho alimentos, por lo cual sobre las frutas pueden crecer mohos, levaduras y bacterias (Badui S. , 2006).

El control de la humedad relativa y de la composición de la atmosfera en la que están almacenadas las frutas y hortalizas es importante, pero existe un límite para la reducción de la humedad relativa, porque a valores inferiores al 90-95 %, la perdida de los tejidos ocasiona su marchitez. Los valores más elevados de pH de los tejidos los hace más sensibles a la invasión bacteriana aunque también existen varios hongos importantes causantes de la alteración de las frutas y hortalizas almacenadas (Bejarano, 2007).

La micro biota dominante sobre las frutas y hortalizas recién cosechadas es muy variable. Está constituida por bacterias gramnegativas como *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas* pero las partes que crecen cerca o dentro del suelo contienen bacterias grampositivas, por ejemplo *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Clostridium*. Sobre la superficie se propagan los *Leucnoscoc* y *Lactobacillus*, muchos de estos organismos originan el reblandecimiento característico de las podredumbres blandas. Las bacterias patógenas pueden sobrevivir un tiempo en el suelo y contamina las hortalizas que serán consumidas crudas. El lavado y desinfección de estos alimentos pueden reducir la carga microbiana (Bejarano, 2007).

Los productores mexicanos deben adoptar las regulaciones comerciales y sistemas de producción establecidos por los países consumidores, como las Buenas Prácticas de Agricultura y Elaboración que disminuyen el riesgo de contaminación y garanticen la inocuidad de alimentos.

6.8 Inocuidad y Calidad Alimentaria.

La inocuidad es aquella que garantiza que los alimentos no contengan agentes físicos, químicos, biológicos o microbiológicos, que pongan en peligro la salud. Todas las personas tienen derecho a que los alimentos que consumen sean inocuos, de esta manera se concibe que la inocuidad como un atributo fundamental de la calidad (Tafur, 2009).

El concepto de seguridad alimentaria se revisó para enfatizar los problemas de inseguridad a nivel de los hogares y las personas. Por ello, la Cumbre Mundial de la Alimentación de 1996 concluyó que “existe seguridad alimentaria cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos a fin de llevar una vida activa y sana” (FAO, 2013).

En particular, el comercio internacional de alimentos permite a los consumidores tener acceso a una gran cantidad de opciones de productos vegetales o de origen animal. Como la población mundial crece aceleradamente, la producción agrícola tiene que aumentar proporcionalmente. Esta situación implica un incremento en el cultivo y la crianza de animales dedicados a la producción de alimentos. Esto debe ser complementado con una producción de alimentos acorde a las exigencias de los mercados, siendo la calidad y la inocuidad dos de los principales atributos que rigen la oferta y la demanda de los productos a nivel mundial (FAO, 2013).

En la búsqueda para garantizar la inocuidad de un alimento durante su producción, se han utilizado diversas metodologías basadas en sistemas de gestión o aseguramiento de la calidad. Estos sistemas tienen como objetivo establecer acciones planificadas y sistemáticas que son necesarias para proporcionar la confianza que un alimento satisfaga las expectativas del consumidor. Para ello, es esencial identificar los peligros asociados al alimento y estimar su probabilidad de ocurrencia desde que se producen en la granja hasta que llegan a la mesa (FAO, 2013).

A nivel internacional, las normas más difundidas y aplicadas en términos de calidad e inocuidad son las emitidas por la Comisión del Codex Alimentarius, organismo creado en 1963 por la FAO y la OMS para desarrollar normas alimentarias, reglamentos y otros textos relacionados, como códigos de prácticas.

Los procedimientos y requisitos establecidos para el manejo de frutas frescas deben apearse a las siguientes normas:

- ❖ NOM-EM-034-FITO-2000. Requisitos y especificaciones para la aplicación y certificación de buenas prácticas agrícolas en los procesos de producción de frutas y hortalizas frescas
- ❖ CODEX STAN 186-1993. Norma del codex para la Tuna.
- ❖ CAC/RCP 53-2003. Código de prácticas de higiene para las frutas y hortalizas frescas.
- ❖ CAC/RCP 44-1995. Código internacional recomendado de prácticas para el envasado y transporte de frutas y hortalizas frescas.
- ❖ Norma Sanitaria Rm N° 6152003 SA/DM Proyecto de actualizaciones 2003.
- ❖ Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometido a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.

Un alimento que no cubre los parámetros de calidad para determinarse inocuo, ocasiona pérdidas, es costoso y puede influir negativamente en el comercio y la confianza de los consumidores. Por consiguiente, es imprescindible un control eficaz de la higiene, a fin de evitar los daños al alimento y el deterioro de los mismos, para la salud y la economía. Todos, fabricantes, elaboradores, manipuladores y consumidores de alimentos, tienen la responsabilidad de asegurarse de que los alimentos sean inocuos y aptos para el consumo (FAO, 2003).

El servicio de análisis de laboratorio forma parte integral de todo sistema nacional de control de los alimentos, los procedimientos establecidos en los análisis microbiológicos y bromatológicos permite obtener resultados analíticos de calidad que son utilizados como un indicador en el grado del manejo de prácticas sanitarias adecuadas o inadecuadas durante la producción. El aseguramiento de la calidad obliga a normalizar todas las operaciones y procedimientos que se realizan en la producción de alimentos (FAO, 1992).

Los productos que se realizan con cultivos de frutas frescas deberán ajustarse a los criterios microbiológicos establecidos de conformidad con:

- ❖ NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- ❖ NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
- ❖ NOM-092-SSA1-1994 Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- ❖ NOM-113-SSA1-1994 Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- ❖ NOM-111-SSA1-1994 Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

6.9 Innovación de subproductos

El proceso de innovación se considera la principal fuerza motriz de crecimiento económico en los países de economía avanzada. La innovación en el sector agroalimentario, uno de sus principales objetivos es orientar la investigación en alimentación hacia intereses industriales, llegar a un consenso entre todas las empresas e investigadores, sobre los temas que interesan que se investiguen (Lopez., 2008).

Uno de sus principales objetivos es orientar la investigación en alimentación hacia intereses industriales. La calidad y la seguridad, así como la trazabilidad de los productos son clave. Según el informe de Observatorio de Prospectiva Industrial (OPTI), las necesidades de controles llevarán consigo, un incremento en el desarrollo de métodos de análisis rápidos y específicos para la evaluación microbiológica, química y sensorial de los alimentos (Lopez., 2008).

Los avances tecnológicos se dejan ver de manera clara en los procesos de producción, conservación y envasado de cualquier industria. Se buscan métodos de conservación y tratamiento menos agresivos con los alimentos, con menor consumo energético y más eficaz contra enzimas y microorganismos alterantes y patógenos (Lopez., 2008).

Otra de las demandas de los nuevos consumidores son los productos naturales. Esto lleva al desarrollo de productos biológicos, usando métodos de producción de materias primas con una mínima utilización de productos químicos, manteniendo estas características durante el procesado y la conservación. La búsqueda de nuevas materias primas y el desarrollo de productos alternativos, complementarios o intermedios para incorporar a los alimentos se convierten en otro de los ejes de la innovación, sobre todo aquellos que giran en torno a la nutrición y a los productos funcionales (Lopez., 2008).

Por otra parte, en la industria alimentaria la innovación es un factor clave para mantenerse en un mercado altamente competitivo. Las tendencias del consumidor se dirigen hacia una mejora de la alimentación en cuanto a vida saludable y prevención de enfermedades. El aprovechamiento de los subproductos generados en la industria agroalimentaria requiere esfuerzos cuya finalidad son la obtención de una solución medioambiental, optimización de recursos y generación de una nueva fuente de ingresos, que hace que a las empresas ejecutoras les resulten inversiones rentables (Lopez., 2008).

La innovación es un proceso a través del cual los agricultores mejoran la producción y las prácticas de gestión de sus explotaciones agrícolas. Esto conlleva a la plantación de mejores variedades de cultivos, la combinación de

prácticas tradicionales con conocimientos científicos, la aplicación de nuevas prácticas integradas de producción y postcosecha (FAO, 2014).

6.10 Análisis Bromatológicos en Alimentos.

La producción sostenible de alimentos de origen vegetal requiere de la existencia de sistemas agrícolas que puedan evolucionar hacia un mayor aprovechamiento humano y a la vez, tengan una mejor eficiencia en el uso de los recursos disponibles, así como, permitir el establecimiento de un equilibrio con el ambiente (Turrent, 1998).

Para satisfacer las demandas de la población, no se necesita únicamente una cantidad suficiente de alimentos, lo que exige un aumento de la producción, sino también un control estricto de la higiene con el fin de lograr la calidad indispensable para mantener la salud del consumidor. A pesar de la enorme diversidad de las industrias alimentarias, los procesos de fabricación pueden dividirse en la manipulación y el almacenamiento de materias primas, la extracción, la elaboración, la conservación y el envasado (M. Malagie, 1998)

La industria alimentaria se ha encargado de manejar estándares de calidad que aseguran que los alimentos sean inocuos y que contengan los nutrimentos necesarios, contribuyendo con las características sensoriales de cada producto.

El análisis bromatológico en los alimentos es el estudio analítico de los alimentos, su importancia radica en el aspecto económico, higiénico y legislativo para la producción de alimentos (Quispe, 2014). Esta disciplina abarca el estudio alimentario de manera científica e integral de ahí que sus propósitos son:

- Valoración de las propiedades nutricionales y composición de alimentos naturales, procesados y sus posibles adulteraciones.
- Reglamentación técnica del expendio sanitario de alimentos así como la producción industrial, seriación y transporte.
- Investigar las causas que inducen y aceleran las alteraciones alimentarias y través de ello elabora medidas preventivas para evitar que el alimento sea vehículo de microorganismos, toxinas o cualquier sustancia perjudicial para la salud.
- Fijar reglas en cuanto a los procedimientos de elaboración y conservación de tal manera que los alimentos conserven y obtengan valores nutritivos óptimos.
- Determinar bases para la legislación sanitaria a través de un estudio económico y sanitario en materia de alimentación (Quispe, 2014).

El análisis bromatológico evalúa el contenido cuantitativo de los siguientes parámetros:

➤ Humedad

La determinación de humedad es importante para conocer la proporción en que se encuentran los nutrientes y nos indica la estabilidad de los alimentos, nos sirve para determinar las condiciones de almacenamiento, como en el caso de las frutas y verduras su vida útil es menor a comparación de los cereales, existen varios métodos que van de acuerdo a la naturaleza de la muestra, rapidez del método y exactitud deseada, se realiza como lo indica la NOM-116-SSA1-1994.

➤ Cenizas

Las cenizas de los alimentos están constituidas por el residuo inorgánico que queda después de que la materia orgánica se ha quemado. La cantidad o valor obtenido puede considerarse como una medida general de calidad, útil para detectar adulteraciones y contaminaciones del producto, hasta la naturaleza del producto. El método se realiza como lo indica la NOM-F-607-NORMEX-2013.

➤ Proteína bruta o Nitrógeno

En la determinación de proteína, lo más frecuente es determinar la proteína total por el método Kjeldahl determina la materia nitrogenada total, estas se calculan multiplicando el nitrógeno total N por un factor empírico ($N * 6.68$) y el resultado se expresa como proteína (Cuadro 1.3). Existen otros factores universalmente conocidos, dependiendo del tipo de alimento, este método se realiza como se indica en la NOM-F-608-NORMEX-2011.

Cuadro 1.3 Factores universales para determinación de proteínas en alimentos.

Carne	(N*6.25)
Harina	(N*5.70)
Gelatina	(N*5.55)
Leche y productos lácteos	(N* 6.38)
Huevo	(N*6.68)

➤ Carbohidratos Reductores Totales

Entre los distintos componentes de los alimentos, después del agua, los carbohidratos son las sustancias más abundantes y más ampliamente distribuidas en la naturaleza, la industria alimentaria emplea los carbohidratos por sus propiedades funcionales, usándolos como ingredientes para mejorar la aceptabilidad y vida útil de diversos alimentos. La determinación es como lo indica la norma NMX-F-312-NORMEX-2016.

➤ Fibra Cruda

La fibra cruda está constituida por los carbohidratos presentes en los alimentos que no son digeridos por las enzimas del intestino humano. Metodológicamente, ésta es el residuo orgánico insoluble resistente a la hidrólisis ácida (H_2SO_4 al 1,25%) y básica (NaOH al 1,25%). El residuo obtenido de esta forma contiene minerales y una mezcla de material es componentes de la pared celular de los vegetales que no corresponde a ningún compuesto específico; correspondiendo aproximadamente el 97% de tales compuestos a celulosa y lignina. La determinación se realiza como se indica en nmx-f-613-normex-2003.

➤ Extracto Etéreo o Grasa Cruda

El extracto etéreo está formado principalmente por aceites y grasas, aunque también incluye otro tipo de sustancias liposolubles como vitaminas, esteroides, pigmentos, ácidos orgánicos, etc. El método Soxhlet utiliza un sistema de extracción cíclica de los componentes solubles en éter que se encuentran en el alimento como lo indica NMX-F-089-S-1987.

La información obtenida a través de la bromatología es crítica para la asimilación de los factores que condicionan las propiedades de los alimentos y de la misma forma para que la elaboración de alimentos sea segura, nutritiva y agradable para el consumidor (Quispe, 2014).

Los lípidos son insolubles en el agua y menos densos que ella. Se encuentran lípidos, tanto en vegetales como en los animales. Muchos vegetales acumulan considerables cantidades de lípidos en los frutos y semillas. Los animales tienen grasa en las diferentes partes de su cuerpo, especialmente entre la piel y los músculos, en la médula de los huesos y alrededor de las vísceras.

Hay lípidos sólidos, denominados grasas, y líquidos denominados aceites. El término grasa se emplea para aquellas mezclas que son sólidas o semisólidas a temperatura ambiente, en tanto que el término aceite se aplica a mezclas que son líquidas a temperatura ambiente (Badui S. , 2006).

Los lípidos desempeñan diversas funciones biológicas importantes, actuando:

- ✓ Como componentes estructurales de las membranas.
- ✓ Como formas de transporte y almacenamiento del combustible catabólico.
- ✓ Como cubierta protectora sobre la superficie de muchos organismos.
- ✓ Como componentes de la superficie celular relacionados con el reconocimiento de las células, la especificidad de especie y la inmunidad de los tejidos.

Las grasas y los aceites son los principales lípidos que se encuentran en los alimentos y contribuyen a la textura en general a las propiedades sensoriales y de nutrición. En los últimos años se ha generado mucha información sobre el consumo de grasas y aceites, aunque los compuestos con que los lípidos contribuyen al bienestar de las personas, por ser una excelente fuente de energía (Badui S. , 2006).

Una alta ingesta de ácidos grasos saturados, como laurico y palmítico, conlleva el aumento de colesterol sanguíneo mediante la síntesis de lipoproteínas de baja densidad, llamado colesterol malo. Por lo contrario los ácidos grasos insaturados como linoleico, oleico, linolénico, promueven la producción de lipoproteínas de alta densidad llamándolo colesterol bueno. En el siguiente cuadro enlista los ácidos grasos insaturados encontrados en la naturaleza:

Cuadro 1.4 Ácidos Grasos Insaturados (Badui S., 2006).

Nombre trivial	Nombre científico	Formula	Punto de fusión (°C)
Palmitoleico	Hexadeca-9-enoico	C ₁₇ H ₂₉ COOH	-0.5
Oleico	Octadeca-9-enoico	C ₁₇ H ₃₃ COOH	13
Linoleico	Octadeca-9:12-dienoico	C ₁₇ H ₃₁ COOH	-5.0
Linolénico	Octadeca-9:12:15-trienoico	C ₁₇ H ₂₉ COOH	-11.0
Araquidónico	Eicosa-5:8:11:14-tetraenoico	C ₁₉ H ₃₁ COOH	-49.5
Erúcico	Docosa-13-enoico	C ₂₁ H ₃₉ COOH	38.0

Los ácidos grasos omega-3 son importantes en la protección de la salud cardiovascular y del sistema nervioso y visual, principalmente por sus funciones antiinflamatorias, antiarrítmicas, inmunoprotectoras, citoprotectoras, neuroprotectoras, tanto en la salud humana como animal. Los más importantes son el ácido alfa linolénico (C18:3, ALN), el ácido eicosapentaenoico (C20:5, EPA) y el ácido docosahexaenoico (C22:6, DHA).

A los dos últimos (EPA y DHA) se les identifica como ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPICL) y ambos derivan del precursor ALN, el que a través de procesos de elongación y de saturación, realizado por enzimas específicas (denominadas elongasas y desaturasas), se transforma primero en EPA y posteriormente en DHA (Valenzuela B., 2015).

Estos ácidos son denominados ácidos grasos esenciales ya que el organismo no puede sintetizar, por lo que tiene que ser obtenido a través de la dieta. La mayoría de los omega-3 proviene de las plantas y los productos marinos. La mayoría de los ácidos grasos omega-6 se consumen a partir de aceites vegetales como el ácido linoleico (LA). El organismo convierte el ácido linoleico en los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga: gamma-linolénico (GLA) y ácido araquidónico (AA). El AA también se puede consumir directamente de la carne, y el GLA se ingiere a partir de varios aceites de origen vegetal (Coronado H.M., 2006).

6.11 Cromatografía.

La cromatografía es un método analítico para separar, identificar y cuantificar los compuestos presentes en muestras líquidas o gaseosas, para muestras sólidas se requiere una etapa de disolución o extracción.

El procedimiento se distribuye en dos fases, la fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido, una fase móvil se usa como portador de la mezcla, su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Existen dos tipos de cromatografía de gases (GC): la cromatografía gas-sólido (GSC) y la cromatografía gas-líquido (GLC), siendo esta última la que se utiliza más ampliamente, y que se puede llamar simplemente cromatografía de gases (GC).

Un elemento de diferenciación dentro de la cromatografía es el estado físico de agregación en que se encuentre tanto la fase móvil como la fase estacionaria. La fase estacionaria se puede disponer actualmente de tres formas diferentes:

Papel: Una tira de un papel poroso se humedece en un punto con solución de la mezcla a resolver y posteriormente se la mantiene en posición vertical, humedecida con disolvente, en la cual queda introducido uno de los extremos del papel. La fuerza que impele a los componentes a desplazarse es la capilaridad y la gravedad.

Capa fina: En este caso la fase estacionaria es una delgada capa de sólido depositada, con aglomerantes o sin ellos, sobre una placa de vidrio. El mecanismo de migración es semejante al de la cromatografía sobre papel, pero los materiales adsorbentes menos porosos, alúmina, gel de sílice, papilla de celulosa etc., las separaciones son más rápidas.

Columna: La fase estacionaria se dispone en esta variante dentro de una columna como relleno o depositada sobre la pared interior de la misma. La fase móvil se añade por la parte superior de la columna si es líquida o por la parte inferior si es gaseosa (Storch J., 1975).

6.12 Espectrometría FTIR.

La radiación infrarroja se refiere generalmente a la parte del espectro electromagnético comprendida entre las regiones visibles y de las microondas. De enorme uso práctico para componentes orgánicos es la porción limitada entre 4000 cm^{-1} y 666 cm^{-1} . El compuesto orgánico se beneficia con esta complejidad cuando iguala el espectro de un compuesto desconocido en contra del correspondiente a una muestra auténtica. La correlación pico a pico constituye una excelente prueba para identificación.

Ciertos grupos de átomos originan bandas a la misma frecuencia o aproximadamente, en forma independiente de la estructura del resto de la molécula. Es la persistencia de estas bandas características la que permiten al compuesto obtener una información estructural útil mediante la simple inspección y referencia con tablas generalizadas de frecuencias de grupo características.

Una molécula orgánica absorbe la radiación infrarroja con frecuencias menores de aproximadamente 100 cm^{-1} y la convierte en energía de rotación molecular. La absorción es cuantificada; siendo así, un espectro de rotación molecular consiste en bandas. La frecuencia o la longitud de onda de la absorción dependen de las masas relativas de los átomos, las constantes de fuerza de los enlaces y la geometría de los átomos.

Existen dos tipos de vibraciones moleculares: alargamiento y flexión. Una vibración de alargamiento representa un movimiento rítmico de tal modo que la distancia interatómica aumenta o disminuye. Las vibraciones de flexión son equivalentes y constituyen los componentes resueltos del movimiento de flexión orientado a cualquier ángulo del eje internuclear; tienen la misma frecuencia y se dice que son doblemente degeneradas.

6.13 Producción y conservación de subproductos agrícolas.

La producción de alimentos agrícolas abarca un conjunto de actividades industriales dirigidas al cultivo, cosecha, almacenamiento, embalaje y transporte de productos alimenticios. La manipulación de las materias primas, los ingredientes utilizados en la elaboración y los subproductos terminados es varia y diversa (Malagié M., 1998).

Existen varias técnicas involucradas en la preservación de los frutos y productos vegetales, los procesos en los que se utiliza mediante tratamiento térmico como medio de conservación, están dirigidos a prevenir el crecimiento de microorganismos, de tal forma de prolongar la vida útil de los productos sea de una manera segura y practica (McGraw-Hill., 1984).

Los alimentos se clasifican en ácidos y no ácidos. Esta distinción tiene una importancia fundamental al determinar los tiempos de procesamiento y temperaturas requeridas. Alimentos no ácidos son aquellos que tienen un pH superior a 4.5, mientras que los que tienen un pH inferior a 4.5 son clasificados como ácidos, todas las frutas enlatadas y los jugos de frutas (McGraw-Hill., 1984).

En la producción de jugos de frutas se desarrollan en un principio como consecuencia del exceso de producción de frutas, el 60 por ciento de los jugos de frutas comerciales se hace hoy a partir del fruto cultivado para este fin. Es necesario utilizar un tratamiento térmico inmediatamente después de la extracción para estabilizarlos y evitar la descomposición microbiana y enzimática (Holdsworth S.D., 1988).

La aplicación de un tratamiento térmico consiste en la destrucción de los microorganismos capaces de multiplicarse en el producto a la temperatura prevista de distribución, por eso es importante asegurar su destrucción para disminuir el riesgo de infección al consumidor (Rees J., 1994).

➤ ESTERILIDAD

El tratamiento térmico de los alimentos consiste en reducir la probabilidad de supervivencia de microorganismos. Es importante reconocer que un producto que ha sido sometido a esterilización térmica puede no ser estéril. Si se asume que la destrucción microbiana por el calor sigue un curso logarítmico, la esterilidad absoluta es inalcanzable sin embargo es posible reducir la probabilidad de supervivencia hasta un grado en el que el producto pueda ser considerado como estéril.

➤ ESTERILIDAD COMERCIAL

Un alimento estéril comercialmente puede definirse como un producto que ha sido sometido a un tratamiento termino tal que, no se altera en condiciones normales de almacenamiento, ni supondrá un peligro para la salud del consumidor. Un producto acido tal como una fruta puede haber sido sometido a un proceso de pasteurización suficiente para acabar con levaduras, hongos y bacteria no esporuladas aunque insuficiente para destruir las esporas bacterianas (Rees J., 1994).

➤ PASTEURIACION

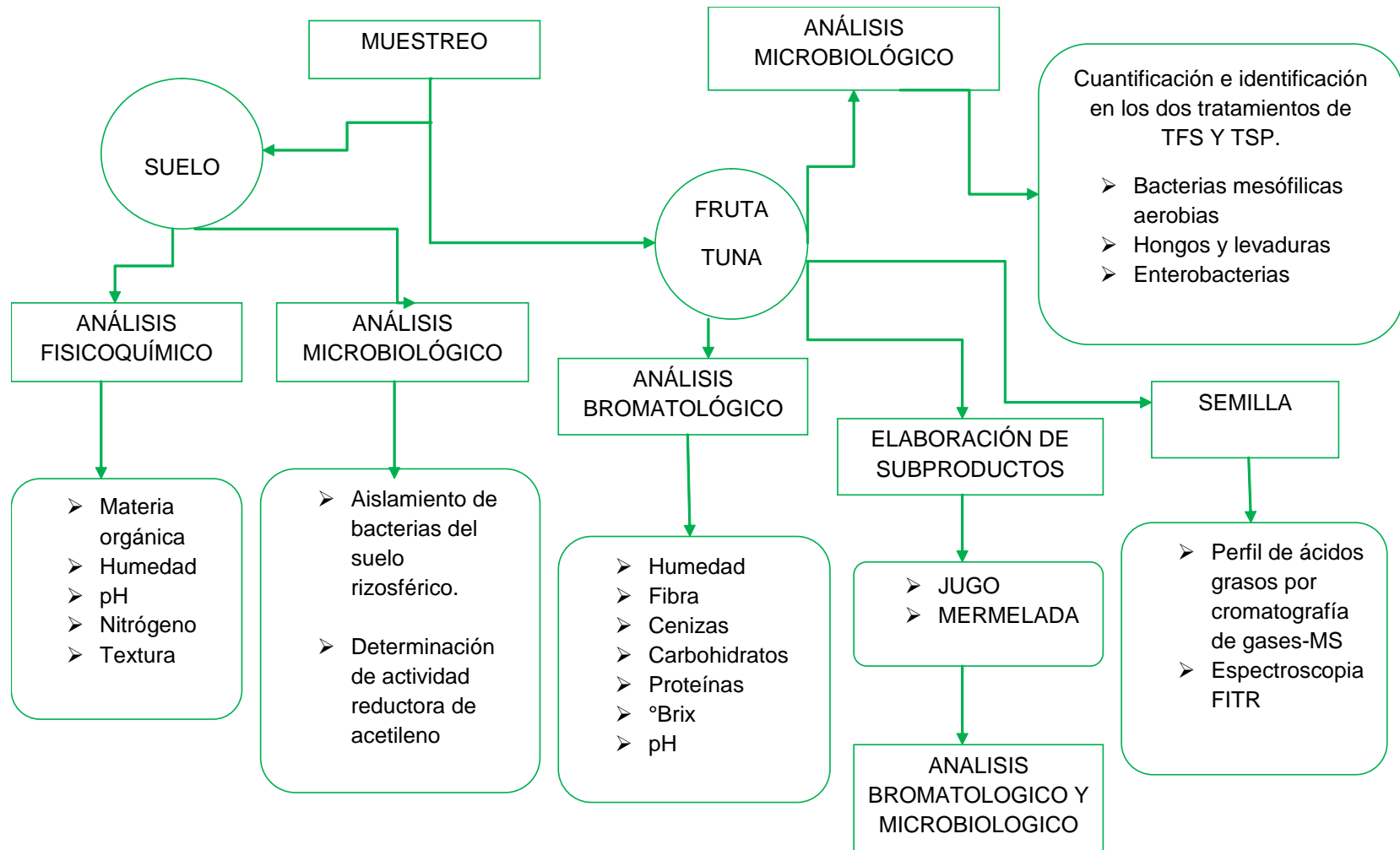
En la pasteurización flash la temperatura del producto se eleva mediante un cambiador de calor tubular o de placas. El producto calentado se mantiene a una alta temperatura durante el corto periodo necesario para fluir a través del tubo de retención tras lo cual el producto puede ser enfriando o parcialmente enfriado antes del llenado. El tratamiento de pasteurización en botellas, tanto discontinuo como continuo, que también son empleados generalmente durante 15 min (Ranken M., 1993).

Existen diferentes procesos de pasteurización entre ellos:

- a. Ultra pasteurización instantánea (HTST) consiste en someter el alimento a una temperatura cercana a los 79 °C, durante un período de al menos 15 segundos, se emplea en líquidos a granel como leche, zumos de fruta, cerveza, etc. Se debe tener precaución al usar el tratamiento térmico para evitar cocinar la fruta o los vegetales, ya que esto podría provocar cambios de textura desfavorables y un desarrollo de sabor desagradable
- b. Pasteurización lenta (VAT) el proceso consiste en calentar grandes volúmenes de líquido en un recipiente estanco s 63 °C, durante 30 minutos, para luego dejar enfriar lentamente (Eskin N.A.M., 1990).

En la producción de mermeladas como conservador se ha utilizado el azúcar, esto comprende la ebullición de la fruta, azúcar y agua durante un espacio de tiempo correcto para desarrollar una estructura de gel. El componente esencial para desarrollar la estructura de gel es la pectina, procede del mismo fruto o cuando la del fruto es insuficiente, se añade aparte. La condición esencial para la conservación de la mermelada es reducir el contenido en agua en tal grado que no puedan crecer los microorganismos causantes de intoxicación alimentaria. La calidad de la mermelada depende muchísimo de la selección adecuada de variedades de fruta, de la madurez en el momento de la cosecha y del método de manipulación y almacenamiento previas a su empleo (Holdsworth S.D., 1988).

7. DIAGRAMA DE FLUJO



8. METODOLOGIA

8.1. Muestreo

El muestreo se realizó en el municipio de San Sebastián Villa Nueva, Acatzingo localizado en la parte sureste del estado de Puebla con coordenadas de 19°/97' Lat./Lon. Se recolectó suelo rizosférico y la tuna de dos variedades roja y verde cristal. Las muestras se colocaron en huacales de plástico, para su análisis fisicoquímico, microbiológico y bromatológico.

8.2. Caracterización fisicoquímica del suelo de *Opuntia ficus-indica*

La caracterización fisicoquímica del suelo se realizó de acuerdo a los métodos que indica la NOM-021-SEMARNAT-2000.

- ❖ La determinación del pH del suelo se realizó por el método AS-02.
- ❖ La determinación del contenido de humedad del suelo se realizó por gravimetría siguiendo el método AS-05.
- ❖ El porcentaje de materia orgánica del suelo se realizó por método AS-07 de Walkley y Black.
- ❖ El contenido de nitrógeno inorgánico se realizó por método AS-08.
- ❖ La textura del suelo se determinó empleando un Hidrómetro de Bouyoucos siguiendo el método AS-09.

8.3. Cuantificación y aislamiento de bacterias rizosféricas del suelo del cultivo de tuna (*Opuntia ficus-indica*).

Se pesaron 10g de muestra del suelo y se agregaron en matraces erlenmeyer que contenían 90ml de buffer, se homogenizó en un agitador durante 5 min, posteriormente se procedió a realizar diluciones decimales hasta 10^4 , cada una de las diluciones fueron sembradas en medio semigel Nfb (Libre de Nitrógeno) por triplicado e incubados a 32°C durante 4 días (Döbereiner M. a., 1976).

8.3.1. Determinación de actividad reductora de acetileno (ARA)

De los cultivos axénicos en Rojo Congo para observar la formación de colonias pequeñas y secas de color rojo escarlata (Rodríguez, 1982). Posteriormente se

analizo la capacidad de fijación de nitrógeno se determinó a las cepas presuntivas del genero *Azospirillum*, la actividad reductora de acetileno (ARA) se realizó en los viales que presentaron crecimiento característico (Döbereiner M. a., 1976), se reemplazó el 12% del volumen de la fase gaseosa y se inyectó el mismo volumen de acetileno, se incubaron por 24 horas a 32°C, la cantidad de etileno formado a partir de acetileno se determinó con un cromatografía de gases con detector FID (Thermo Focus GC). Se utilizó una columna capilar de 30m x 0.53mm x 10µm (TG-BOND Alumina).

8.4. Análisis microbiológico asociado en fruta de Tuna *Opuntia Ficus-indica*.

Se realizó como se indica en las normas, NOM-109-SSA1-1994, NOM-110-SSA1-1994, NOM-092-SSA1-1994, NOM-113-SSA1-1994, NOM-111-SSA1-1994, se analizaron dos procesos de la tuna, se cuantifico por triplicado para cada variedad de 1kg se inocularon en los medios de Cuenta Estándar (CE), Papa-Dextrosa-Agrar (PDA) y Agar Rojo Violeta bilis Lactosa (RVBA), por triplicado cada una de las diluciones seriadas hasta 10⁷. Para la cuantificación de bacterias anaerobias, hongos-levaduras, y enterobacterias respectivamente como lo marca cada una de las normas.

El primer proceso –TFS- (tuna fresca sucia) se tomaron las muestras directas de los huacales, se sumergen en 1L de agua destilada estéril, y se realiza una limpieza de la cascara quitando el suelo y suciedad de cada tuna. Posteriormente se retiran las tunas, y con el agua de las muestras se realizaron las diluciones pertinentes, y se sembró por vertido en placa.

El segundo proceso -TSP- (tuna semiprocesada) las mismas muestras de tuna, se desinfectan con una solución de cloro al 1%, se cepillaron hasta asegurar la correcta limpieza y se secaron. Posteriormente se sumergieron en 1L de agua destilada estéril cada una de las muestras, nuevamente se realizó una limpieza, y con el agua de las muestras se realizaron las diluciones pertinentes, para posteriormente sembrar por vertido en placa.

8.5. Análisis Bromatológico en tuna *Opuntia Ficus-Indica*.

8.5.1. Determinación de Humedad

La determinación de humedad se realizó a la pulpa de la tuna sin hueso y sin ser molida de acuerdo a lo establecido por la norma oficial mexicana NOM-116-SSA1-1994.

8.5.2. Determinación de Cenizas

Se realizó de acuerdo a lo establecido en la NMX-F-607-NORMEX-2013, la calcinación de la muestra en la mufla a una temperatura de 550°C/5 horas, con una previa calcinación en mechero.

8.5.3. Determinación de Fibra Cruda

La determinación de fibra cruda, conforme a lo establecido en la NMX-F-613-NORMEX-2003, se realizó el método en base a la digestión acida y alcalina de la muestra, los residuos se calcinan y por determinación de pesos se obtuvo el total de fibra cruda.

8.5.4. Determinación de Proteínas

La determinación de proteínas se realizó por el método Kjeldahl, como lo establece la NMX-F-068-NORMEX-2011 la cual se basa en la cuantificación del nitrógeno orgánico.

8.5.5. Determinación de Extracto Etéreo

La extracción del aceite de la semilla de tuna, una vez que se elimino la materia solida de la pulpa, la semilla se seco a temperatura ambiente, posterior mente se molio hasta casi obtener un polvo y se determinó por el método de shoxhlet como lo indica la norma NMX-F-089-S-1987.

8.5.6. Determinación de Carbohidratos

Se determinó el contenido total de azucares reductores según la indica la NMX-F-312-NORMEX-2016.

8.5.7. Determinación de pH

Se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidrógeno presentes en una muestra del producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro) se realizo como lo indica la NMX-F-317-S-1978.

8.5.8 Determinación de Grados Brix (°B)

Grados Brix: Es el por ciento de sólidos disueltos en un producto derivado de las frutas o de un líquido azucarado. Este método se realizó como lo indica la NMX-F-103-1982.

8.6 Perfil de ácidos grasos del aceite de semilla de tuna por cromatografía CG-MS.

El contenido de ácidos grasos se calculó como el porcentaje de los ésteres metílicos totales obtenidos por cromatografía de gases, con un cromatógrafo HP6890 con detector selectivo de masas. Se inyectó un estándar de esteres metílicos de ácidos grasos los cuales sirvieron para identificar los ácidos grasos de las muestras por sus tiempos de retención.

8.7 Análisis del aceite de la semilla de tuna por espectroscopia de infrarrojo FTIR

La identificación del perfil de ácidos grasos del aceite se realizo utilizando un espectrofotómetro marca Bruker tensor 27 en la región media (4000- 400 cm⁻¹).

8.8 Elaboración de subproductos de Tuna: Jugo y Mermelada.

- Las tunas después del proceso de desinfección, secado, pelado, corte y molienda del fruto, fueron filtrados para obtener el jugo y la pulpa, por separado el jugo se envaso, los envases fueron previamente esterilizados, al jugo ya envasado se le realizo un tratamiento térmico, mediante el uso de olla de presión a 10lb por 1 min, se dejaron enfriar a temperatura ambiente, y por último se etiquetaron y almacenaron.
- La mermelada se realizo a partir de la pulpa de tuna, se llevo a una cocción artesanal sin el uso de conservadores ni aditamentos, el envasado se realiza después de la eliminación total del agua disponible en la pulpa, en frascos previamente esterilizados y a temperatura ambiente, posteriormente se realiza un tratamiento térmico, con olla de presión a 10lb durante 1 min, se etiquetan y almacenan para su análisis.
- ❖ Posteriormente se tomaron las muestras almacenadas, realizando un análisis bromatológico para obtener la información nutrimental de los dos subproductos. Y finalmente se realizó el análisis microbiológico transcurrida la primera semana de almacenamiento, seis meses y un año después como lo indican la norma NOM-092-SSA1-1994 para la cuenta de bacterias aerobias, NOM-113-SSA1-1994 para la cuenta de coliformes totales en y la NOM-111-SSA1-1994 para la cuenta de mohos y levaduras.

DIAGRAMA DE PROCESO DE JUGO DE TUNA.

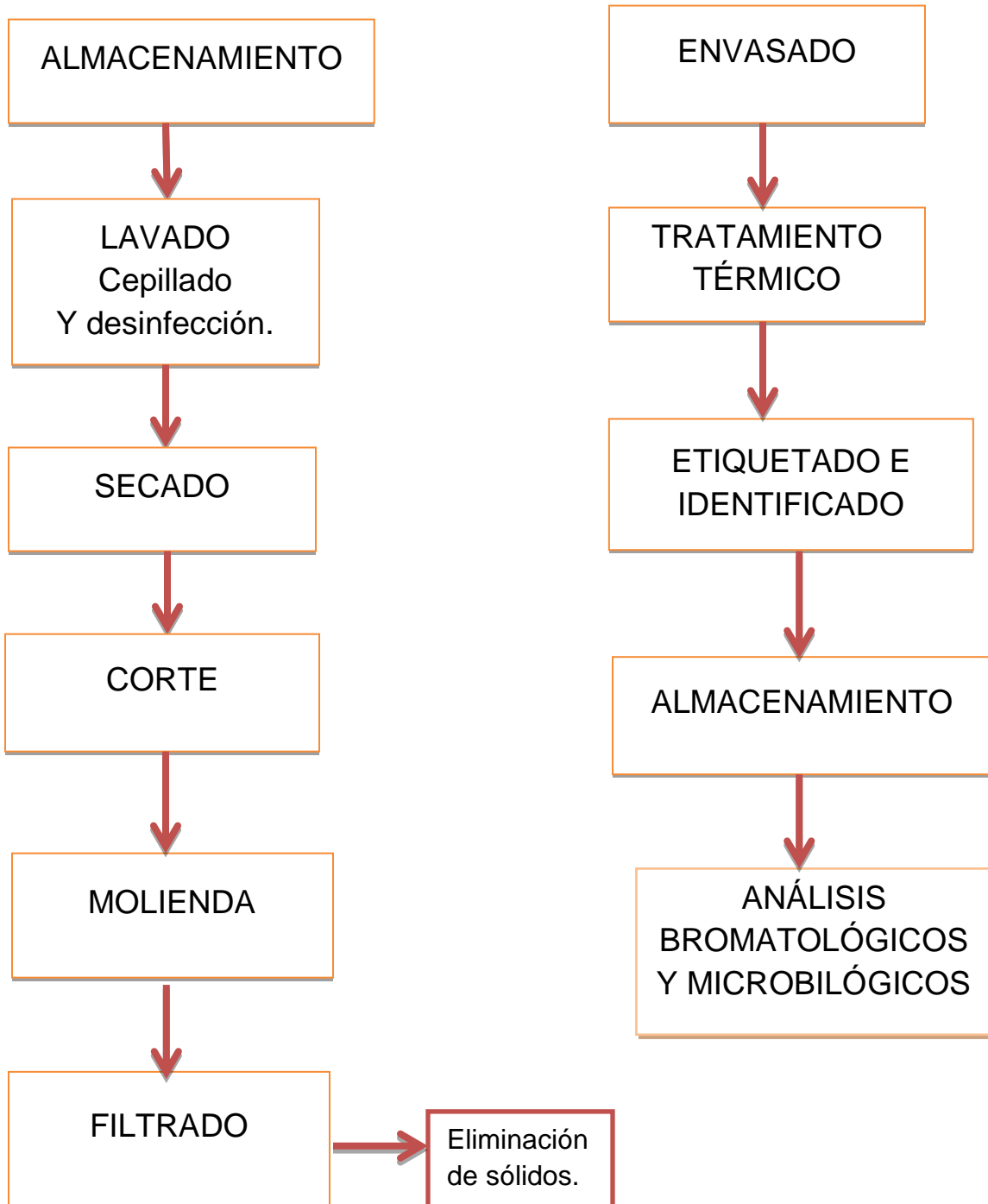
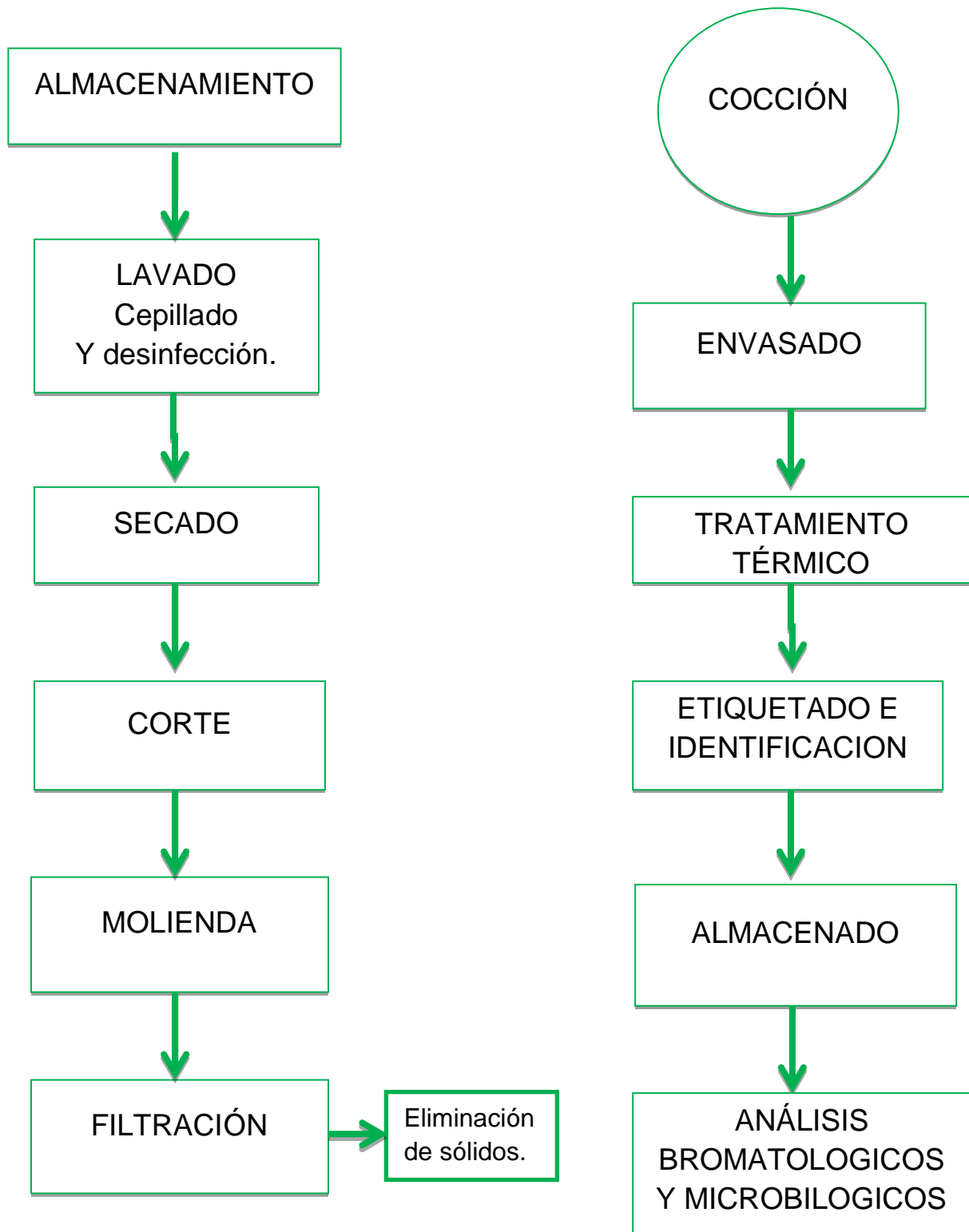


DIAGRAMA DE PROCESO DE MERMELADA DE TUNA.



9. RESULTADOS Y DISCUSION

9.1 Muestreo

Se realizo el muestreo en la comunidad de San Sebastián Acatzingo, Puebla., con coordenadas de latitud 19.05 y longitud -97.7167.

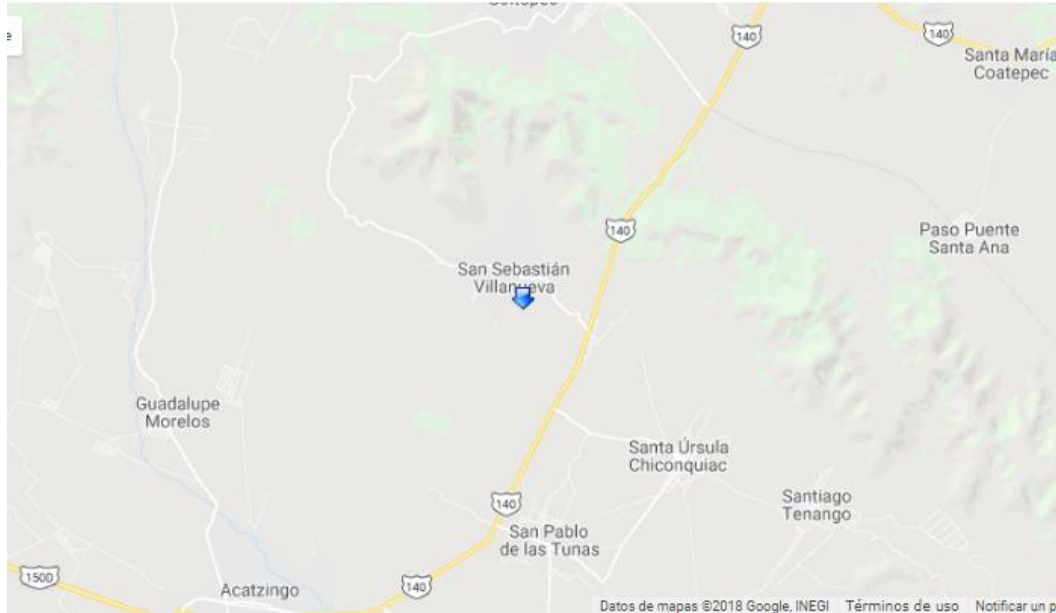


Figura 2. Mapa donde se realizo el muestreo de la comunidad San Sebastián Villanueva.

9.2. Poblaciones benéficas asociadas al suelo rizosférico de tuna *Opuntia ficus-indica*.

Los resultados de las propiedades fisicoquímicas del suelo se muestran en la Tabla 1. La textura en el suelo rizosférico de *Opuntia ficus-indica*, obtuvo la característica de franco arenoso con valores determinados de pH 7.42 y un 7.15 en las respectivas variedades,, corresponden a suelos neutros. La muestra obtenida del suelo rizosférico de tuna contiene un valor medio de 24.6% en tuna de variedad cristal y en copena se obtuvo un 23.4% de humedad. Ríos y colaboradores, en su manual indican las condiciones del suelo y condiciones del cultivo para el nopal. Los resultados obtenidos son aceptables para el cultivo del nopal tunero (Rios, 2004).

Tabla 1. Análisis Fisicoquímico de Suelo rizosférico de Tuna (*Opuntia ficus-indica*).

PARAMETRO MEDIDO	Tuna verde (Cristal)	Tuna roja (Copena)
Textura	Franco Arenoso	Franco Arenoso
pH	7.42	7.15
Humedad (%)	24.6	23.4
Materia Orgánica (%)	3.83	3.23
Nitrógeno (%)	0.25	0.21

Sin embargo para lograr convertir los suelos en un sistema ideal para la producción de cultivares, se requiere una visión global de todo el ecosistema y de las interacciones planta microorganismos (Marasco, 2012). En este estudio se lograron detectar poblaciones benéficas para la agricultura, como son las bacterias promotoras del crecimiento vegetal relacionadas en particular las bacterias fijadoras de nitrógeno del suelo rizosférico de *Opuntia Ficus-indica*.

Las cepas aisladas fueron identificadas por sus características fisiológicas y morfológicas dentro del género *Azospirillum spp*, por lo que se confirmó el crecimiento fenotípico de forma redonda con superficie arrugada color rojo escarlata y consistencia seca. (Figura 3, 4, 5, 6 y Tabla 3,4).

En la tabla 2, se presenta la población de *Azospirillum* la mayor población presenta la muestra BR5 con 2.5×10^3 en variedad verde cristal, y un 3.5×10^2 en variedad roja copena.

Existe pocas investigaciones sobre la identificación, diversidad y niveles de población de estos microorganismos asociados con *Opuntia spp.*, autores como Carvalho quienes determinaron la diversidad de endófitos y rizobacterias en *Opuntia ficus-indica Mill*, comprobando su eficiencia para promover el crecimiento de las plantas cowpea (*Vigna unguiculata L.*). Otros investigadores en 2013 lograron demostrar la presencia de *Azospirillum* en el cultivo de *Opuntia spp.*, aislados en medio Nfb semisólido (Carvalho, 2012; De Lyra, 2013).

Tabla 2. Cuantificación de población total en suelo rizosférico de *Opuntia ficus-indica*.

Variedad	Muestra	Población NMP/g
Roja Copena	BR1	3.5×10^2
	BR11	2.0×10^2
Verde Cristal	BR5	2.5×10^3
	BR12	4.5×10^2

*NMP/g=número del más probable por gramo.



Figura 3. Crecimiento en medio Rojo Congo de la muestra BR1



Figura 4. Crecimiento en medio Rojo Congo de muestra BR5

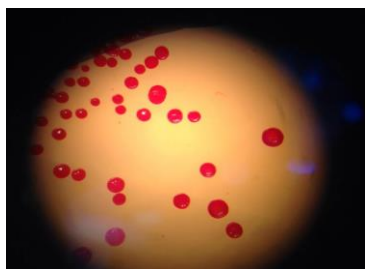


Figura 5. Crecimiento en medio Rojo Congo de muestra BR11

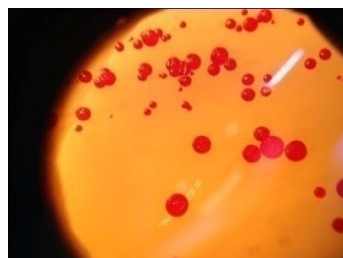


Figura 6. Crecimiento en medio Rojo Congo de muestra BR12

Las cepas presuntivas de *Azospirillum* fueron caracterizadas los resultados se encuentran en las tablas 3 y 4:

Tabla 3. Caracterización de las cepas presuntivas de *Azospirillum* mediante API 50CH en condiciones de aerobiosis.

CELIDAS	MUESTRA			
	BR1	BR11	BR5	BR12
1 GLY	+	+	+	-
2 ERY	-	+	+	-
3 DARA	+	-	-	-
4 LARA	-	+	-	+
5 RIB	+	-	+	-
6 DXYL	-	+	-	-
7 LXYL	-	+	+	-
8 ADO	-	-	-	-
9 MDX	-	-	-	-
10 GAL	-	+	+	-
11 GLU	-	-	-	-
12 FRU	+	+	+	+
13 MNE	-	-	-	-
14 SBE	-	-	-	-
15 RHA	+	+	+	+
16 DUL	-	-	-	-
17 INO	-	-	-	-
18 MAN	-	-	-	-
19 SOR	-	-	-	-
20 MDM	+	-	-	-
21 MDG	-	-	-	-
22 NAG	+	-	-	-
23 ANY	+	+	-	-
24 ARB	+	-	-	-
25 ESC	+	-	-	-
26 SAL	+	+	+	+
27 CEL	+	+	-	-
28 MAL	-	-	-	-
29 LAC	+	-	-	-
30 MEL	-	-	-	-
31 SAC	-	-	-	-
32 TRE	+	-	-	-
33 INU	-	+	-	-
34 MLZ	-	-	-	-
35 RAF	-	-	-	-
36 AMD	+	-	-	-
37 GLYG	-	-	-	-
38 XLT	-	-	-	-
39 GEN	-	-	-	-
40 TUR	+	-	-	-
41 LYX	-	-	-	-
42 TAG	-	-	-	-
43 DFUC	+	-	+	+
44 LFUC	-	-	-	-
45 DARL	-	-	-	-
46 LARL	-	-	-	-
47 GNT	+	+	+	+
48 2GK	-	-	+	-
49 5GK	-	-	-	-

Tabla 4. Caracterización de las cepas presuntivas de *Azospirillum* mediante API 50CH condiciones de anaerobiosis.

CELDA	MUESTRA			
	BR1	BR11	BR5	BR12
1 GLY	-	-	-	-
2 ERY	-	-	-	-
3 DARA	-	-	-	-
4 LARA	-	-	-	-
5 RIB	+	-	-	-
6 DXYL	-	-	-	-
7 LXYL	-	-	-	-
8 ADO	-	-	-	-
9 MDX	-	-	-	-
10 GAL	-	-	-	-
11 GLU	-	-	-	-
12 FRU	+	-	-	-
13 MNE	+	+	+	+
14 SBE	-	-	-	-
15 RHA	-	-	-	-
16 DUL	+	-	-	-
17 INO	-	-	-	-
18 MAN	-	-	-	-
19 SOR	-	-	-	-
20 MDM	+	-	-	-
21 MDG	-	-	-	-
22 NAG	-	-	-	-
23 ANY	+	-	+	-
24 ARB	+	-	-	-
25 ESC	+	-	-	-
26 SAL	+	+	+	+
27 CEL	+	-	+	-
28 MAL	+	-	-	-
29 LAC	+	-	-	-
30 MEL	+	-	-	-
31 SAC	-	-	-	-
32 TRE	-	-	-	-
33 INU	+	-	+	-
34 MLZ	-	-	-	-
35 RAF	-	-	-	-
36 AMD	-	-	-	-
37 GLYG	-	-	-	-
38 XLT	+	-	-	-
39 GEN	-	-	-	-
40 TUR	-	-	-	-
41 LYX	-	-	-	-
42 TAG	-	-	-	-
43 DFUC	-	-	+	-
44 LFUC	-	-	-	+
45 DARL	-	-	-	-
46 LARL	-	-	-	-
47 GNT	-	-	-	-
48 2GK	-	-	-	-
49 5GK	-	-	-	-

Las cepas aisladas en este trabajo además de ser Gram negativas, oxidasa y catalasa positivas, en crecimiento de NFb y Rojo Congo, también son positivas a Glicerol, L-ARAbinosa, D-RIBosa, D-FRUctosa, D-MANosa, AMIgdalina, ARButina, ESCulina, SALicina, D-CELOBiosa, D-Lactosa, D-TREhalosa, Almidon, L-FUCosa, D-Fucosa y Gluconato potásico, negativas en D-Maltosa, D-Melbiosa, D-Sacarosa. Estos resultados se comparan con el trabajo de I. Penot y colaboradores (Tabla 5) donde caracterizaron diferentes cepas de *Azospirillum* del cultivo de maíz utilizando la prueba de identificación API 50CH haciendo una distinción con cepas tipo del genero *A. lipoferum* y *A. brasilense* (Penott, 1992).

Tabla 5. Comparación de cepas de *Opuntia ficus-indica* con cepas tipo de *A. lipoferum* y *A. brasilense*.

CELDAS API 50CH	BR1	BR11	BR5	BR12	<i>A. lipoferum</i> SpBr17	<i>A. brasilense</i> Sp7
GLYcerol	+	+	+	-	+	-
D-ARAbinosa	+	-	-	-	-	-
L-ARAbinosa	-	+	-	+	+	+/-
D-RIBosa	+	-	+	-	+	-
D-XILosa	-	+	-	-	+	+/-
D-GALactosa	-	+	+	-	+	-/+
D-GLUcosa	-	-	-	-	+	-
D-FRUctosa	+	+	+	+	+	-/+
D-MamNosa	-	-	-	-	-	-
L-SorBosA	-	-	-	-	-	-
N-Acetil-Glucosamina	+	-	-	-	+	-
ARButina	+	-	-	-	-/+	-
SALicina	+	+	+	+	-	+/-
D-LIXosa	-	-	-	-	-	-

El género de *Azospirillum* encontrado en el suelo rizosférico de *Opuntia ficus-indica*, coinciden con el trabajo De Lyra 2013 donde aíslan y caracterizan cepas de bacterias del genero *A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. irakense* y *A. halopraeferans* en cultivo de nopal forrajero, encontraron tres aislados que crecen con características morfológicas distintas (De Lyra, 2013)

9.2.2 Determinación de actividad reductora de acetileno (ARA)

Las cepas de *Azospirillum* aisladas de la tuna verde cristal y roja copena fueron evaluadas en relación a la fijación biológica de nitrógeno mediante cromatografía de gases tabla 6.

Tabla 6. Actividad reductora de acetileno (ARA) de cepas presuntivas *Azospirillum*.

Cepa	Nmol.C ₂ H ₄ /ml/h
BR1	81.3
BR5	80.9
BR11	12.4
BR12	24.5

*Media de tres repeticiones

En la tabla 6 se puede observar que algunas cepas presentaron mayor actividad reductora de acetileno, un gran número de investigadores se han dedicado a evaluar la capacidad de fijación de diferente grupos bacterianos en diferentes cultivos han encontrado valores semejantes para el caso de cactáceas Llovera y colaboradores encontraron géneros asociados a estas plantas como *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Staohylococcus* entre otros y observaron que presentaron diferentes valores de actividad reductora de acetileno.de 3.1-11.0 nmol.C₂H₄/ml/h (Llovera, 1994).

En otras investigaciones se ha representado que a partir de 10 nmol.C₂H₄/ml/h se pueden considerar bacterias fijadoras de Nitrógeno, por otro lado en los cromatógrafos de las cepas BR5 y BR11 (Figura 7 y 7.1) en donde se observa la actividad reductora de acetileno se manifiesta en la cepa BR5 donde el etileno es mayor a la BR11.

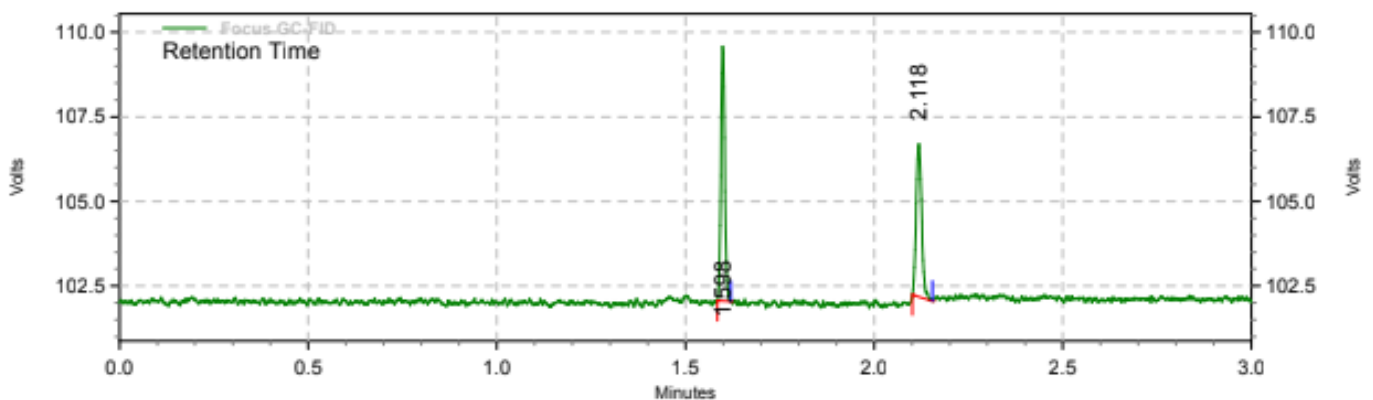


Figura 7. Cromatograma de la actividad reductora de acetileno de la cepa BR5 en medio semigel NFb

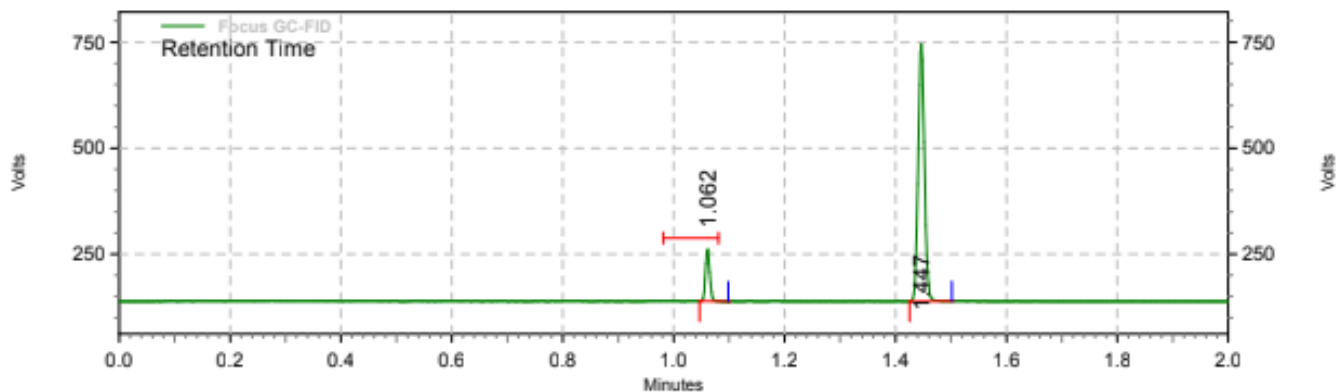


Figura 7.1 Cromatograma de la actividad reductora de acetileno de la cepa BR11 en medio semigel NFb

Se tiene muy poca información de la asociación de *Azospirillum* en cactáceas y en particular sobre fijadores de nitrógeno, en este trabajo se logró aislar e identificar *Azospirillum* del cual, poco se sabe en el cultivo de tuna *Opuntia ficus-indica*, en este contexto la utilización de estos microorganismos en la producción de cultivos ha demostrado gran interés, ya que los biofertilizantes son productos de microorganismos del suelo, esto podría sustituir la utilización de fertilizantes químicos.

El uso de biofertilizantes al aplicarse al suelo tienen importantes beneficios entre los que destacan el aumento de los nutrientes, mejoramiento de la capacidad del suelo para retener agua, mejores condiciones físicas para el desarrollo de las raíces, control de algunas enfermedades y un aumento en la actividad microbiana (Bojórquez., 2010).

9.3 Análisis Bromatológico de la pulpa de tuna. (*Opuntia ficus-indica*).

Tabla 7. Análisis bromatológico de dos variedades de tuna (*O. ficus-indica*).

PARÁMETRO MEDIDO	TUNA ROJA COPENA	TUNA VERDE CRISTAL
HUMEDAD (%)	86.2	88.1
FIBRA (%)	0.36	0.10
CENIZAS (%)	0.86	0.72
CARBOHIDRATOS (%)	12.7	10.6
PROTEINAS (%)	0.07	0.06
EXTRACTO ETÉREO (%)	0.48	0.42
Ph	6.2	5.7
°Bx	11.3	10.5

En la Tabla 7, se presentan los valores obtenidos de las dos variedades de tuna en relación a los parámetros se puede observar que la variedad roja copena presenta valores altos en la mayoría de los parámetros a excepción de humedad con un 86.2%; los valores de humedad concuerdan en lo reportado por Castro M., donde presentan un intervalo de humedad del 85-90% para la tuna (Castro, 2009).

En el caso de pulpas de tunas verdes se ha señalado un intervalo de 12.0 a 17.0 °Brix (Saenz, 2001), nuestros resultados son levemente inferiores, indicaron para tuna verde cristal un porcentaje de 10.5 °Brix.

Figura 8. Muestra de pulpa de tuna verde cristal y roja para la determinación de fibra.



9.4 Análisis microbiológico de la fruta tuna.

Uno de los objetivos establecidos en este trabajo fue evaluar las poblaciones microbianas asociadas a la cascara de tuna en variedad roja copena y verde cristal, para ello se realizó una comparación mediante la fruta fresca sucia (TFS) con la misma fruta pero con un tratamiento de limpieza y desinfección superficial (TSP).

Los resultados de la cuantificación de las poblaciones se muestran en la Tabla 8, se observa que las bacterianas mesófilicas aerobias (BMA) en la variedad roja copena fueron superiores a la de la variedad verde cristal con un 6.2×10^3 UFC/g y un 4.9×10^3 UFC/g respectivamente.

Tabla 8. Población de bacterias asociadas a la cascara de las dos variedades de Tuna fresca.

VARIEDAD	TRATAMIENTOS					
	Tuna fresca sucia (TFS)			Tuna semiprocada (TSP)		
	Bacterias mesófilicas aerobias UFC/g	Enterobacterias UFC/g	Hongos y Levaduras UFC/g	Bacterias mesófilicas aerobias UFC/g	Enterobacterias UFC/g	Hongos y Levaduras UFC/g
Verde Cristal	4.9×10^3	3.0×10^3	2.9×10^3	2.7×10^2	1.1×10^1	2.2×10^1
Roja Copena	6.2×10^3	5.7×10^3	5.1×10^3	5.0×10^2	1.9×10^1	7.1×10^1

*UFC/g: Unidades formadoras de colonia por gramo

Entre los requisitos para el desarrollo de las enterobacterias se requiere de nutrientes agua y temperatura, bajo estas condiciones se evaluaron las poblaciones de enterobacterias; observamos que la tuna roja copena es más vulnerable en el crecimiento de enterobacterias con una población de 5.7×10^3 UFC/g en relación a tuna verde cristal 3.0×10^3 UFC/g. Los resultados obtenidos pueden predecir la incidencia de microorganismos en las frutas y hortalizas, la exposición al ambiente proporciona muchas oportunidades para la contaminación, refleja la calidad sanitaria de las fases de producción (Jay, 2000).

Otro grupo microbiano de interés fueron los hongos y levaduras después de las BMA, el resultado fue de 2.9×10^3 y 5.1×10^3 UFC/g en variedad verde cristal y roja copena respectivamente. Estos valores podrían deberse a la interacción de la fruta con el corte o golpe en la caída de la fruta al contacto con el suelo, cabe mencionar que de manera natural en el suelo existen poblaciones de hongos de $1 \times 10^{3-4}$ quizás estos resultados se podrían deber a una contaminación cruzada (John Wiley & Sons, 1977).

Por otro lado los resultados obtenidos con la fruta semiprocesada (TSP) con un tratamiento de desinfección en la cascara de la fruta tuna, se observa una reducción de población en los tres grupos microbianos de 1 a 2 unidades como en el caso de las enterobacterias que se obtuvo 1.9×10^1 y 1.1×10^1 (Tabla 8).

Como ya se había mencionado el manejo controlado y estandarizado de un proceso de postcosecha en frutas y hortalizas disminuirá la pérdida de cultivos por deterioro microbiano, ya que la mayoría de alteración de las frutas comerciales ocurre después de la recolección (Jay, 2000).

El deterioro de las frutas como la tuna ocurre por una contaminación cruzada dentro de las instalaciones, durante el manejo, eliminación de merma, lavado, clasificación y embalaje antes del almacenamiento. La colonización y el desarrollo de la lesión ocurren dentro del tejido o recubrimiento externo de la fruta tal como hematomas, grietas y pinchazos creando el crecimiento de microorganismos que generan el deterioro (Escartin E. F., 2000).

Comparando los resultados obtenidos con los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos en estado natural, para ser considerados aptos para el consumo humano, de acuerdo a la norma sanitaria RM N° 615-2003 SA/DM proyecto de actualización 2003 (Figura 1). La cual establece en frutas sin ningún tratamiento, a microorganismos indicadores como *Escherichia coli*, con un límite de UFC/g de 10^2 y ausencia por cada 25g de *Salmonella sp.*, los valores obtenidos para la tuna sin la limpieza superficial no cumplen con lo establecido en la normativa, en el caso de las dos variedades dentro de los tres grupos bacterianos se observan cantidades mayores de 10^3 .

Evaluando estos resultados de las cargas microbianas se logró reducir a través de un tratamiento de limpieza y desinfección superficial en la cascara antes de ser almacenadas para su procesamiento y la obtención de subproductos.

En el caso de las frutas semi-procesadas con una limpieza y desinfección se establece el límite UFC/g de 10^3 en Aerobios Mesófilos, 10 en *Escherichiacoli.*, y en *Salmonella sp.*, ausencia por cada 25g, en la variedades analizadas se obtuvieron un 2.7×10^2 y 5×10^2 en variedad verde cristal y roja copena del grupo de las bacterias aerobias mesófilicas y en enterobacterias un 1.1×10^1 y un 1.9×10^1 respectivamente.

Cuadro 1.5. Criterios microbiológicos para frutas y hortalizas frescas (Proyecto de Actualización de la RM n° 615-2003 SA/DM)

FRUTAS Y HORTALIZAS FRESCAS. (Sin ningún tratamiento)	
Agente microbiano	Limite por g.
<i>Escherichia coli</i>	10^2
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia/25g
FRUTAS FRESCAS Y HORTALIZAS SEMIPROCESADAD (Lavadas, desinfectadas, peladas, cortadas y/o pre cocidas)	
Agente micobiano	Limite por g
Aerobios Mesófilos	10^5
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Salmonella sp.</i>	Ausencia/25g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausencia/25g

Se puede observar que un tratamiento y un proceso estandarizado para postcosecha favorecieron a disminuir las poblaciones de microorganismos que deterioren el producto durante su transporte y comercialización, sin generar pérdidas para el agricultor así como también ayudará a obtener productos de alta calidad e inocuos lo que beneficiaría a la salud del consumidor.

De acuerdo a las poblaciones encontradas se logró clasificar aislar, caracterizar e identificar 10 cepas de la variedad roja copena 3 BMA, 6 Enterobacterias, 9 de la variedad verde cristal 5 BMA y 6 Enterobacterias (Tabla 9 y 9.1).

Tabla 9

Tabla 9

TABLA 9.1

TABLA 9.1

TABLA 9.2

Las enterobacterias fueron agrupadas para su identificación y caracterización bioquímica se realizó mediante sistemas API 20E referencia No. 20160 bioMérieux e identificadas por medio de API web. Los resultados se muestran en la tabla 10.1, 10.2 y 10.3.

API 20NE																						
CEPA	NO 3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX	IDENTIFICACION
CTR2ce	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	AEROMONAS HYDROPHILA
CTR12ce	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	AEROMONAS HYDROPHILA
CTR11ce	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	AEROMONAS HYDROPHILA
CTR10ce	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	AEROMONAS HYDROPHILA
CTV3ce	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	AEROMONAS HYDROPHILA
CTV2ce	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	

Tabla 10.1 Identificación de cepas aisladas en medio CE mediante API 20NE

Tabla 10.2 Identificación de cepas aisladas en medio CE mediante API 20E

API 20E																											
CEPA	O N P G	A D H	L D C	O D C	C T S	H 2 S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	O X	N O 2	N 2	M O B	O F O	O F F	IDENTIFICACION
CTR12ce	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
CTR11ce	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	
CTR10ce	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	
CTV2ce	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	

Tabla 10.3 Identificación de las cepas aisladas en medio MC mediante pruebas API 20E.

CEPA	API20E																							IDENTIFICACION			
	O N P G	A D H	L D C	O D C	C I T	H 2 S	U R E	T D A	I N D	V P	G E L	G L U	M A N	I N O	S O R	R H A	S A C	M E L	A M Y	A R A	O X	N O 2	N 2		M O B	O F - O	O F -
CTV1mc	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	ERWINGEL LA AMERICAN A
CTR6mc CTR5mc	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	ENTEROBA CTER CLOACAE
CTV4mc	+	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	ENTEROBA CTER CLOACAE
CTV3mc CTR1mc CTR2mc	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	ENTEROBA CTER CLOACAE
CTV2mc	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	
CTV5mc CTV6mc	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	PANTEA SP

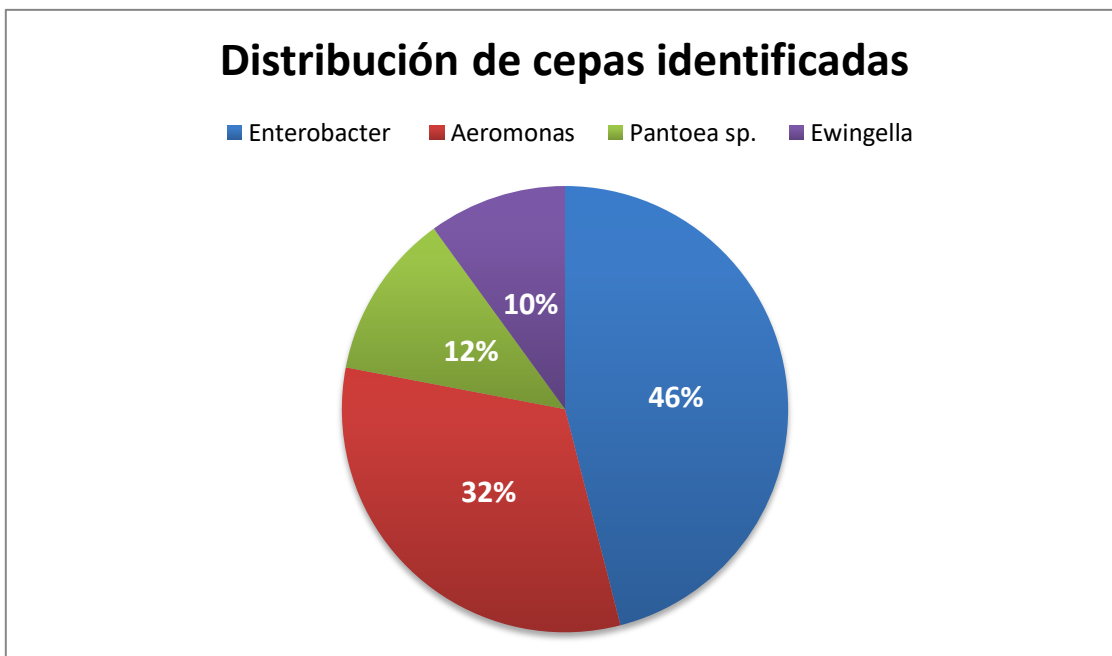


Figura 9. Frecuencia de aparición de los géneros aislados en *Opuntia Ficus-indica*.

Dentro de la población de microorganismos en relación a su morfología se clasificaron en 15 grupos de los cuales se logró identificar 4 géneros bacterianos: *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Pantoea sp.*, *Ewingella*. El género más frecuente fue el de *Enterobacter*, estos resultados concuerdan con la investigación realizada en el cultivo de *Opuntia spp.*, donde encontraron microorganismos asociados a la tuna como *Enterobacter*, *E. coli* y *Pantoea* entre otros provenientes de la rizosfera de la tuna *Opuntia ficus-indica* (Carvalho, 2012).

TABLA 9.4

TABLA HONGOS

En las dos variedades de tuna los géneros más presentes fueron *Phytophthora*, y *Pythium*. Cabe mencionar que estos resultados coinciden con Flores y colaboradores donde identificaron el generó *Fusarium*, en *Opuntia ficus-indica* y relacionan a este hongo a las lesiones con manchas redondas creando perforaciones en el fruto y desprendimiento de tejidos en los cladodios (Flores, 2013).

Otra enfermedad común en frutas es la podredumbre blanca por *Rhizopus*, el crecimiento se presenta de forma algodonoso del moño con pequeños puntos blancos y negros de esporangios. La alteración causada por *Phytophthora*, se presenta como podredumbre de las frutas en el mercado (Jay, 2000).

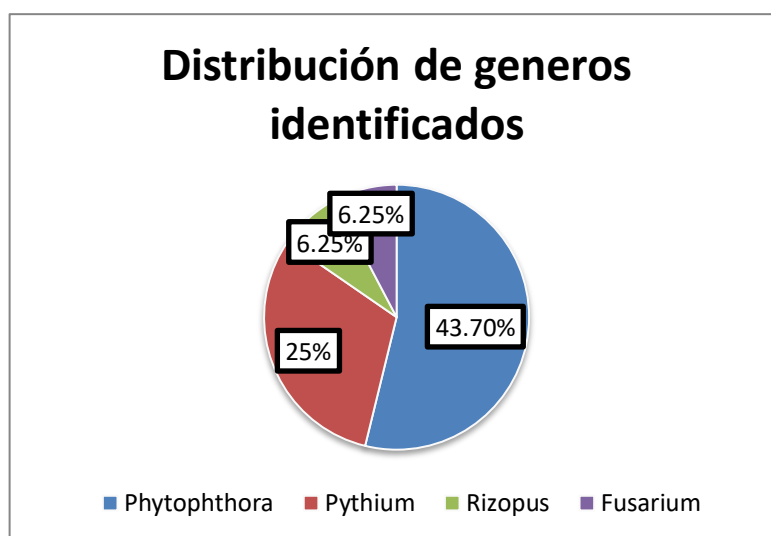


Figura 10. Frecuencia de aparición de los géneros aislados en *Opuntia Ficus-indica*.

Otro de los objetivos fue realizar el análisis microbiológico de la pulpa de tuna de las dos variedades, los resultados se presentan la tabla 12, se observa una menor población dentro de la biota del fruto, con esto se corrobora que es posible obtener buena calidad de materia primara para su procesamiento con niveles bajos de microorganismos, que no causen alteraciones al producto antes de su consumo y favorezcan el tiempo de vida útil de la fruta.

Estos resultados son menores a los criterios microbiológicos de la actualización de RM n° 615-2003 SA/DM para alimentos preparados a base de frutas y hortalizas listas para su consumo, ausencia/25g de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*.

Tabla 12. Población de bacterias asociadas a la fruta fresca de dos variedades de Tuna.

Variedad	Bacterias Mesófilas Aerobias UFC/g	Enterobacterias UFC/g	Hongos y Levaduras UFC/g
Verde Cristal	1.5x10 ¹	<5	<10
Roja Copena	2.3x10 ¹	<5	<10

*UFC/g= Unidades Formadoras de Colonias por gramo

Es importante mencionar que la calidad del agua, la forma y el momento en que se usa para riego, así como las condiciones de la cosecha afectan la posibilidad de contaminación de las frutas y hortalizas, debido a las características morfológicas de las frutas y hortalizas los microorganismos se pueden adherir con facilidad o quedar atrapados en ellas algunos organismos patógenos. La higiene y prácticas sanitarias de los trabajadores durante la producción, recolección, selección, empaque y transporte juegan un papel esencial en reducirlo más posible el riesgo de contaminación microbiológica de frutas y hortalizas frescas (CFSAN, 1998).

Por otra parte dentro de los microorganismos aislados de la pulpa de tuna verde y roja encontramos las levaduras, figura 11 y 12, muestra la morfología característica de las levaduras, mismas que fueron identificadas como *Saccharomyces cerevisiae*. En colaboración del grupo de investigación del CICM (Sánchez, 2017).

Estos resultados se pueden comparar con lo realizado por Reis y colaboradores, en donde evaluaron la fermentación alcohólica de una levadura que mostro las mismas características morfológicas a las halladas en nuestra investigación de tuna y que también identificaron como *Saccharomyces cerevisiae* (Reis, 2013).

Otro género bacteriano asociado a la pulpa de tuna, fue el de *Gluconacetobacter*, una de las características fisiológicas es la producción de ácido glucónico, que podría emplearse para producirse a gran escala y ser utilizado para la industria alimenticia en procesos de fermentación, figura 13 (Jiménez, 2016).

Esta identificación se puede comparar por el trabajo realizado de E. Martínez y colaboradores, donde evaluaron la biodiversidad de bacterias asociada a cultivos de *Opuntia spp.*, variedad rojo vigor y copena, e identificaron mediante técnicas moleculares al género *Gluconacetobacter diazotrophicus* (De Lyra, 2013).

El hallazgo de la levadura *S. cerevisiae* lo hace relevante en relación de que estos microorganismos pudieran aplicarse en procesos de fermentación, y contribuir al desarrollo biotecnológico para la elaboración de bebidas fermentadas y producción de alcohol.

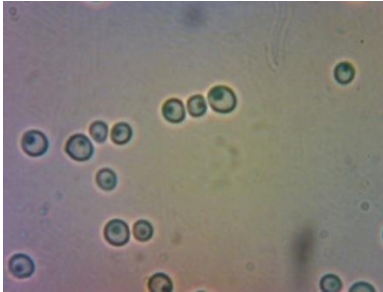


Figura 11. Células microscópicas de la levadura asociada a la tuna.



Figura 12. Cepas de levaduras asociadas a la tuna.



Figura 13. Cepa *Gluconacetobacter* sp., aislada de tuna.

El género de *Gluconacetobacter* aislado de tuna *Opuntia ficus-indica* le da una aportación al cultivo, ya que poca información se tiene de la biodiversidad de este cultivo, en la industria es muy utilizado para la síntesis de vitamina C, producción de vinagre entre otros, estas bacterias se adaptan en soluciones azucaradas o alcohólicas y a bajos valores de pH (Deppenmeier., 2002).

9.5 Evaluación bromatológica y microbiológica de subproductos obtenidos de la Tuna (Jugo y Mermelada).

9.5.1 Análisis bromatológico de subproductos Tuna (*Opuntia ficus-indica*)

Los jugos son ahora apreciados por su valor nutritivo ya que son una fuente de azúcares, vitaminas y minerales, el consumo de jugos naturales son una alternativa dentro de la dieta por su alto grado nutricional, el jugo de tuna en México se consume en restaurantes locales o en casa ya que las características del fruto a echo difícil la estabilidad del producto a nivel industrial.

Existen diferentes tratamientos con capacidad de mantener la vida útil del producto, los tratamientos térmicos son métodos más empleados disminuyendo la carga microbiana e inactivando enzimas (Cruz, 2008). El jugo obtenido de las dos variedades de tuna, se envasaron y se les realizó un tratamiento térmico a 10lb durante 1 minuto y posteriormente se enfriaron de manera gradual, una vez que las muestras obtenidas se estabilizaron a temperatura ambiente, se etiquetaron y se realizó el análisis bromatológico y microbiológico respectivamente.

En la tabla 12 se presenta los resultados obtenidos de cada una de las variedades de tuna y en las figuras 13 y 14 jugo procesado y etiquetado como producto final.

Tabla 12. Información nutricional del Jugo de Tuna (*Opuntia ficus-indica*)

PARAMETROS	JUGO ROJO VARIEDAD	JUGO VERDE VARIEDAD
	Roja Copena	Verde Cristal
Contenido energético	44 kcal	46 kcal
Proteína	0.20 g	0.17 g
Grasas	0.00 g	0.00 g
Carbohidratos totales	11.40 g	10.75 g
Sodio	0.00 mg	0.00 mg
Fibra dietética	0.48 g	0.29 g

*Por cada 100 mL de producto aporta en promedio

Se puede observar que las cantidades en los parámetros analizados son parecidos entre las dos variedades de tuna *Opuntia ficus-indica*, es importante mencionar que la proteína se mantiene presente a pesar del tratamiento térmico realizado, autores como Fatima D. en 2008, han realizado estudios sobre la composición física y química del jugo de siete variedades de *Opuntia spp.*, donde muestran el potencial de la fruta tuna como una fuente nutricional de antioxidantes naturales y se debe considerar como un alimento funcional (Dehbi, 2008).



Figura 13. Jugo de Tuna variedad Roja Copena.



Figura 14. Jugo de Tuna variedad Verde Cristal.

El total de carbohidratos es similar entre ambas variedades, y se encuentra entre valores estadísticos como los que reportan los autores G. Ramírez y colaboradores en 2015, donde analizaron la presencia de los carbohidratos totales en diferentes variedades de *Opuntia spp.* Como se muestra en la siguiente tabla .

La importancia del estudio microbiológico de tuna *Opuntia ficus-india* generan una visión más amplia de cómo generos de *Gluconacetobacter spp.*, podrían estar involucrados en la alteración de los jugos de tuna, debido a que la producción de ácido glucónico producido por este microorganismo, puede acidificar el producto y generar cambios de coloración y organolépticos no deseables.

ESPECIE	VARIANTE	GLUCOSA	FRUCTOSA	SACAROSA	AZUCARES TOTALES
<i>O. ficus-indica</i>	Rojo Pelón	8.00	3.62	0.02	11.64
<i>O. albicarpa</i>	Blanca	8.14	6.39	0.01	14.55
<i>O. megacantha</i>	Amarilla Monteza	6.84	5.06	0.00	11.91
<i>O. streptacanta</i>	Cardona	9.57	5.11	0.00	14.72
<i>O. streptacanta spp.</i>	Charola	7.92	4.87	0.033	12.81
<i>O. robusta</i>	Tapon Rojo	8.77	6.30	0.05	15.13
Promedio general		7.98	4.96	0.019	12.97

Cuadro 1.6. Contenido de azúcares en el jugo de *Opuntia spp.* (Ramírez, 2015)

En muchos países es limitado el consumo de fruta fresca, la revalorización del cultivo Tuna (*Opuntia ficus-Indica*) en la industria a creado un auge en la producción de subproductos artesanales como en este caso que se realizó la producción de mermelada con la pulpa de dos variedades de tuna, libre de productos conservadores o aditivos.

Para cada una de las mermeladas (Figura 15 y 16) se realizó el análisis físico-químico, en la tabla 13 se observa el contenido energético por cada 15g de mermelada, para las dos variedades se obtuvo parámetros muy similares con un intervalo de 10-11 kcal.

Tabla 13. Información nutrimental de mermelada de tuna (*Opuntia ficus-indica*).

PARAMETROS	Variedad Roja Copena	Variedad Verde Cristal
Contenido energético	12 kcal	11 kcal
Proteína	0.15 g	0.10 g
Grasas	0.00 g	0.00 g
Carbohidratos totales	2.55 g	2.50 g
Sodio	1.00 g	1.00 g
Fibra dietética	7.84 g	6.20 g

*Cada 15g de este producto aporta en promedio



Figura 19. Mermelada de tuna variedad Roja Copena



Figura 20. Mermelada de tuna variedad Roja Copena

En cuanto a carbohidratos totales contiene 2.55 y 2.50 g en roja copena y verde cristal respectivamente. En las dos se obtuvo 1.0 g de sodio. Estos resultados se pueden comparar con los obtenidos por López O.M., 2011 en su formulación de mermelada a partir de la pulpa y la cascara de tuna, resultados que se encuentran en el cuadro 1.7 (López, 2011)

Información nutrimental de la mermelada de tuna por porción 15g (1 cucharada).	
Contenido energético (Kcal)	40.48
Proteínas	0.04 g
Grasas	4.35g
Carbohidratos	10.08g
Fibra dietética	4.35g

Cuadro 1.7 Información nutrimental de mermelada de tuna (*Opuntia xocostle*) (López, 2011).

Es importante mencionar que la proteína sigue presente, lo cual es un aporte importante al producto. El contenido de fibra fue de 6.20 y 7.48 g en variedad roja copena y verde cristal respectivamente, siendo un parámetro de gran importancia cabe mencionar el aporte de fibra que contiene el producto de mermelada, beneficiando la salud del ser humano como en el control de diabetes, colesterol y peso corporal (López, 2011).

Las frutas en especial constituyen una parte importante de la alimentación diaria, son necesarias para conservar el aparato digestivo en buen estado. Los especialistas en alimentación recomiendan un consumo de cinco porciones de frutas y verduras al día, sin embargo solo una de cada cinco personas cumplen con esta sugerencia (Aguilar, 2006).

La falta de un plan de mercadotecnia, la baja demanda, la concentración y la estacionalidad de la producción de tuna, ocasionan que una parte de su producción en el estado de México no se coseche o no se comercialice (Juárez N.C., 2006).

La creación de estos subproductos nos ayuda en hacer posible una producción sostenible, trabajando con los sistemas estandarizados cumpliendo con las regulaciones y normas establecidas, aportaremos con productos de calidad y nutricionales para el consumidor, que además es una alternativa para el productor del cultivo del nopal tunero de la comunidad de San Sebastián Villanueva, generando ganancias en su economía.

9.5.2 Análisis microbiológicos de subproductos de Tuna (*Opuntia ficus-indica*)

El análisis microbiológico se realizó por triplicado, se determinó como lo indica la Norma Oficial Mexicana: NOM-092-SSA1-1994, NOM-112-SSA1-1994, NOM-111-SSA1-1994, para cada uno de los grupos bacterianos, los resultados se encuentran en la tabla 14 para jugo pasteurizado y tabla 15 para mermelada de las dos variedades de tuna.

Tabla 14. Análisis microbiológico de Jugo pasteurizado de tuna.

VARIDAD	Primer semana de almacenamiento UFC/ml			Seis meses de almacenamiento UFC/ml			Un año de almacenamiento UFC/ml		
	BMA	CT	HYL	BMA	CT	HYL	BMA	CT	HYL
ROJA COPENA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	233
VERDE CRISTAL	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	195

*n.d.= No detectable, *UFC/ml Unidades Formadoras de Colonias por mililitro, BMA= Bacterias Mesófilicas Aerobias, CT= Coliformes Totales, HYL= Hongos y Levaduras

Tabla 15. Análisis microbiológico de Mermelada de tuna.

VARIEDAD	Primer semana de almacenamiento UFC/ml			Seis meses de almacenamiento UFC/g			Un año de almacenamiento UFC/g		
	BMA	CT	HYL	BMA	CT	HYL	BMA	CT	HYL
ROJA COPENA	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	37	n.d.	7
VERDE CRISTAL	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	25	n.d.	4

*n.d.= No detectable, *UFC/ml Unidades Formadoras de Colonias por mililitro, BMA= Bacterias Mesófilicas Aerobias, CT= Coliformes Totales, HYL= Hongos y Levaduras

En el caso del jugo de las dos variedades de tuna, los resultados no sobrepasan lo determinado por la norma NOM-130-SSA1-1995, los cuales establecen que para jugos con tratamientos térmicos y envasados límites permitidos en BMA 100 UFC/ml Y 25 UFC/ml en hongos y levaduras. Y por último para la producción de mermeladas, purés, jaleas y ates establecen las especificaciones sanitarias con tratamientos térmicos y envasados límites permitidos en BMA 50 UFC/g, menos de 10 UFC/g en enterobacterias y menos de 10 UFC/g en hongos y levaduras, y se obtuvieron valores también por debajo de la norma.

9.6 Extracción y caracterización de aceite de semilla de Tuna por cromatografía y espectrofotómetro de infrarrojo (FTIR)

En la tabla 16 se observa que el mayor rendimiento de aceite, se encontró en la tuna verde cristal con un 10.36%. Los autores Mohamed Ramadan y colaboradores compararon semillas y pulpa de tuna *Opuntia Ficus-indica L.* en la obtención de lípidos totales obteniendo un mayor rendimiento en la semilla (Ramadan, 2003).

Tabla 16. Rendimiento de aceite en la semilla de Tuna (*Opuntia ficus-indica*) por cada 10 gr.

VERDE CRISTAL	ROJA COPNEA
10.36 %	8.74 %

\bar{x} =Media de tres repeticiones.

El contenido de ácidos grasos en el aceite obtenido de las semillas de cada variedad se le realizó, por cromatografía de masas gases CG-MS (tabla 17 y figura 17) y análisis de espectrofotometría de IR (figura 18-19).

Ramadan y colaboradores caracterizaron los ácidos grasos del aceite de *Opuntia Ficus-indica L.*, sus resultados concuerdan con los obtenidos en relación a los ácidos grasos Palmítico, Palmitoleico, Linoleico, G-linoleico, Oleico y Esteárico (Ramadan, 2003).

Las muestras fueron más ricas en ácidos grasos poli insaturados con un 42.8%, los mono insaturados obtuvieron un 35.7% y tan solo un 21.4% de saturados, esto ha logrado un gran interés en el cultivo ya que los ácidos poli insaturados desempeña un papel vital en el mantenimiento de la salud en los seres humanos al minimizar el riesgo de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, artritis diabetes y ciertos tipos de cáncer (Melgar, 2017).

TABLA 17. Porcentaje de ácidos grasos del aceite de dos variedades de tuna.

ÁCIDOS GRASOS			Variedad Tuna Roja mg/mL	Variedad Tuna Verde mg/MI
Miristoleico	Mono-insaturado	-	3.07	3.52
Pentadecanoato	Saturado	-	0.39	0.73
Palmitoleico	Mono-insaturado	ω -7	204.2	86.5
Linoleico	Poli-insaturado	ω -6	7.57	6.76
α -linolenico	Poli-insaturado	ω -6	508.5	695.2
Oleico	Mono-insaturado	ω -9	29.2	29.3
Elaidico	Mono-insaturado	ω -9	21.44	45.4
Estearico	Saturado	-	80.68	64.83
Araquidónico	Poli-insaturado	-	1.44	8.08
Linolelaídico	Poli-insaturado	ω -6	1.69	1.76
Eicosadienoico	Poli-insaturado	ω -6	0.61	0.49
Erucico	Mono-insaturado	ω -9	1.43	0.5
Laurico	Saturado	-	3.07	3.52
Eicosapentaenoate	Poli-insaturado	ω -3	1.19	1.8
Total de Saturados			21.4%	
Total Monoinsaturados			42.8%	
Total Poliinsaturados			35.7%	

\bar{X} =Media de tres repeticiones

En el aceite de las dos variedades de tuna se encuentra un porcentaje alto en Palmitoleico en roja copena con un 204.2 mg/mL y en verde cristal 86.5 mg/mL, también encontramos al α -Linolenico con un 508.5 y 695.2 mg/mL respectivamente, Neuza menciona que la calidad y digestibilidad de los aceites vegetales son determinadas por la cantidad y composición de ácidos grasos insaturados (Neuza, 2011), estos ácidos insaturados proporcionan un alto valor nutricional del fruto tuna, teniendo un impacto en la cantidad de ingredientes esenciales en la dieta.

Los ácidos grasos esenciales para el ser humano son el ácido linoleico y ácido α -linoleico, los ácidos grasos de cadena más larga entre ellos los ácidos araquidónico (AA) y eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA), estos desempeñan un papel esencial en las interacciones fisiológicas de coordinación entre las células (Ronayne de Ferrer, 2000).

Como sabemos el valor económico de las semillas oleaginosas depende de su contenido de aceite, la composición de ácidos grasos es un indicador esencial de su valor nutricional, en la siguiente tabla 17.1 se muestran los resultados que obtuvieron Taoufik y colaboradores del estudio comparativo de diferentes parámetros del aceite de semilla de cactus *Opuntia ficus-indica.*, se seleccionaron muestras de semillas de diferentes ubicaciones geográficas en Marruecos.

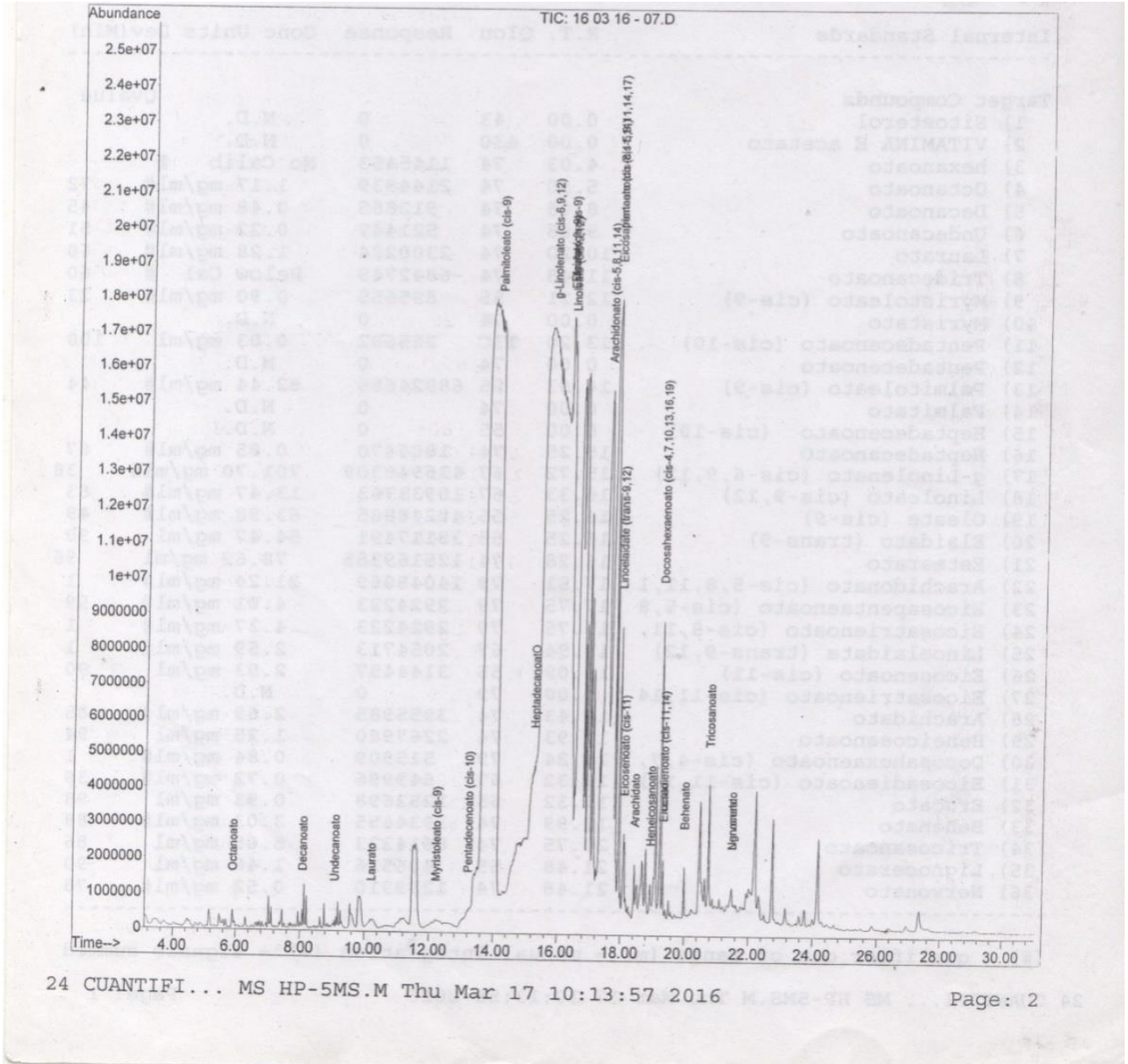
Tabla 17.1 Composición de ácidos grasos en aceite de semilla de *Opuntia* de diferentes orígenes (g/100g).

Muestra	Ácido Palmítico (C16:0)	Acido Araquídónico (C16:1)	Acido Oleico (C18:1)	Acido Linoleico (C18:2)	Acido Gadoleico (C20:0)
1	12.3	0.7	20.4	61.8	0.3
2	11.7	0.7	20.8	60.5	0.3
3	12.1	0.6	19.2	64.6	0.3
4	11.6	0.7	22.6	61.5	0.3
5	12	0.6	21.3	62.7	0.4
6	11.7	0.6	19.9	60.2	0.3
7	11.9	0.7	22.3	61.9	0.3

Se puede observar que como los resultados obtenidos los principales ácidos grasos del aceite de cactus son el ácido palmítico, ácido oleico y ácido linoleico. Representan el 95% de todos los ácidos grasos. La variación de los tres principales ácidos grasos de las semillas de diferentes lugares fue relativamente baja lo que indica que la ubicación tiene solo una pequeña influencia en la composición de los ácidos grasos.

Los resultados tienen un rendimiento de ácidos grasos esenciales importante, esto crea un gran interés de la tuna como una fuente natural de aceite comestible y como utilidad económica en la aportación de nuevos subproductos de la comunidad.

Figura 18. Perfil de ácidos grasos del aceite de tuna *O.ficus-indica*.



En el espectro FTIR del aceite de tuna (Figura 19 y 20), se notan las bandas de vibración características del grupo C=O a los 1750cm^{-1} y los picos de mediana magnitud entre 1400 y 1000cm^{-1} que representan los enlaces C-O, entre la región de 3010 cm^{-1} a 2850cm^{-1} se nota el pico que representa las insaturaciones de las cadenas del aceite, así como la presencia del grupo C=C cerca de los 1650 cm^{-1} (Silverstein, 1991).

Figura 19. Espectro FTIR del aceite de semilla de tuna.

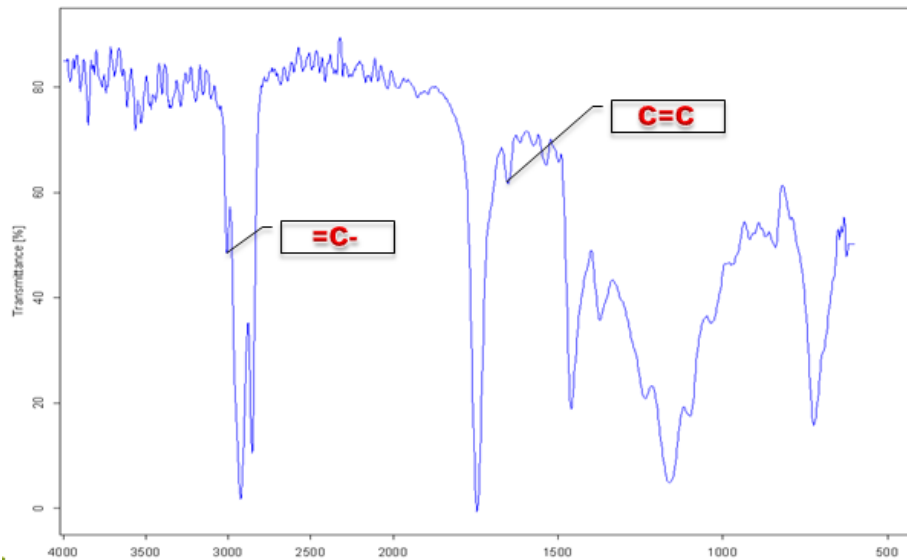
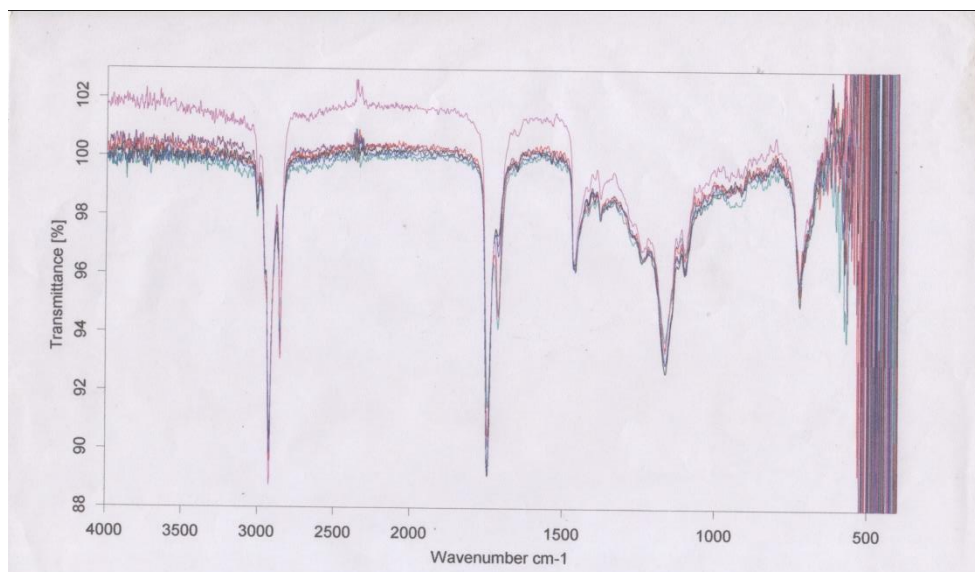


Figura 20. Espectro FTIR del aceite de semilla de tuna variedad verde cristal y roja copena.



10. CONCLUSIONES

- ✓ Las poblaciones microbianas postcosecha de tuna de las dos variedades, roja copena y verde cristal, fueron mayores en relación a las tunas con una limpieza superficial, disminuyendo hasta en dos unidades.
- ✓ Se logró identificar los géneros microbianos asociados a la rizosfera y al fruto de la tuna en las dos variedades, similares a lo reportado por otros autores: *Enterobacter*, *Panteoa*, *Aeromonas*.
- ✓ En este trabajo reportamos la presencia de microorganismos que pueden ser aplicados en procesos biotecnológicos: *Azospirillum spp*, *Gluconacetobacter diazotrophicus* y *Saccharomyces cerevisiae*.
- ✓ Con el hallazgo de BPCV: *Azospirillum spp.* y *Gluconacetobacter diazotrophicus* asociados al cultivo de la tuna, se contribuirá al desarrollo de una producción sostenible considerando nuevas biotecnologías que ayuden a disminuir los daños ambientales, que han generado los fertilizantes químicos a los recursos naturales, salud del consumidor y en la economía del agricultor.
- ✓ Los subproductos obtenidos, jugo y mermelada, mantuvieron sus propiedades nutricionales aportando proteína, carbohidratos y fibra, con un elevado contenido energético.
- ✓ El proceso térmico propuesto fue efectivo logrando con ello una vida de anaquel por más de un año sin “alteración” y conservando sus propiedades nutricionales y organolépticas.
- ✓ El aceite extraído de la semilla de tuna presento un rendimiento de 8.74-10.36%.
- ✓ Se logró detectar en el aceite de tuna, ácidos grasos esenciales para el ser humano, los cuales tienen función antioxidante, se obtuvo en mayor porcentaje ácidos grasos insaturados (13.70%) y poliinsaturados (49.80%), los cuales en su mayoría son $\omega 6$ y $\omega 9$.
- ✓ Se observó la presencia de los ácidos grasos de cadena larga entre ellos Araquidónico (AA), Eicosapentaenoico (EPA), Docosahexaenoico (DHA) los cuales desempeñan un papel esencial en las interacciones fisiológicas como los procesos de contracción y relajación en las funciones cardiovasculares y renales, la ingesta ayuda a la disminución del colesterol.
- ✓ Se comprueba que al realizar las buenas prácticas de laboratorio apegadas a métodos normados y estandarizados se obtuvieron resultados aceptables en el fruto y los subproductos de la tuna en relación a la inocuidad y calidad.

11. BIBLIOGRAFÍA

AAG. (21 de Diciembre de 2016). Produccion Alimentaria. Recuperado el 16 de Enero de 2017, de Produccion Alimentaria: <http://www.aag.org/galleries/mycoe-files/T.Produccion20alimentaria.pdf>

Aguilar A., 2006. Las frutas abanico de nutrientes colores y sabores. PROFECO. https://www.profeco.gob.mx/revista/publicaciones/adelantos_05/frutas_mayo05.pdf

Allaert V.C., Escola R.M. (2002). "Análisis de los alimentos" Capitulo 2:112-272p. Métodos de análisis microbiológicos de los alimentos. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España.

Atlas R.M., Richard B., (2002). Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental.65-95p. Pearson Educacion S.A. Madrid.

Badui Dergal S. (2006). "Actividad de agua" Capitulo 1:(1-28)p. Quimica de los alimentos, 4ed. Editorial Pearson Educacion.México.

Bejarano N.V. y Carrillo (2017). " Frutas y hortalizas" Capitulo 7:71-83p.Manual de Microbiologia de los Alimentos. 1 Ed. San salvador de jujuy, Argentina.

Bojórquez A.A.D., Gutierrez C.G., Baez C.R.J., Sanchez M.A.A., Montoya L.G., Perez M.E., (2010). Biofertilizantes en el desarrollo agricola de México. Ra Ximhai. Vol. (6):51-56p.

Caballero, M.J. (2003). El genero Azospirillum. pp.177-198. En: Microbios en línea. E. Martinez-Romero y J. Martinez-Romero (Eds). Universidad Nacional Autonoma de México. Version electronica en: <http://biblioweb.dgsca.unam.mx/libros/microbios>

Camaró-Sala, M. L., Martínez-García R., Olmos-Martínez P., Cuenca-Catala V., Ocete-Mochón., y Cardona-Gimeno C. (2013) Validacion y Verificacion analítica de los métodos microbiológicos. Enferm Infecc Microbiol Clin.

Carvalho Costa F.E., Soares de M.I., (2012). Endophytic and rhizospheric bacteria from *Opuntia ficus-indica* mill and their ability to promote plant growth in cowpea, *Vigna unguiculata*(L). Walp. (6):1354-1353p.

Castro Marcelo J.J. , Rodriguez Paredes C., Avala Muñoz D. (2009). El Cultivo de Tuna, *Opuntia Ficus-indica*. Gerencia Regional Agraria la Libertad. Trujillo, Perú.18p.

CFSAN, (1998). Guía para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos para Frutas y Hortalizas Frescas. Departamento de Salud y Servicios Sociales Administración de Alimentos y Medicamentos, 1-50p.

Coronado H.M., Vega y León S., Gutiérrez T.R., García F.B., Díaz G.G., (2006). Los ácidos Grasos Omega-3 y Omega-6: Nutrición, Bioquímica y Salud. Departamento de Producción Agrícola y Animal. México D.F. 25(3):72-79p.

Corrales Garcia J. y Hernandez Silva J.L. 2005. Cambios en la calidad postcosecha de variedades de tuna con y sin semilla. Fitotec.México. 28 (1) 9-16p.

Cruz M. V., Vieira M.C., Silva C.L., (2008). Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *InnoVe Food Science & Emerging Technologies* , 438-488p.

Dehbi F., Hasib A., Ouatmane A., Elbatal H., Jaouad A., (2008). Physicochemical Characteristics of Moroccan Prickly Pear Juice (*Opuntia ficus indica* L.). *International Journal of Emerging Technology and Advance Engineering* (4):300-308p.

De Lyra M.C.C.P., Santos D.C., Mondragon J., de Silva M.L.R.B., Mergulhao E.S. y Martínez R.E., (2013). Isolation and molecular characterization of endophytic bacteria associated with the culture of forage cactus (*Opuntia* spp.) *Journal of Applied Biology&Biotechnology*. Volumen 1(01):011-016p.

Deppenmeier U., Hoffmeister M., Pruts C., (2002). Biochemistry and biotechnological applications of *Gluconobacter* strains. *Appl Microbiol Biotechnol* (60):233-242p.

Döbereiner J., Marriel E., Nery M., (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. *Can. J. Microbiol* , (22):1464-1473.

Escartin, E. F. (2000). *Microbiología e inocuidad de los alimentos* . Queretaro: Universidad Autonoma de Queretaro.

Eskin Michael N.A., (1990). *Biochemistry of Foods*. Capitulo 9 Enzymatic Browning. Academic Press. San Diego California 2nd ed. 416-418p.

FAO. (Agosto de 2013). *Agricultura y Medio Ambiente*. Recuperado el 18 de Febrero de 2017, de <http://www.fao.org/docrep/004/y3557s/y3557s11.htm>

FAO. (2 de Enero de 2017). *Organizaciones de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*. Recuperado el 15 de Noviembre de 2017, de *Organizaciones de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*: <http://www.fao.org/sustainable-development-goals/overview/fao-and-post-2015/sustainable-agriculture/es/>

FAO. (1992). *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación* . Recuperado el 09 de Enero de 2018, de *Organización de las*

Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación : <http://www.fao.org/3/a-t0451s.pdf>

FAO. (10 de Junio de 2002). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Recuperado el 27 de Enero de 2018, de Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.: <http://www.fao.org/worldfoodsummit/sideevents/papers/y6656s.htm>

FAO. (01 de Enero de 2003). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Recuperado el 22 de Marzo de 2018, de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: <http://www.fao.org/docrep/009/y5307s/y5307s02.htm>

Flores R. F., Velazquez del V.M., Leon R.R., Flores M.H., Hernandez L.A., (2013). Identification of Fungal Species Associated with Cladode Spot of Prickly Pear and Their Sensitivity to Chitosan. *Journal of Pytopathology* , (161):544-552p.

Frazier W.C. y Westhoff D. C. (1993). *Microbiología de los alimentos* 4 Ed. Capitulo 3. Contaminación de los alimentos 75-105p. Editorial ACRIBIA S.A. Zaragoza.España.

Gamo T., Sang B.A., (1991). Growth-promoting azospirillum spp. isolated from the roots of several non-gramineous crops in Japan. *Soil science and plant nutrition*. Volumen (37):455-461p.

Gomez G.C., (2010). Havana.Capitulo 3:(91-111)p. El desarrollo sostenible: Conceptos basicos, alcance y criterios para su evaluación.UNESCO.HAVANA CUBA.

Holdsworth S.D., (1988). *Conservación de frutas y hortalizas*. Cap 8. Otros métodos de conservación. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 123-138p.

ICMS. (1994). *Microorganisms in foods 2 Sampling for microbiological analysis*. University of Toronto.

Jay, J. M. (2000). *Modern Food Microbiology* 6 Ed. Productos de frutas y hortalizas: enteros, recién cortados y fermentados. Klumer Academic Plenum Publishers. (8):123-153p.

Jiménez S. T. y colaboradores (2006). Nueva formulación del medio de cultivo para la producción de ácido glucónico. Centro Universitario de Vinculación y Transparencia de Tecnología , 1-9p.

John Wiley & Sons, I. (1977). *Introduction to soil microbiology*. Canada: Library of Congress Cataloging in Publication Data.

- Juarez N.C., Gardea J.M., Salazar A.G., Martínez-Damián M., Salas-González J., 2006. Situación actual y perspectiva de mercado para la tuna, el nopalito y derivados en el estado de México. *Agrociencia* 43:73-82p.
- Llovera L. J., Sanchez Y.J., Peña C.J., (1994). Reducción de acetileno por Bacterias asociadas a raíces de especies del Nopal (*Opuntia* spp L). *Revista Latinoamericana* (36):183-189.
- Lopez O.M., Mercado F.J., Martinez S.G., Carranco S.A., Flores C.A., (2011). Formulación de una mermelada a partir de pulpa y cáscara de tunas (*Opuntia* spp.). *Acta Universitaria* (21): 31-36p.
- Madigan M.T., Martihko J.M., Stahi D. y Clark D.P., (2010). *Brock Biología de los microorganismos. Capítulo 29 Conservación de los alimentos y enfermedades microbianas transmitidas por los alimentos*, Ed Pearson Benjamin Cummings. 345-487p.
- Malagie M., Jensen G., Grahamy D., Smith L., (1998). "Procesos de la industria Alimentaria" Capítulo 67:67.2-67.3p. *Industria Alimentaria. Sectores basados en recursos biológicos*. España.
- Marasco R., Rolli E., Ettoumi B., Vigani G., Mapelli F., Borin S., Abou-Hadid A.F., El-Behairy U.A., Sorlini C., Cherif A., Zocchi G., (2012). A Drought Resistance-Promoting Microbiome Is Selected by Root System under Desert Farming. *Jack Anthony Gilbert* 7(10) , 10.
- Melgar B., Pereira E., Oliveira B.M., Castello E.M., Lopez R.A., Sokovic M., Barros L., Ferreira I.C., (2017). Extensive profiling of three varieties of *Opuntia* Spp. fruit for innovative food ingredients. *Food Research International* (101):259-265p.
- Neuza J., Bruna J.B., Moreno L.D., (2011). Actividad antioxidante y perfil de ácidos grasos de las semillas de jabuticaba. *Acta biológica Colombiana. Bogotá, Colombia*. (16): 75-82p.
- NOM-021-SEMARNAT-2000 Norma oficial mexicana, que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. estudios, muestreo y análisis.
- NMX-F-068-NORMEX-2011 Alimentos-determinación de proteínas en alimentos-método de ensayo
- NMX-F-089-S-1987 Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos.
- NOM-110-SSA1-1994, Norma oficial mexicana bienes y servicios. preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

NOM-111-SSA1-1994, Norma oficial mexicana bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

NOM-113-SSA1-1994, Norma oficial mexicana bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.

NOM-116-SSA1-1994, Norma oficial mexicana bienes y servicios. determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. método por arena o gasa.

NMX-F-312-NORMEX-2016 Determinación de azúcares reductores en alimentos y bebidas no alcohólicas-método de prueba.

NMX-F-607-NORMEX-2013 Norma Mexicana establece el método de prueba para la determinación de cenizas totales en alimentos en general y bebidas no alcohólicas.

NMX-F-613-NORMEX-2003 Norma Mexicana establece el método de prueba para la determinación fibra cruda y es aplicable para alimentos y bebidas no alcohólicas que se producen y comercializan en los Estados Unidos Mexicanos.

Norma Sanitaria RM N° 615-2003 SA/DM "Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano.

Olealde P.V., Aguilera G.L.I., (1998). Microorganismos y Biodiversidad. TERRA Vol. 6, Num. 3. , 290-292.

Penot I., Berge N., Guinguene C., Fages J., (1992). Characterization of Azospirillum with maize (Zea mays) in France, using biochemical tests and plasmid profiles. Canadian Journal of Microbiology , (8) 777-803p.

Plaster, E. J. (2000). Soil Science and Management .España: Paninfo ito .

Quispe, R. D., Argani O. (2014). FUNDAMENTOS DE BROMATOLOGIA. Volumen 41:2128-2132p. Revista de Actualización Clínica,Bolivia.

Ramadan M. F., Mörsel J.T., (2003). Oil cactus pear (Opuntia ficus-indica L.). Food Chemistry (82): 339-345p.

Ramirez Z.G., Flores J.B., Rivera A.R., Perez O.M. Pedraza Z.C., Huerta R.A., (2015). EVALUACIÓN DE AZÚCARES Y FIBRA SOLUBLE EN EL JUGO DE VARIANTES DE TUNAS (Opuntia spp.). Agrociencias (48): 141-152p.

Ranken M.D., 1993. Manual de industrias de los alimentos. Cap 3. Zumo de frutas y bebidas refrescantes. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 311-312p.

Rees J.A., Bettison J., Brown K.L., 1994. Proceso termico y envasado de los alimentos. Cap 2. Principios de la conservacion mediante el calor. Editorial Acribia S.A. Zaragoza.17-18p.

Reis V.R., Guarnieri B.A., Gomes de S.J., Ceccato A.S., (2013). Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts exhibiting rough colonies and. *Brazilian Journal of Microbiology* (44):1121-1131.

Reglamento CE N°1441/2007 de la comisión criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios

Rios J., Quintana M.V., (2004). Manejo General del Cultivo de Nopal. Mexico: Joven Emprendedor Rural. 1-80p.

Rodriguez C., E. A. (1982). Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Appl. Environ Microbiol.* , 44.

Ronayne de Ferrer P.A., (2000). Importancia de los acidos grasos poliinsaturados en la alimentacion del lactante. *Arch.argent.pediatr.* Volumen 98(4):231-233p.

Sanchez Alonso P. (2017). Grupo de investigadores. CIMC (Colaboracion de proyecto tuna).

SAGARPA. (18 de Mayo de 2017). SAGARPA. Recuperado el 22 de DICIEMBRE de 2018, de SAGARPA: http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/boletines/2017/mayo/Documents/JAC_00178_18.PDF

SIAP. (21 de 02 de 2004). Anuario Estadistico de la Porduccion Agricola. Recuperado el 17 de Abril de 2017, de Anuario Estadistico de la Porduccion Agricola.: http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp

Silverstein R.M., Clayton B.G., Morrill C.T., (1991). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 6 Ed. John Wiley&SonsInc.(3):91-164p.

Sinergia, L. (07 de Marzo de 2003). Life Sinergia. Recuperado el 25 de Septiembre de 2017, de Life Sinergia: http://www.lifesinergia.org/formacion/curso/03_impactos_ambientales_en_agr.pdf

Storch de Gracia J.M., 1975. Fundamentos de la cromatografia de gases. Cap 1. Cromatografia y cromatografia de gases. Editorial Alhambra S.A. Madrid, España. Pag 1-5.

Tafur Garzon M. A. y MSC. M.V. (2009). La inocuidad de los alimentos y el comercio internacional. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* ,22: 330-338.

Taoufik F., Zine S., El Hadek M., Idrissi Hassani L.M., Gharby S., Harhar H., y Matthäus B., (2015). Oil content and Main constituents of cactus seed oils *Opuntia ficus-indica* of different Origin in Morocco. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism. Vol. 10: 1-9 pp.

Torres-Ponce, R. L. (2015). El nopal: planta del semidesierto con aplicaciones en farmacia, alimentos y nutrición animal. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Vol. 6 (5): 1129-1142.

Turrent F.A., (1998). Producción sostenible de alimentos de origen vegetal. TERRA.Vol. 16 (2):93-111p.

Vessey K. J. (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant soil , 255:571-587p.

