

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
MAESTRÍA EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

Determinación de compuestos bioactivos, capacidad
antioxidante y actividad antimicrobiana en salsas a base de
Xoconostle (*Opuntia oligacantha* C. F. Först)

P r e s e n t a

Ing. Luis Rene Rodarte Medina

TESIS

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencia de los Alimentos

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

ASESORES:

Dr. Javier Castro Rosas

Dra. Diana Jaqueline Pimentel González

Dr. Hyves Desgardins

Tulancingo de Bravo, Hgo. Octubre de 2013



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

Instituto de Ciencias Agropecuarias

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DEL ICAP

Actas de la reunión del Comité de Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos

Apertura:

La reunión ordinaria para evaluar los avances de la tesis intitulada: "Determinación de compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana en salsas a base de Xoconostle (Opuntia oligacantha C. F. Forst), que desarrolla el estudiante I.I.A. Luis Rene Rodarte Medina.

Asistentes:

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Dr. Javier Castro Rosas

Dra. Diana Jaqueline Pimentel González

A. Revisión de Trabajo de Tesis

Observaciones:

El comité revisó con antelación el trabajo de tesis en extenso propuesto por el estudiante, comunicando al I.I.A. Luis Rene Rodarte Medina, oportunamente las correcciones, adiciones y/o modificaciones que debería considerar para mejorar su trabajo y poder continuar con el proceso de obtención de grado. El estudiante atendió de forma conveniente las sugerencias del comité.

B. Acuerdos

En esta fecha, se comunica atentamente que el comité conformado por los profesores firmantes, otorgamos nuestra autorización para que la estudiante imprima su trabajo final de tesis, y continúe con los trámites necesarios para la obtención del grado de maestría respectivo.

ATENTAMENTE

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Tulancingo de Bravo, Hidalgo a 20 de Septiembre del 2013.

Dra. Alma Delia Hernández Fuentes

Dr. Javier Castro Rosas

Dra. Diana Jaqueline Pimentel González



Handwritten signatures of the committee members



AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por el apoyo con la beca de la Maestría en Ciencia de los Alimentos en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo incluida en el Padrón de posgrado del CONACYT.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Salsas.....	3
2.1.1 Clasificación de las salsas.....	3
2.2 Enfermedades transmitidas por los alimentos.....	5
2.2.1. Intoxicaciones alimentarias	7
2.2.2. Infecciones alimentarias.....	7
2.2.3. Causas de las enfermedades transmitidas por los alimentos.....	7
2.2.4. Origen biológico	8
2.3. Microorganismos de mayor preocupación en intoxicaciones alimentarias	8
2.3.1. <i>Salmonella</i>	8
2.3.1.1. Patogenicidad y características clínicas	9
2.3.1.2. Modo de transmisión	10
2.3.1.3. Medidas preventivas.....	10
2.3.1.4. Asociación con alimentos	11
2.3.2. <i>Listeria monocytogenes</i>	12
2.3.2.1. Patogenicidad y características clínicas	13
2.3.2.2. Medidas preventivas.....	13
2.3.2.3. Asociación con alimentos	13
2.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.3.3.1. Patogenicidad y características clínicas	14
2.3.3.2. Modo de transmisión	15
2.3.3.3. Medidas preventivas.....	15
2.3.3.4. Asociación con alimentos	15
2.3.4. <i>Escherichiae coli</i> O157:H7	15
2.3.4.1. Patogenicidad y características clínicas	17
2.3.4.2. Medidas preventivas.....	18
2.4 Actividad Nutraceutica en Alimentos	19
2.4.1. Compuestos fenolicos	19
2.4.1.1. Accion antioxidante de los polifenoles.....	20
2.4.2. Betalaínas	21
2.4.2.1. Clasificación	24
2.4.2.2. Propiedades funcionales y su aplicación como colorante natural	25
2.4.2.3. Métodos de extracción	26
2.4.2.4. Estabilidad.....	26
2.4.2.5. Separación y purificación	29
2.4.3. Carotenoides	29
2.4.3.1. Definición.....	30
2.4.3.2. Clasificación y nomenclatura.....	30
2.4.3.3. Distribucion y estado natural	31
2.4.4. Capacidad de absorción del radical oxigeno (ORAC)	32
2.5. Métodos de preservación y extensión de la vida útil de los alimentos	34
2.5.1. Homeostasis:.....	34

2.5.2. Agotamiento metabólico	34
2.5.3 Reacciones de estrés	35
2.5.4. Cambios genéticos	35
2.6. Conservación de alimentos a altas temperaturas.....	36
2.6.1. Factores que afectan a la termorresistencia de los microorganismos	37
2.6.1.1. Agua	37
2.6.1.2. Grasa.....	37
2.6.1.3. Sales	37
2.6.1.4. Carbohidratos.....	38
2.6.1.5. pH.....	38
2.6.1.6. Proteínas y otras sustancias	38
2.6.1.7. Número de organismos	38
2.6.1.8. Edad de los organismos	39
2.6.1.9. Temperatura de crecimiento.....	39
2.6.1.10. Compuestos inhibidores	39
2.6.1.11. Tiempo y temperatura	39
2.7. Relación entre pH y Temperatura	40
III. JUSTIFICACIÓN	42
IV. OBJETIVOS	43
4.1 Objetivo general:	43
4.2 Objetivos específicos:.....	43
V. HIPÓTESIS	44
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	45
6.1 Establecimiento del experimento.....	45
6.2 Diseño de tratamientos.....	45
6.3 Variables de estudio	47
6.3.1 Físicoquímicos.....	47
6.3.2 Funcionales	49
6.3.3 Microbiológicos.....	52
6.4. Análisis de resultados.....	54
VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES	55
7.1. Análisis físicoquímicos en salsas de Xoconostle	55
7.1.1. Grasa.....	55
7.1.2. Carbohidratos.....	55
7.1.3. Valor energético	56
7.1.4. Cenizas.	57
7.1.5. Humedad.....	57
7.1.6. Proteína	57
7.1.7. Fibra	58
7.1.8. pH.....	58
7.1.9. Sólidos solubles totales (°Brix).....	59

7.1.10. Color.....	61
7.2. Análisis funcionales en salsas de Xoconostle.....	63
7.2.1. Polifenoles.....	63
7.2.2. Capacidad de Absorción del Radical Oxígeno (ORAC).....	64
7.2.3. Carotenoides.....	65
7.3. Análisis microbiológicos en salsas de Xoconostle.....	66
VIII CONCLUSIONES.....	72
IX. BIBLIOGRAFIA.....	74
X. ANEXOS.....	81

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Contenido energético, de proteínas, grasas (lípidos), carbohidratos, azúcares, fibra dietética y sodio en salsas comerciales.	5
Cuadro 2	Principales sustituyentes identificados en betalaínas naturales	25
Cuadro 3	Efecto de la cantidad de AAPH en el ensayo de ORAC de jugos de frutas comerciales	33
Cuadro 4	Técnicas antimicrobianas existentes y emergentes empleadas para la preservación de alimentos	36
Cuadro 5	Contenido nutrimental de salsas de Xoconostle (1)	56
Cuadro 6	Contenido nutrimental en salsas de Xoconostle (2)	58
Cuadro 7	Efecto del pH con base al tiempo de almacenamiento en salsas de Xoconostle.	59
Cuadro 8	Efecto del contenido de sólidos solubles totales (°Brix) con base al tiempo de almacenamiento en salsas de Xoconostle	60
Cuadro 9	Efecto del color con respecto al tiempo de almacenamiento sobre salsas de Xoconostle	62
Cuadro 10	Efecto de los polifenoles con respecto al tiempo de almacenamiento sobre salsas de Xoconostle.	63
Cuadro 11	Efecto de la capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC) con respecto al tiempo de almacenamiento sobre salsas de Xoconostle.	65
Cuadro 12	Efecto del tiempo de almacenamiento sobre Carotenoides totales en salsas de Xoconostle.	66
Cuadro 13	Efecto inhibitorio de cuatro tipos de salsas, extracto de chile y Xoconostle contra bacterias patógenas.	66

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Fenol	19
Figura 2	Estructura química de la betalaína	21
Figura 3	Catión diazaheptametina	22
Figura 4	Estructura de las betacianinas	23
Figura 5	Estructura de las betaxantinas	24
Figura 6	Comportamiento de <i>salmonella</i> Thypimurium en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeracion (b)	67
Figura 7	Comportamiento de <i>E. coli</i> O157:H7 en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeración (b)	68
Figura 8	Comportamiento de <i>Staphylococcus aureus</i> en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeración (b).	69
Figura 9	Comportamiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeración (b).	69
Figura 10	Comportamiento de cuatro patógenos en salsa a base de jitomate y chile jalapeño	70

RESUMEN

Se realizó una determinación de compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana de cuatro tipos de salsas de Xoconostle; S1: Salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita, S2: salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave, S3: salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita y S4: salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave, para determinar el efecto del pH, sólidos solubles totales (°Brix), color, contenido de polifenoles, capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC y carotenoides con respecto al tiempo de almacenamiento donde se tuvieron cuatro tiempos de almacenamiento 0, 30, 60 y 300 días.

Obteniendo como resultados que la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita, es la que presento los mejores valores fisicoquímicos con respecto a los otros tres tratamientos, obteniendo el mejor contenido de carbohidratos (3.15%), el más bajo valor en cenizas (5.16%), el más alto valor de humedad (15.44 %) y aportando 49.16 Kcal/100 g.

Los cuatro tipos de salsa de Xoconostle mostraron niveles de pH similares durante todo el tiempo de almacenamiento (0 a 300 días) con valores de 3.06 a 3.76 de pH

El contenido de sólidos solubles totales (°Brix) fue mayor en las salsas de Xoconostle asados con respecto a las salsas de Xoconostle cocidos en los diferentes tiempos de almacenamiento.

Las salsas de Xoconostle asado fueron las que presentaron un color más oscuro con respecto a las salsas de Xoconostle cocidos, y teniendo una decoloración de color conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento.

El mayor contenido de polifenoles se encontró en la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita y en la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave, a los 0, 60 y 300 días de almacenamiento.

El mayor contenido de actividad antioxidante (ORAC) se observó en la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave y en la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita, en el transcurso del tiempo de almacenamiento (0 a 300 días).

La salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave y la salsa de Xoconostle cocida con tratamiento térmico en marmita presentaron los valores más elevados de carotenoides al tiempo cero con valores de 119.47 y 119.17.

Para determinar la actividad antimicrobiana en las salsas de Xoconostle se hicieron tres formulaciones de salsas; salsa A: salsa de Xoconostle-Chile, Salsa B: Xoconostle-Jitomate y salsa C: Jitomate-Chile

Los análisis microbiológicos concluyen que el uso de Xoconostles como ingrediente en salsas podría contribuir a mejorar o preservar la inocuidad en salsas. El tratamiento térmico no afectó la capacidad antimicrobiana de las salsas a base de Xoconostle. Sería adecuado realizar mayores estudios evaluando otras variedades de Xoconostle para determinar si existe alguna variedad de este fruto con mayor capacidad antimicrobiana para su uso potencial como fuente de antimicrobianos naturales con aplicación en la industria alimentaria.

I. INTRODUCCIÓN

La salsa, al igual que la tortilla, siempre está presentes en la mesa de los mexicanos. En los últimos cinco años, la demanda de salsas creció diez veces en Estados Unidos; países como Corea y Japón están interesados en llevarla a sus comensales. La exportación de salsas preparadas en los últimos años ha ido aumentando; en 2004 México exportó a todo el mundo 111.4 millones de dólares con 70.2 millones de kilogramos, mientras que en 2005 las exportaciones aumentaron a 88.4 millones de kilogramos, que se traducen en 123 millones de dólares. Los principales países a donde México exporta son: Estados Unidos con 85.8 millones de dólares, es decir, un 70 por ciento del total de las exportaciones de salsas; le sigue Japón, Venezuela, Países Bajos y algunas naciones centroamericanas. En el periodo enero-abril de 2005, México exportó al mundo en general un total de 32 mdd, mientras que en el mismo periodo durante 2006, las exportaciones ascendieron a 42.1 mdd, lo que significó un crecimiento de 31.39 por ciento, con respecto al año anterior (Fregoso, 2006).

Ante la creciente demanda, el mercado empieza a adaptarse, primero fue la creación de las llamadas salsas gourmet y ahora sigue la tecnología para generar más en menos tiempo, con una planta creada por el Centro de Investigación y Asistencia Tecnológica del Estado de Jalisco para producir mil litros diarios de salsa por hora. De acuerdo con la información del Banco Mexicano de Comercio Exterior, y datos recopilados por sus consejerías comerciales en Estados Unidos y Canadá, el producto de mayor interés y demanda entre la población hispana es la salsa en todas sus variedades, superando actualmente a la tortilla. Una cuarta parte de las exportaciones de preparados alimenticios mexicanos corresponde a salsas. "El mercado extranjero reconoce la calidad, pero hace falta tropicalizar el sabor a otros paladares, la calidad de la salsa mexicana ya se conoce a nivel mundial, sin embargo no se ha explotado el potencial de las salsas (Horacio Camacho, de CDX, consultoría en comercio internacional) (Fregoso, 2006).

El Xoconostle ha demostrado ser en los últimos años un producto que aporta beneficios a la salud. En México, las estructuras vegetativas y reproductivas de los nopales (*Opuntia* spp.) han sido usadas con fines medicinales desde la época precolombina, un uso que prevalece hasta ahora (Sánchez-Mejorada, 1982; Pimienta-Barrios, 1990). El uso del nopal y Xoconostle se ha extendido a otros países como parte de la medicina alternativa para el tratamiento de la diabetes y otras enfermedades. (Frati *et al.*, 1983a; Yeh *et al.*, 2003). Tesoriere *et al.*, (2005), señalan que al fruto de xoconostle se le atribuyen propiedades medicinales y terapéuticas; anticancerígenas (atribuidas a la alta cantidad de pigmentos y antioxidantes que posee), hipoglucémicas, control del colesterol y reducción del peso corporal, también es conocido como antigripal por su alto contenido de ácido ascórbico que va de 3.8 a 6.5 mg•100 g⁻¹ del fruto fresco (Sánchez y Ortega, 1996). Además, se ha reportado que el fruto del Xoconostle tiene cierta capacidad antimicrobiana. Con base en lo anterior, es posible utilizar Xoconostle como materia prima para la elaboración de diferentes alimentos y conferirles un aporte benéfico a la salud e incrementar su vida de anaquel y mejorar o preservar su inocuidad microbiana.

En el Estado de Hidalgo, México, existen microempresas que elaboran diferentes salsas entre ellas las elaboradas con Xoconostle, y cada día va en aumento su consumo, sin embargo no existen datos del nivel de producción y consumo, así como el aporte nutricional y vida de anaquel. Por lo anterior en este trabajo se propone la elaboración de salsas a base de xoconostle (*Opuntia oligacantha* C. F. Först) y determinar sus compuestos bioactivos, así como su capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

II. ANTECEDENTES

2.1. Salsas

Las salsas se han utilizado en la cocina mexicana desde tiempos muy remotos. Existiendo desde las fabricadas en molcajete, rancheras, hasta las elaboradas para algún platillo en especial como la salsas de tomate teniendo un gran reconocimiento y agrado por los consumidores en México. Su producción y consumo es prácticamente cotidiano entre las familias Mexicanas.

Las salsas son mezclas de ingredientes crudos o cocidos. La palabra salsa proviene del latín *salsus*: “sazonado con sal”, porque la sal ha sido siempre el condimento básico de cualquier cocina; es definida por la Real Academia como una mezcla de varias sustancias de consistencia líquida o pastosa, base de algunos guisos, que puede servirse aparentemente acompañando a ciertos platos. Otra definición para salsas se considera que son aquellas elaboraciones culinarias mediante las cuales se mezclan productos comestibles con el fin de obtener una sustancia más o menos fluida, que sirve para condimentar, asistir y potenciar el sabor del alimento que va a acompañar.

2.1.1. Clasificación de las salsas:

Se suelen clasificar las salsas de formas diversas, ya sea por su temperatura (frías o calientes) o por su color (blancas y oscuras), siendo la forma más usual agruparlas en básicas y derivadas (Tabera, 2006).

Las salsas varían en composición, color, sabor, olor y consistencia de acuerdo a sus ingredientes, preparación y al uso a que se le destinan. En tal sentido, cada salsa tendrá sus características propias. Las salsas son alimentos líquidos espesados, preparados mediante un proceso de cocción lento y cuidadoso, a fin de concentrar al máximo los sabores, olores, elementos nutritivos y gelatinosos de los ingredientes que la constituyen. Con las salsas se da cuerpo, jugosidad y sazón a los manjares. Se emplean en carnes, aves, mariscos, hortalizas, pastas y una gran variedad de preparaciones culinarias.

Los componentes básicos de las salsas son:

- Los fondos: Constituyen la parte líquida de las salsas y están presentes en todas ellas.
- Las ligazones: Son los elementos que dan cuerpo y consistencia a las salsas.
- Los aromáticos: Son los elementos que mejoran, modifican o dan un sabor característico a las salsas. Están presentes en todas ellas

En gastronomía se denomina salsa a una mezcla líquida de ingredientes (fríos o calientes) que tienen por objeto acompañar a un plato. La consistencia líquida (o semilíquida) de una salsa puede cubrir una muy amplia gama que puede ir desde el puré a la más líquida de un caldo. Algunos autores definen la salsa como un aderezo líquido para los alimentos. El objetivo de la salsa es acompañar a otras comidas como un aderezo mejorando el sabor, haciendo un contraste o complementando, es por este motivo que suelen ofrecer al paladar sensaciones relativamente marcadas que estimulen los sentidos del paladar y de los aromas. Las salsas no sólo afectan a las sensaciones del gusto y el olor, pueden ofrecer colores diversos que afectan a la apariencia visual de un plato y a veces orquestan diversas sensaciones al mismo tiempo.

La primera habilidad de todo cocinero debe ser la elaboración de salsas. Las cualidades especiales de una salsa elaborada reflejan las habilidades del cocinero. Las salsas admiten muchas categorías: por temperatura (frías o calientes), por sabor (dulces, picantes, agrias, etc.), por contenido (emulsionantes, ligazón, etc.), por estabilidad, etc. A pesar de todo ello en la actualidad las salsas se venden en conserva y se encuentran disponibles en cualquier supermercado.

En la alta cocina existen cocineros dentro de la organización de la cocina que están especializados en las tareas de elaboración de las diferentes salsas que se emplean en los platos, se denominan del francés: "Saucier" (*salsero*). En este tipo de cocina se emplea la salsa a veces como un elemento decorativo en la presentación del fondo de algunos platos.

Actualmente en el mercado Mexicano existe una gran variedad de salsas denominadas “Salsas Caseras”, rango en el cual se encuentra la salsa que en este trabajo se realiza, en el cuadro 1 se muestran diferentes tipos de salsas existentes en el mercado, y se comparan los valores nutrimentales que estos contienen con la salsa elaborada a base de xoconostle

Cuadro 1. Contenido energético, de proteínas, grasas (lípidos), carbohidratos, azúcares, fibra dietética y sodio en salsas comerciales.

	Herdez salsa 5 chiles	Del Monte Salsa Taquera	Búfalo Salsa Norteña	La Costeña Salsa Taquera
sin conservadores	por cada 100 g			
Contenido energético	70 cal (270 KJ)	117.9 KJ (42.3 Kcal)	15 cal (62.1 KJ)	110KJ (25 Kcal)
Proteínas	1 g	1.2 g	< 1 g	1 g
Grasas (lípidos)	1 g	1.5 g	0 g	2 g
Grasas saturadas	0 g	0 g	0 g	0 g
Carbohidratos	13 g	6 g	3 g	4 g
Azúcares	10 g	0.5 g	3 g	0 g
Fibra dietética	2 g	1.8 g	< 1 g	3 g
Sodio	1,180 mg	650 mg	590 g	980 mg

2.2. Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA´s)

Los alimentos tienen una amplia asociación con la transmisión de enfermedades. Aunque hoy, a pesar del incremento en el conocimiento, “Las enfermedades transmitidas por los alimentos”, es tal vez el mayor problema de salud extenso en el mundo contemporáneo y una causa importante de la reducción de la productividad económica. La evidencia disponible claramente indica que los contaminantes biológicos son la mayor causa (Jay, 2002).

Una fuerte tendencia es el uso de procesos en donde se obtengan productos que sean menos procesados, tengan mayor calidad, más naturales, libres de aditivos y nutricionalmente más saludables (Gould, 1996).

Sin embargo existe la necesidad de utilizar la combinación de diferentes técnicas de preservación que garanticen, la inactivación o inhibición de los microorganismos patógenos debido a las diferentes respuestas (sobrevivencia) que estos pueden generar en condiciones de estrés, pudiendo llegar hasta el consumidor final. Ha sido demostrado que la aplicación leve de calor a valores bajos de pH, disminuye la resistencia de esporas (Gould, 1996).

El principal objetivo (microbiológicamente) del calentamiento de los alimentos es el de destruir las células vegetativas y esporas de microorganismos los cuales incluyen hongos, levaduras, bacterias y virus (incluidos bacteriófagos). Aunque un muy drástico tratamiento de calor (esterilización) puede ser usado para destruir todos los microorganismos presentes en el alimento, la mayoría de los alimentos son calentados para destruir patógenos específicos y algunos microorganismos deterioradores, los cuales son importantes en el alimento. Esto es necesario en el orden de retener las cualidades de aceptación y nutricionales en una alimento. Para el control del crecimiento de los microorganismos sobrevivientes en el alimento, otros métodos de control son usados seguidos del tratamiento de calor (Ray, 2004).

Las enfermedades se clasifican en transmisibles y no transmisibles. Entre las primeras se encuentran las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). En la transmisión de las enfermedades participan 3 elementos que reciben el nombre de triada ecológica: el agente causal, el ambiente o vía de transmisión y el hospedero susceptible (Caballero, 2008).

Las enfermedades transmitidas a través de los alimentos es cualquier síndrome originado por la ingestión de productos alimenticios y/o agua que contengan agentes causales en cantidades letales, que afecten la salud del consumidor a escala individual o grupos de población. Estas se producen en cualquiera de las etapas de la cadena alimentaria (producción, transporte, almacenamiento, elaboración, distribución y consumo de alimentos). Se clasifican en intoxicaciones e infecciones (Caballero, 2008).

2.2.1. Intoxicaciones alimentarias

Son las producidas por la ingestión de toxinas formadas en tejidos de plantas o animales, o de productos metabólicos de microorganismos en los alimentos, o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencional, desde su producción hasta su consumo. Fundamentalmente son de carácter gastroentérico agudo, con notable y principal sintomatología tóxica, aparece de forma brusca después de la absorción de alimentos contaminados con microorganismos o con metabolitos elaborados por ellos, por ejemplo, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum* (Caballero, 2008).

2.2.2. Infecciones alimentarias

Son las producidas por la ingestión de alimentos y/o agua contaminados con agentes infecciosos específicos tales como bacterias, virus, hongos y parásitos, que en la luz intestinal pueden multiplicarse o lisarse y producir toxinas o invadir la pared intestinal, y desde allí alcanzar otros aparatos o sistemas. Tienen un periodo de incubación mucho más prolongado (Caballero, 2008).

La transmisión de enfermedades mediante el consumo de alimentos es un fenómeno ya conocido; sin embargo, recientemente y en todo el mundo se ha constatado el aumento de su frecuencia, cambios en las causas predominantes y en la dinámica epidemiológica. De este modo se han producido fenómenos mundiales como la reaparición del cólera epidémico en las Américas, el aumento de la frecuencia de la *Salmonella enteritidis* vinculada al consumo de aves y huevos, y la aparición de otros agentes que no se conocía su papel en la transmisión mediante los alimentos como *Escherichia coli* o157:H7 y *Listeria monocytogenes* (Caballero, 2008).

2.2.3. Causas de las enfermedades transmitidas por los alimentos

- Sustancias tóxicas contenidas en el propio tejido de los animales y plantas.
- Adición de aditivos, ejemplo nitrito
- Metales tóxicos (mercurio, arsénico, hierro, plomo)

- Agentes químicos (plaguicidas, residuos de materiales de empaque, productos de limpieza u otros venenos)
- Origen biológico

2.2.4. Origen biológico

Dentro de las causas bacterianas están la *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila*, *Plesiomonas shigelloide*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, infecciones por *Vibrios* y *Clostridium*, *Shigella*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, entre otros (Caballero, 2008).

2.3. Microorganismos de mayor preocupación en intoxicaciones alimentarias

Los microorganismos que causan la mayoría de los casos esporádicos y brotes de intoxicaciones alimentarias se encuentran *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Salmonella* species, *Escherichiae coli* entero patogénica, *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, Otras especies también involucradas se encuentran *Shigella* species, *Enterococcus* species, *Pseudomonas aeruginosa*, hongos y virus (Gould et al., 1995).

2.3.1. Salmonella

La *Salmonella* es una bacteria patógena para el hombre y muchos animales, produce una enfermedad de origen alimentario conocida como salmonelosis, que se presenta en formas esporádica y de brotes (Caballero, 2008). Es miembro de la familia *Enterobacteriaceae*, Gram negativa, bacilos, no formadora de esporas, anaerobios facultativos, catalasa positiva, oxidasa negativa, y en general móviles, con flagelos. El crecimiento ha sido registrado a temperaturas justo por encima de 5°C hasta 47°C, con un óptimo a 37°C. Es sensible al calor y es fácilmente destruida por las temperaturas de pasteurización (Adams, 2000).

El mínimo, para el crecimiento es alrededor de 0,93, pero las células sobreviven bien en los alimentos secos, la tasa de supervivencia aumenta como la Aw

disminuye. El pH mínimo de crecimiento varia con el acidulante de desde 5,4 con ácido acético a 4,05 con ácido cítrico y ácido clorhídrico. El crecimiento óptimo se produce alrededor de pH 7 (Adams, 2000).

En la actualidad existen más de 2500 serotipos de *Salmonella*, todos considerados potencialmente patógenos para el hombre. En los últimos años la aplicación de técnicas moleculares, basadas en análisis y reacciones de material genético, ha dado lugar a una reclasificación de los serotipos en un nuevo esquema de subespecies (Caballero, 2008).

Se reconocen 2 líneas primarias en la evolución con las especies *S. entérica* y *S. bongori*, los miembros de la primera se dividen en 7 subespecies (I, II, III a, IIIb, IV, VI, y VII). En el I se encuentran los serotipos que causan enfermedad en humanos y animales de sangre caliente. En los grupos II al VII están los serotipos aislados de vertebrados de sangre fría *S. bongori* se sitúa en el grupo V (Caballero, 2008).

2.3.1.1. Patogenicidad y características clínicas

Los factores de virulencia o atributos de patogenicidad de *Salmonella* incluyen: la habilidad para invadir células, poseer una cubierta completa de lipolisacárido, capacidad para replicarse intracelularmente y posibilidad de producción de toxinas. Se conocen 3 formas clínicas de salmonelosis en el humano: gastroenteritis (causada por *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, etc.), fiebre entérica (causada por *S. typhi* y *S. paratyphi*) y una enfermedad invasiva sistémica (ocasionada por *S. choleraesuis*). Las complicaciones menos comunes pero más graves pueden ser artritis y pericarditis, puede producir también un cuadro grave, con meningitis, aborto y hasta la muerte (Caballero, 2008).

El periodo de incubación es de 6 a 72 horas, por lo regular de 12 a 36 horas. Se clasifica como una enfermedad de origen alimentario, pues los alimentos contaminados constituyen el modo predominante de transmisión. Se puede transmitir durante toda la evolución de la infección, usualmente de unos días a varias semanas. A veces el estado del portador temporal continúa durante meses, especialmente en lactantes (Caballero, 2008).

Reservorio Los animales domésticos entre los que se destacan las aves, cerdos, bovinos, perros y gatos. También el hombre, especialmente enfermos y convalecientes. El estado de portador en el hombre es raro, aunque es frecuente en los animales (Caballero, 2008).

2.3.1.2. Modo de transmisión:

Los alimentos como las carnes, huevos y leche frecuentemente contienen *Salmonella* por contaminaciones de los animales que las originan o durante el proceso de obtención de estos. Estos productos pueden contaminar otros alimentos que contactan directamente con ellos, entre los que se destacan los entrecruzamientos de alimentos crudos con los preparados para el consumo o indirectamente a través de las superficies de equipos y utensilios.

En los procesamientos de estos alimentos contaminados pueden sobrevivir este tipo de microorganismo cuando no se aplican tratamientos térmicos, de acidificación u otros que sean suficientes para la destrucción de los mismos, lo cual permite que con la ingestión de los alimentos sea adquirida la infección por estos agentes.

Los alimentos pueden ser contaminados con *Salmonella* por las heces fecales de animales o de los manipuladores. Estas contaminaciones son más frecuentes por la participación de moscas y otros vectores, así como por las manos sucias de los manipuladores.

La *Salmonella* se multiplica en los alimentos hasta cantidades millonarias cuando estos son expuestos a malas condiciones de conservación, a temperatura ambiente y por tiempo prolongado entre la elaboración y el consumo (Caballero, 2008).

2.3.1.3. Medidas preventivas

- Adquirir alimentos de origen animal de buena calidad sanitaria y en correcto estado de conservación, preferiblemente de proveedores conocidos por la calidad de sus productos.

- Evitar las contaminaciones de otros alimentos a partir de productos de origen animal, incluyendo las formas indirectas a través de las superficies de equipos y utensilios, así como las causadas por los manipuladores y vectores.
- Cocción correcta de los alimentos u otros procesamientos como la acidez.
- Evitar las contaminaciones postérmicas
- Limitar el tiempo entre la elaboración y el consumo de los alimentos (Caballero, 2008).

2.3.1.4. Asociación con alimentos

Se considera que el reservorio de *Salmonella* es el tracto intestinal de animales y hombres. *Salmonella* es una bacteria primariamente parasita intestinal de los animales incluido el hombre, se libera al medio ambiente por las heces, donde muestra determinada capacidad de supervivencia en los materiales que contacta; en condiciones favorables se multiplica, y los alimentos no son una excepción. Se puede aislar del medio ambiente en general, lo que incluye, agua, tierra, etc.; vegetales, animales salvajes, de explotación, acuáticos, domésticos y el hombre. La principal forma de contagio es vía oral, se puede transmitir de manera directa a través del contacto con las heces fecales de personas enfermas o por medio de alimentos (leche y sus derivados, verduras, frutas, carne, huevos, etc.) o agua contaminada y hasta por objetos infectados por moscas o ratas (Caballero, 2008).

El vehículo humano es generalmente menos importante que los animales en la transmisión de salmonelosis. La trasmisión humana puede ocurrir si las manos contaminadas de materia fecal de un manipulador de alimentos toca el alimento, el cual es después consumido sin ninguna cocción adecuada, después de un periodo en el cual el crecimiento microbiano ocurra. Propagación directa persona a persona por la ruta fecal – oral es también posible pero es usualmente restringida por los brotes institucionales tales como ocurre en hospitales, hogares de personas ancianas y viveros (Adams, 2000).

Los vegetales no deberían ser normalmente una causa de preocupación de salud pública por la transmisión de bacterias patógenas tales como *Salmonella* y *shigella* es posible la contaminación directa por excrementos de aves y animales, el uso de estiércol o aguas residuales como fertilizantes, o el uso de aguas contaminadas para irrigación. Apio, lechuga, col, jitomate han sido asociados con infecciones de *Salmonella*, incluyendo fiebre tifoidea y paratifoidea, y un brote de shigellosis ha sido trazado a lechuga picada (Adams, 2000).

2.3.2. *Listeria monocytogenes*

Constituye una bacteria patógena emergente, reconocida como agente causal en ETA a partir de los años 80 del siglo XX, por la ocurrencia de numerosos brotes de origen alimentario de los cuales fue el microorganismo responsable. Se encuentra en los ambientes más diversos, posee sorprendente resistencia al medio, son capaces de sobrevivir y multiplicarse en condiciones de temperatura y pH que no resultan de ordinario habituales en otros microorganismos patógenos, afines o no. (Caballero, 2008). *L. monocytogenes* es el único patógeno humano importante entre las seis especies actualmente reconocidas dentro del género *Listeria*, aunque *L. seeligeri*, *L. welshimeri*, y *L. ivanovii* ocasionalmente han sido asociadas con enfermedades humanas (Adams, 2000).

L. monocytogenes es un bacilo corto Gram positivo, aerobio facultativo, no esporulado, móvil entre 20 y 25°C; es mesófilo, aunque capaz de crecer en temperaturas que van desde -4.4°C hasta 45°C. Es termolábil, sin embargo se considera más resistente al calor que otros patógenos, como *Salmonella*; sobrevive la desecación; tolera y crece sin problemas en concentraciones de 10% de cloruro de sodio y sobrevive a valores de hasta 20-30% (Caballero, 2008). La resistencia al calor de *L. monocytogenes* es similar a otras gram positivas no esporuladas con un D60 de unos pocos minutos y a D70 de unos pocos segundos.

Es una bacteria invasiva, sus mecanismos de patogenicidad son poco entendidos aun, la característica más importante del germen es su capacidad para sobrevivir y multiplicarse en los macrófagos (Caballero, 2008).

El crecimiento de todas las cepas es inhibido a un valor de pH por debajo de 5.5 pero el mínimo pH de crecimiento depende de dos la cepa y el acidulante, existen varios reportes entre 5.6 y 4.4 (Adams, 2000).

2.3.2.1. Patogenicidad y características clínicas

La incidencia de infección es sin embargo baja si la infección resultará solo de un individuo susceptible cuando este es expuesto a una dosis alta suficiente de una cepa virulenta (Adams, 2000).

Los síntomas de la enfermedad, la cual es más probable de desarrollar en mujeres embarazadas, niños o ancianos y los inmunocomprometidos, puede variar desde una enfermedad leve, como gripe y enfermedad de la meningitis (Adams, 2000).

Reservorio: Animales, sus alimentos y el agua. El hombre puede ser portador asintomático.

Modo de transmisión: Existen reportes de brotes asociados a la ingestión de leche y quesos no pasteurizados, también por vegetales contaminados como las coles afectadas por los residuales de una explotación ganadera.

2.3.2.2. Medidas preventivas:

Consumo de alimentos de origen animal totalmente cocidos, especialmente la pasteurización de la leche y los productos lácteos.

Evitar la contaminación de alimentos de origen vegetal con residuales del hombre o los animales (Caballero, 2008).

2.3.2.3. Asociación con alimentos

Su amplia distribución en el medio ambiente y su capacidad para crecer en la mayoría de los alimentos no ácidos ofrece a *L. monocytogenes* un montón de oportunidades para entrar en la cadena alimentaria y multiplicarse (Adams, 2000).

Verduras crudas, como el apio, tomates y lechuga también han sido implicados en brotes ocurridos (Adams, 2000).

Listeria monocytogenes, especie psicrótrofa la cual es comúnmente asociada con materiales de plantas, suelo, animales, aguas residuales y un rango amplio de otras fuentes ambientales. Apio crudo, tomate y lechugas han sido implicados en brotes epidemiológicos por listeriosis. Cepas de *L. monocytogenes* pueden crecer en repollo picado y ensaladas de verduras a temperaturas tan bajas como 5°C y en atmosferas modificadas que al parecer no tienen efectos sobre el microorganismo (Adams, 2000).

2.3.3. *Staphylococcus aureus*

En la microbiología sanitaria el germen tiene interés especial tanto por las enterotoxinas que produce, como por el especial significado que se deriva de su presencia abundante en un alimento. Es un típico indicador de contaminación humana en aquellas que han sido objeto de tratamiento térmico. La producción de enterotoxinas no se relaciona con la lista anterior de padecimiento; en todos estos implica un proceso infeccioso, es decir, la actividad del microorganismo en los tejidos. Son esencialmente distintos de la intoxicación alimentaria por *S. aureus*. (Fernández, 2000)

2.3.3.1. *Patogenicidad y características clínicas*

S. aureus es un patógeno potencial para el hombre y animales que se manifiesta de diversas formas. Dentro de su ciclo natural existe como parásito intrascendente en diversas localidades del cuerpo humano; o puede dar lugar a procesos patológicos que van desde infecciones muy localizadas del tipo de un forúnculo autolimitado o sinusitis, otitis, y muchos otros, hasta septicemia y endocarditis con letalidad de 40-80% (Joklik *et al.*, 1988) y síndrome de shock tóxico.

Reservorio: Es una bacteria común en diversos tejidos del hombre y animales, principalmente en algunas mucosas del hombre y animales. La mucosa nasal es la localidad que más comúnmente alberga. Se le conoce como un patógeno oportunista (Fernández, 2000).

2.3.3.2. Modo de transmisión:

La expulsión de a través de descargas bucales, faríngeas y nasofaríngeas ocurre fácilmente entre los individuos portadores. Los gérmenes contaminan el ambiente, a su vez se convierte en una fuente de contaminación a los alimentos, equipo y otros materiales en los establecimientos que manejan alimentos.

La situación más común y peligrosa de contaminación por animales es la mastitis en el ganado lechero sea subclínica, crónica o aguda. (Olson *et. al.*, 1970) (Fernández, 2000).

2.3.3.3. Medidas preventivas:

- Educación sanitaria y exigir el correcto lavado de las manos
- Mantener los alimentos tapados y protegidos contra vectores
- Control de las moscas
- Evitar el fecalismo al aire libre y correcta disposición de los residuales (Caballero, 2008).

2.3.3.4. Asociación con alimentos

S. aureus se recupera fácilmente a partir de alimentos crudos de origen animal o cocinados, especialmente entre aquellos que requieren manipulación estrecha para su preparación. Posee una notable capacidad para proliferar en diversos alimentos. Bajo condiciones propicias la tasa de crecimiento conduce a la concentración de suficiente enterotoxina para provocar brotes de gastroenteritis severos (Fernández, 2000).

2.3.4 *Escherichiae coli* O157:H7

Escherichiae coli patógena forma parte importante de la microbiota intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, sin embargo, algunas cepas han desarrollado capacidad para provocar enfermedad en el hombre, como son las infecciones gastrointestinales. Estas cepas patógenas representan la principal causa de diarrea infantil en el mundo (Caballero, 2008).

La capacidad de *E. coli* patógena para producir enfermedad está determinada por factores de virulencia que le permiten infectar a sus huéspedes y sobreponerse a los mecanismos de defensa, como la producción de adhesinas, enterotoxinas, citotoxinas, y otras proteínas que le permiten sobrevivir en condiciones ambientales adversas (Caballero, 2008).

Actualmente se reconocen 6 grupos de *E. coli* patógenas que dan lugar a diversos padecimientos, entre estos existen diferencias clínicas y epidemiológicas, así como en la estructura antigénica y mecanismos de patogenicidad de los diferentes grupos (Caballero, 2008).

Cepas patógenas de *E. coli*:

- Entero patógena (ECEP)
- Enterotoxigenica (ECET)
- Enteroinvasiva (ECEI)
- Enterohemorrágica (ECEH)
- Enteroadherente (ECEA)
- Enteroagregativa (ECEG)

E. coli enterohemorrágica fue identificada en 1982 en los Estados Unidos durante un brote epidémico de colitis hemorrágica en varios estados, y se demostró que era debido a un serotipo específico. Este grupo incluye cepas de *E. coli* que causan procesos infecciosos, entre lo que destaca como complicación la colitis hemorrágica (diarrea sanguinolenta severa) y el síndrome urémico hemolítico. Elabora toxinas potentes, llamadas toxinas similares a shiga 1 y 2 (por su gran semejanza con las toxinas shiga de *S. dysenteriae* 1), también fueron llamadas toxinas vero I y II. La producción de estas toxinas depende de la presencia de algunos fagos que transporta la bacteria. Además, las cepas tienen un plásmido que codifica un nuevo tipo de fimbrias que intervienen en la adherencia de la bacteria a la mucosa intestinal (Caballero, 2008).

El serotipo *O157:H7* es el prototipo del grupo y se considera una de las bacterias patógenas emergentes transmitidas por alimentos más importantes en los últimos años, también se ha dicho que intervienen como agentes patógenos serotipos como *O26:H11* y *O11H8* (Caballero, 2008).

E. coli O157:H7 fermenta la lactosa pero no el sorbitol dentro de 48 horas, no produce glucuronidasa – base de la reacción de MUG ampliamente utilizada para identificar *E. coli* y tiene además como cualidad muy distintiva el hecho de que no se desarrolla a temperaturas superiores a 42°C (Caballero, 2008).

ECEH posee factores de virulencia como la producción de factores de adherencia, de citotoxinas, enterohemolisinas, capacidad para transportar hierro y desarrollo de lesiones de adherencia y esfacelamiento con destrucción de las microvellosidades del epitelio intestinal (Caballero, 2008).

Escherichiae coli es catalasa – positiva, oxidasa – negativa, fermentativa, Gram – negativa, bacilo no esporulado. Genéticamente, *E. coli* es relacionada con el género *Shigella*. *E. coli* puede ser diferenciada de otros miembros de la familia Enterobacteriaceae basado en la fermentación del azúcar y otras pruebas bioquímicas (Adams, 2000).

E. coli es un mesófilo típico creciendo desde 7 – 10°C hasta 50°C con un óptimo alrededor de 37°C, aunque ha habido reportes de algunas cepas de ETEC creciendo a temperaturas tan bajas como a 4°C. *E. coli* no muestra una marcada resistencia al calor, con un valor D a 60°C en el orden de 0.1 minutos, y puede sobrevivir a almacenamiento de refrigeración o congelación por periodos extensos. Un pH cercano a la neutralidad es óptimo para su crecimiento, pero es posible el crecimiento por debajo de un pH de 4.4 en condiciones óptimas. La Aw mínima para su crecimiento es 0.95 (Adams, 2000).

2.3.4.1. Patogenicidad y características clínicas

E. coli enterohemorrágica (ECEH) ha atraído la atención nos solo por ser una enfermedad transmitida por los alimentos más común que otras *E. coli*

diarreogénicas, sino por el daño que causa el cual puede variar desde una diarrea no sanguinolenta, una colitis hemorrágica, hasta la vida en peligro por las condiciones del síndrome urémico hemolítico y la trombocitopenia trombótica purpura (Adams, 2000).

La colitis hemorragias es una infección que se caracteriza por diarreas sanguinolentas después del consumo de alimentos contaminados. Algunos enfermos pueden presentar complicaciones renales (síndrome urémico hemolítico) y otras manifestaciones de mayor gravedad. El principal microorganismo productor de la enfermedad es *Escherichiae coli* enterohemorrágica O157:H7, que es sensible al calor de los tratamientos normales de cocción de los alimentos. (Caballero, 2008).

Reservorio: El ganado bovino fundamentalmente y también el hombre.

Periodo de incubación: Los síntomas se presentan entre 24 y 48 horas después del consumo de alimentos contaminados.

Modo de transmisión: Por el consumo de carnes mal cocidas, con mayor frecuencia las carnes molidas y también la leche. El hombre puede contaminar los alimentos debido a los malos hábitos en la manipulación de los alimentos y presentar el agente causal.

2.3.4.2. Medidas preventivas:

- Conservar correctamente las carnes
- Evitar contaminación cruzada con otros alimentos
- Cocinar bien las carnes
- Realizar la elaboración de los alimentos con buenos hábitos alimenticios.
- Garantizar la correcta cocción de los alimentos (Caballero, 2008).

2.4. Actividad Nutraceutica en Alimentos

2.4.1. Compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos constituyen una de las familias más numerosas y ampliamente distribuidas en el reino vegetal (Gil, 2010). Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol – un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo, figura 1, estos han recibido más atención en los últimos años debido a su bioactividad. (Taiz *et al.*, 2007)



Figura 1. Fenol

Estas sustancias se clasifican como compuestos fenólicos. Estos compuestos de las plantas forman un grupo químicamente heterogéneo de unos 10,000 compuestos: algunos son solubles sólo en solventes orgánicos, otros son ácidos carboxílicos y glicósidos solubles en agua, mientras que otros son grandes polímeros muy insolubles (Taiz *et al.*, 2007): Muchos tienen papeles en la defensa contra herbívoros o patógenos, otros participan en el soporte mecánico, en la atracción de polinizadores y dispersantes de frutos, en la absorción de la radiación ultravioleta dañina o en la reducción del crecimiento de las plantas competidoras próximas (Taiz *et al.*, 2007). Suelen ser responsables del color, el aroma, y el sabor de los alimentos que los contienen. Entre ellos hay pigmentos que aportan los tonos rojos, azules y violáceos propios de frutas y verduras (Gil, 2010).

La estructura química de los polifenoles es especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante (atrapador de radicales libres). Entre ellos podemos mencionar a los flavonoides, isoflavonoides, antocianidinas, ácidos fenólicos y a

los fenoles simples, etc., estos actúan generalmente como capturadores y estabilizadores de radicales libres (Ross *et al.*, 2002).

2.4.1.1. Acción antioxidante de los polifenoles.

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos varía, además, en función de su solubilidad relativa en fase acuosa o lipofílica (coeficiente de reparto). Los flavonoides y los ácidos cinámicos poseen coeficientes de partición intermedios, que dependen en gran medida de su estructura química y de los sustituyentes asociados (grupos hidroxilo, metoxilo, azúcares, etc.). Generalmente, los compuestos hidrofóbicos entran en las células más rápido que los hidrofílicos por procesos de difusión simple que les permite atravesar la membrana. Una vez en el organismo, los compuestos fenólicos más hidrofóbicos tendrán su destino en ambientes lipídicos y los más hidrofílicos quedarán en medios más acuosos (Parr *et al.*, 2000). Así, la unión de azúcares hace a los compuestos fenólicos más hidrosolubles pero disminuye su actividad antioxidante. Por ello, los compuestos fenólicos con más afinidad por los ambientes lipídicos del organismo podrían tener una mayor relevancia en la prevención de enfermedades. De hecho, los compuestos fenólicos de carácter liposoluble y capaces de unirse a lípidos previenen la oxidación de las LDL in vivo de forma directa y/o mediante la preservación de otros antioxidantes liposolubles como α -tocoferol (Rice-Evans *et al.*, 1997)

Los polifenoles pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones (Saskia *et al.*, 1998). En estudios epidemiológicos se ha demostrado que con el consumo adecuado de frutas y vegetales experimenta una reducción del 50% en el riesgo de cánceres digestivos y de las vías respiratorias (Reyes- Munguía *et al.*, 2009).

2.4.2. Betalaínas

El término "betalaínas" fue establecido por Mabry y Dreiding en 1968, basado en consideraciones estructurales y biogénéticas. En un sentido estricto, las betalaínas no pertenecen a los alcaloides porque son de naturaleza ácida debido a la presencia de varios grupos carboxilo. Las betalaínas son pigmentos hidrosolubles y existen como sales en las vacuolas de las células vegetales. Las plantas que contienen estos pigmentos se limitan a 10 familias del orden Centrospermae. Químicamente, la definición de betalaínas abarca a todos los compuestos con estructuras basadas en la fórmula general mostrada en la figura 2; por lo tanto, son derivados de la condensación de una amina primaria o secundaria con el ácido betalámico (Piatelli, 1981, Strack *et al.*, 1993). El cromóforo de la betalaína se puede describir como un compuesto protonado 1, 2, 4, 7, 7-pentasustituido y el sistema 1,7-diazaheptametina.

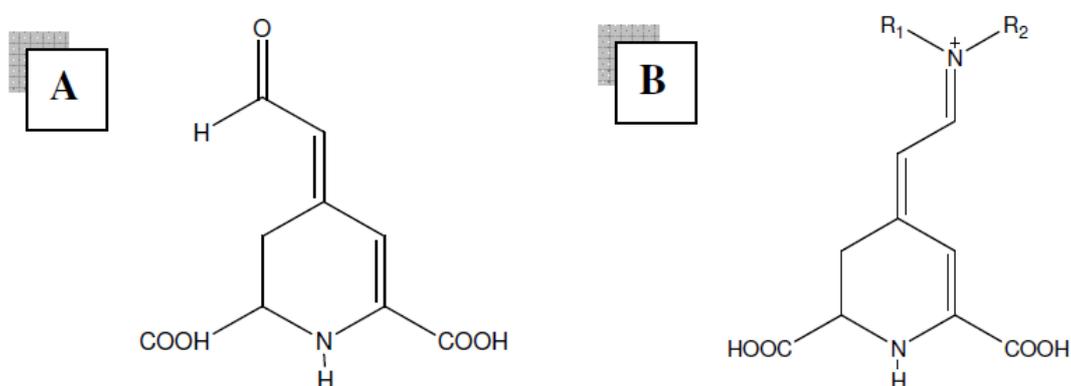


Figura 2. Estructura química de la betalaína. (A) Ácido betalámico presente en todas las moléculas de las betalaínas. (B) La estructura representa una betacyanina o una betaxantina, dependiendo de los sustituyentes R1 y R2 (Böhm y Rink, 1988).

Se conocen más de 50 betalaínas, y todas tienen la misma estructura básica, en la cual R1 y R2 puede ser un hidrógeno o un sustituyente aromático. Su color se le atribuye a los dobles enlaces conjugados en resonancia de núcleo aromático-R sustituido con el cromóforo del 1,7-diazoheptametinamino (Figura 3).

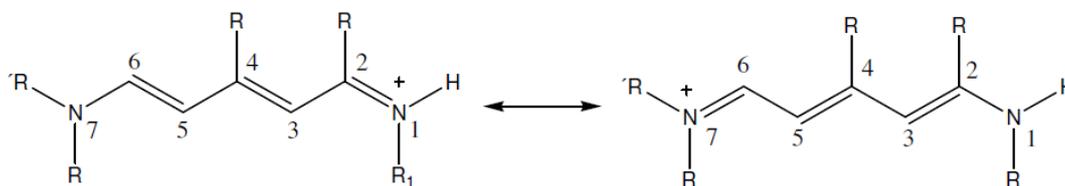


Figura 3. Cati3n diazaheptametina (Fennema, 1996)

Cuando 'R no amplía la conjugaci3n del sistema 1,7-diazaheptametina, el compuesto exhibe un m3ximo de absorci3n de luz a aproximadamente 480 nm, característico de las betaxantinas amarillas. Si la conjugaci3n se amplía a 'R, el m3ximo de absorci3n de luz se desplaza aproximadamente a 540 nm, A B) característico de las betacianinas rojas. Las betacianinas son 3pticamente activas porque tienen 2 carbonos quirales C-2 y C-15 (Figura 4). La hidr3lisis de la betacianina produce la betanidina (Figura 4) o el epímero en C-15 isobetanina (Figura 4d) o una mezcla de las dos agliconas isómeras. Las diferencias entre betacianinas se deben a su residuo gluc3sido. Entre las principales hortalizas que contienen betalaínas se encuentran: el betabel (*Beta vulgaris*) y el amaranto (*Amaranthus tricolor*) (Cai *et al.*, 1998). Las principales betacianinas del betabel son la betanina y la isobetanina (Figura 4b, e), en tanto que el amaranto contiene amarantina e isoamarantina (Figura 4c, f). Las betalaínas más estudiadas han sido las del betabel.

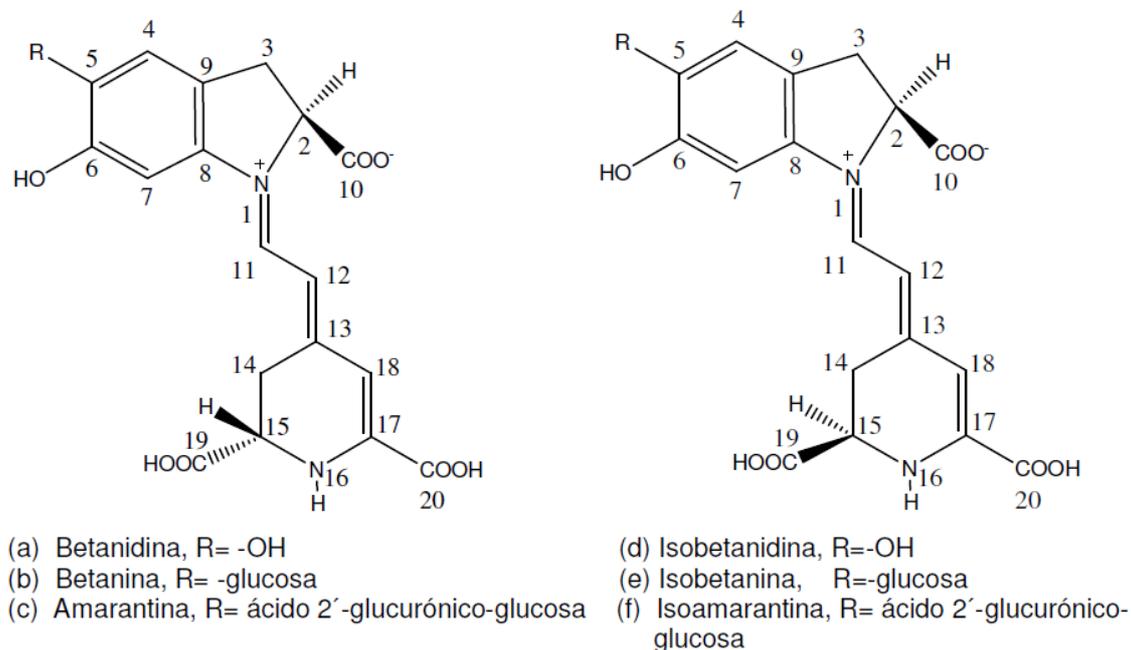


Figura 4. Estructura de las betacianinas (Fennema, 1996)

La primera betaxantina aislada y caracterizada fue la indicaxantina (Figura 5a). Estructuralmente, estos pigmentos son muy similares a las betacianinas. Las betaxantinas difieren de las betacianinas en que el grupo indol es sustituido por un aminoácido. En el caso de la indicaxantina el aminoácido es la prolina. Del betabel se han aislado dos betaxantinas, vulgaxantina I y II (Figura 5b, c). Ambas difieren de la indicaxantina en que la prolina ha sido sustituida por glutamina o ácido glutámico, respectivamente.

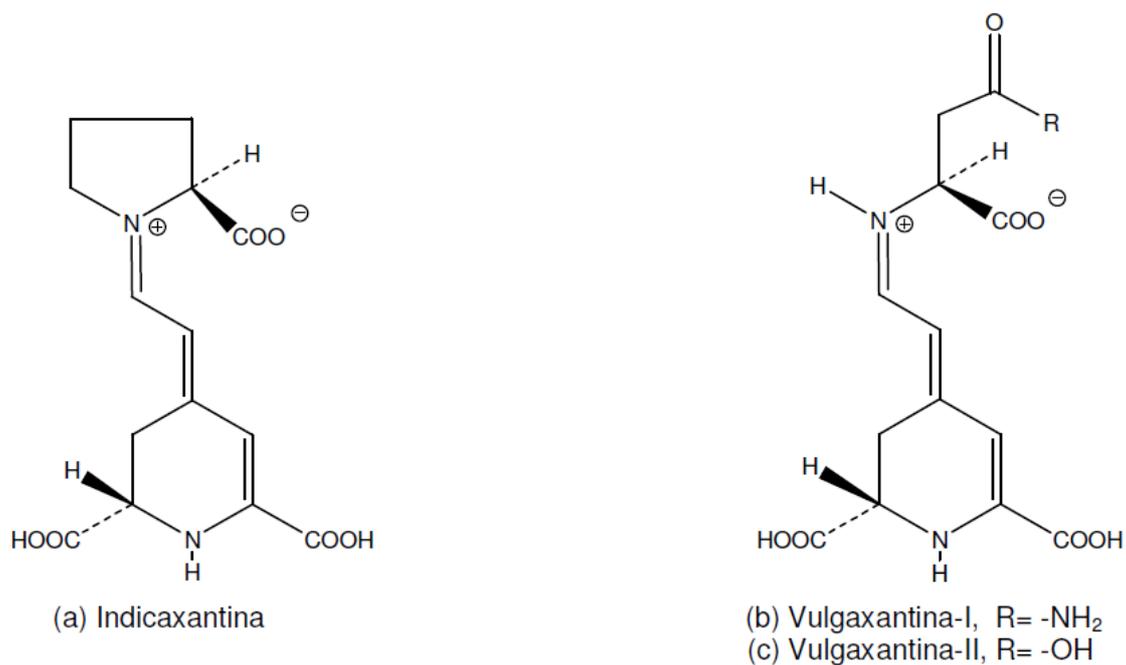


Figura 5. Estructura de las betaxantinas (Fennema, 1996)

Aunque hasta la fecha se han caracterizado pocas betaxantinas, considerando el número de aminoácidos existente, es probable que exista un gran número de betaxantinas diferentes.

2.4.2.1. Clasificación

Las betacianinas y las betaxantinas pueden ser clasificadas con base a sus estructuras químicas. Las estructuras de las betacianinas muestran variaciones en su azúcar (5-O-D-Glucosa) y los grupos del acilo, mientras que las betaxantinas muestran la conjugación con una amplia gama de aminas (glutamina) y aminoácidos (tirosina) en sus estructuras. En el cuadro 3, se presentan algunas betalaínas identificadas.

Cuadro 2. Principales sustituyentes identificados en betalaínas naturales

Betalaina ^a	Residuo ^b	Bibliografía
Aglicona		
Betanidina	-	Piatelli, 1981.
Grupo de la Betalaina		
Betanina	5-O-Glc	Bóhm y Rink, 1988.
Filocactina	5-O-Glc	Piateli y Minale, 1964.
Lamprantina-I	5-O-Glc	Bokern y Strack, 1988.
Grupo de la Amarantina		
Amarantina	5-O-Glc-2-O-GlcU	Strack <i>et al.</i> , 1993.
	5-O-Glc-2-O-GlcU	Steglich y strack, 1991.
Bugambilia		
Bugambilia	5-O-Glc-2-O-GlcU	Piatelli e Imperato, 1970
Grupo de la Gomprenina		
Gomprenina-I	G-O-Glc	Minale <i>et al.</i> , 1966.
Betaxantinas		
DOPAxantina	DOPA	Piatelli, 1976b.
Indicaxantina	Prolina	Piatelli, 1976b.
Portulaxantina-II	Glicina	Trezzini y Zrýd, 1991.
Vulgaxantina	Ácido Glutámico	Piatelli, 1981.

^a El nombre fue estandarizado por Strack *et al.*, (1993)

Fuente: (Delgado-Vargas *et al.*, 2000)

2.4.2.2. Propiedades funcionales y su aplicación como colorante natural

Debido a su alto poder antioxidante y su capacidad para absorber radicales libres, se ha reportado recientemente, que las betalaínas presentes en el betabel y en frutos de cactáceas, pueden beneficiar la salud del ser humano. Empleándose principalmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, cardiovasculares, cáncer, asma, artritis, estrés oxidativo, inflamación intestinal, y otras asociadas con el envejecimiento (Fрати *et al.*, 1990).

Por su alto poder tintorial (dos veces más que los colorantes artificiales) y la tonalidad del color sin cambio en un intervalo amplio de pH (de 3 a 7), las betalaínas son compuestos tecnológicamente muy atractivos como colorantes naturales en alimentos (Von Elbe, 1975; Cai *et al.*, 1998, 2001, Cai y Corke 1999; Stintzing *et al.*, 2000, 2003).

2.4.2.3. Métodos de extracción

Para la extracción de este tipo de pigmentos, la fruta o planta cruda, generalmente, se macera o se muele en agua fría o a temperatura ambiente. En la mayoría de los casos, es necesario el uso de soluciones acuometanólicas o acuoetanólicas (del 20 hasta el 50%, v/v) para alcanzar la extracción completa (Piatelli, 1981). Algunas veces, hay necesidad de realizar una fermentación aerobia del jugo (*Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus niger*) para reducir los azúcares libres y aumentar el contenido de la betacianina (Pourrat *et al.*, 1988). En ambos procedimientos, la inactivación de las enzimas que degradan el pigmento se realiza por un tratamiento térmico a 70°C durante 2 minutos, sin embargo, este podría destruir algunos pigmentos. Las betacianinas se pueden precipitar por una ligera acidificación con ácido clorhídrico o con etanol acidificado (0.4 hasta el 1% HCl). Para la separación de betaxantinas se puede adicionar una solución acuosa de etanol al 95%. La degradación de la betanina puede ocurrir rápidamente y su destrucción puede evitarse trabajando a bajas temperaturas y protegiéndola de la luz (Strack *et al.*, 1993).

2.4.2.4. Estabilidad

La estabilidad de las betalaínas es influenciada fuertemente por el pH, la temperatura, la luz, la actividad de agua (A_w) y la presencia de oxígeno. La estabilidad de las betalaínas, es un factor que restringe su uso como colorante en alimentos (Von Elbe, 1975, Jackman y Smit, 1996). De acuerdo con estas características, las betalaínas se pueden utilizar en alimentos con una corta vida de anaquel, procesados por un tratamiento de calor mínimo, envasándolos y colocándolos en un lugar seco, bajo niveles reducidos de luz, oxígeno, y humedad. Cuando las betalaínas se utilizan como colorantes del alimento, el color es una preocupación importante. Los principales factores que afectan la estabilidad del pigmento se describen a continuación.

- *pH*

El color de las betalaínas no es afectado por el pH entre 3.5 a 7. Las soluciones de betalaínas en este intervalo de pH mostraron un espectro visible similar para

betacianinas y betaxantinas. La longitud de onda (λ) máxima para betacianinas se encuentra entre 537 y 538 nm, mientras el máximo para betaxantinas se encuentra aproximadamente a 475 nm. A pH ácido (3.5), λ se desplaza a un valor más bajo; por arriba de pH 7, λ cambia a un valor más elevado; fuera de este intervalo, la intensidad del espectro visible decrece. Huang y Von Elbe (1987), mostraron que el pH óptimo para la estabilidad máxima de la betanina en presencia de oxígeno está entre 5.5 y 5.8. Las soluciones de betabel mostraron la máxima estabilidad a pH=5.5, correspondiente al pH normal del betabel fresco. Adicionalmente, la vulgaxantina fue más estable en un intervalo de pH de 5 a 6, y mostró mayor estabilidad en extractos no purificados, mientras la estabilidad óptima del pigmento en polvo reconstituido tuvo lugar a pH 5.7.

- *Temperatura*

La temperatura es un factor crítico en la estabilidad de la betalaína. La degradación térmica de la betanina ha sido evaluada por varios autores. Observando que al calentar soluciones de betanina se produce una reducción gradual del color rojo característico de este pigmento y surge la aparición de un color ligeramente marrón. La degradación térmica de la betanina en presencia de oxígeno sigue una cinética de primer orden, pero en su ausencia la cinética es diferente. Si se calienta la betanina a altas temperaturas (mayores de 60 °C) y por tiempos prolongados (mayores a una hora), se acelera la hidrólisis de este compuesto en solución, produciendo ácido betalámico y el ciclodopa-5-O-glucósido como productos intermediarios, sin embargo, esta reacción es parcialmente reversible de acuerdo con el pH. De acuerdo con Saguy *et al.* (1984), las energías de activación para la hidrólisis del pigmento fueron de 17 a 21 Kcal/mol por la degradación térmica, mientras que para la regeneración se encuentran entre 0.6 y 3.5 Kcal/mol (Huang y Von Elbe 1987).

Altamirano *et al.*, (1993), reportaron que en sistemas modelo de agua/etanol la estabilidad de la betanina fue muy baja, debido al ataque nucleofílico del grupo N = CH presente en la estructura de la betanina. El etanol es un agente nucleofílico

fuerte que al tener una alta densidad de electrones en el átomo de oxígeno disminuye la estabilidad de la betanina.

- *Luz*

Von Elbe *et al.*, (1974), encontraron que el índice de degradación de la betanina aumentó 15.6%, después de su exposición a la luz del sol a 15°C. La degradación de las betalaínas expuestas a la luz sigue una cinética de primer orden. Además, se observó que cuando las betacianinas fueron expuestas a luz fluorescente, la degradación presentada fue mayor a pH = 3.0 ($k = 0.35$ días⁻¹) que a pH = 5.0 ($k = 0.11$ días⁻¹). Por otra parte, en ausencia de luz las betacianinas fueron más estables ($k = 0.07$ días⁻¹). Sapers y Hornstein, (1979) Attoe y Von Elbe, (1981) demostraron que la relación entre la estabilidad de la betalaína y la intensidad de la luz en un intervalo de 2200 a 4400 lux es inversamente proporcional. Esto se explica cuando ocurre la excitación de electrones de los cromóforos del pigmento a un estado más energético por la absorción de luz visible, ocasionando una reactividad más alta o una energía de activación baja para la molécula (EA = 25 Kcal-mol⁻¹ en oscuridad y 19.2 Kcal-mol⁻¹ en la luz). El efecto de los rayos UV y la irradiación gamma en la estabilidad de la betanina fue reportada por Aurstad y Dahle (1973). La destrucción total del pigmento ocurrió cuando el pigmento fue tratado por 120 h de radiación UV o con 100 krad de radiación gamma. Sin embargo, el mecanismo de la fotodegradación para las betalaínas no ha sido determinado con certeza.

- *Actividad de agua (Aw)*

La actividad de agua es uno de los factores que más influye en la estabilidad de las betalaínas y el color de los alimentos que las contienen. La mayor estabilidad del pigmento (cinética de primer orden) fue encontrada en alimentos o sistemas modelo con un bajo contenido de humedad y de aw, atribuible a la movilidad reducida del reactivo o a la solubilidad limitada del oxígeno (Simón *et al.*, 1993). Cohen y Saguy (1983), reportaron que la estabilidad del pigmento decreció hasta en un orden de magnitud cuando el aw aumentó de 0.32 a 0.75.

- *Oxígeno*

La presencia de oxígeno causa el oscurecimiento del producto y la pérdida del pigmento. Von Elbe *et al.*, (1974), almacenaron en solución buffer a pH 7, betanina, bajo atmósfera de aire y nitrógeno hasta por 6 días a 15°C; observando que la degradación del color aumentó hasta un 15% cuando la betanina fue expuesta al aire. La betanina reaccionó con el oxígeno molecular, produciendo la degradación del pigmento en soluciones saturadas con oxígeno (Attoe y Von Elbe, 1985). La degradación cinética en atmósfera de aire o de oxígeno siguieron un modelo de primer orden, pero en ausencia del oxígeno su comportamiento se desvía de este modelo. De acuerdo a lo reportado por Attoe y Von Elbe, (1985), la degradación de la betanina es una reacción parcialmente reversible y se ha recomendado que para aumentar la estabilidad del pigmento es necesario colocar las muestras en atmósferas con bajas concentraciones de oxígeno. Así, las soluciones calentadas de betanina (pH 4.75, 130 minutos, 15°C) con bajos niveles de oxígeno mostraron un incremento (de 54 a 92%) en la retención de betanina (Huang y Von Elbe, 1987).

2.4.2.5. Separación y purificación

Para la separación y purificación de los pigmentos vegetales se emplean diversas técnicas analíticas, entre las que destacan: la cromatografía en placa fina y en columna.

2.4.3. Carotenoides

El color de los alimentos es quizás el primer atributo que el consumidor valora cuando determina la apariencia y calidad de un producto, y por tanto va a condicionar su aceptabilidad. Una apariencia natural siempre será evaluada positivamente mientras que se tomarán precauciones ante un color extraño o inesperado que suele ser interpretado en términos de deterioro o manipulación inadecuada de las frutas y vegetales.

En las frutas y vegetales, el color se debe principalmente al concurso de tres familias de pigmentos: clorofilas, carotenoides y antocianinas, que son responsables de la coloración verde, roja-amarilla, y azul-violeta respectivamente.

Los carotenoides son pigmentos estables en su ambiente natural, pero cuando los alimentos se calientan, o cuando son extraídos en disolución en aceites o en disolventes orgánicos, se vuelven mucho más lábiles. Así, se ha comprobado que los procesos de oxidación son más acusados cuando se pierde la integridad celular, de forma que en alimentos vegetales triturados, la pérdida de compartimentación celular pone en contacto sustancias que pueden modificar estructuralmente, e incluso destruir los pigmentos. No todos los tipos de cocinado afectan en la misma medida a los carotenoides, de forma que la pérdida de estos pigmentos aumenta en el siguiente orden: cocinado con microondas < cocinado al vapor < hervido < salteado (Rodríguez-Amaya 1999).

2.4.3.1. Definición

Los carotenoides o tetraterpenoides son una clase de pigmentos terpenoides con 40 átomos de carbono derivados biosintéticamente a partir de dos unidades de geranil-geranilpirofosfato, en su mayoría son solubles en solventes apolares y de coloraciones que oscilan entre el amarillo (por ejemplo el β -caroteno) y el rojo (por ejemplo el licopeno). La Figura 1 muestra algunos ejemplos de los carotenoides más distribuidos en la naturaleza (Martínez, 2003).

2.4.3.2. Clasificación y nomenclatura

Los carotenoides se clasifican en dos grupos: carotenos y xantofilas. Los carotenos solo contienen carbono e hidrógeno (por ejemplo el β -caroteno, el licopeno, etc.), mientras que las xantofilas contienen además oxígeno (por ejemplo la luteína). A los carotenoides generalmente se les denomina con nombres comunes que incluyen las variaciones estructurales de los anillos laterales, en especial la posición del enlace doble. El β caroteno, hoy es denominado β,β -

caroteno, para indicar que los dos anillos de los extremos tienen el enlace doble en la misma posición relativa. El α -caroteno, ahora se denomina β,ϵ -caroteno.

En general para los carotenos se usa el sufijo caroteno, y para las xantofilas el sufijo ina (Martínez, 2003).

2.4.3.3. Distribución y estado natural

Los carotenoides se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, en bacterias, y muy pocos se han reportado en animales (por ejemplo los colores rojizos de las plumas del flamingo son debidos a la cantaxantina, un carotenoide), y particularmente invertebrados marinos como las esponjas, estrellas de mar, pepinos de mar, erizos de mar, y otros. En los animales superiores el β -caroteno es un requerimiento dietario esencial pues es precursor de la vitamina A. Se conocen más de 600 carotenoides, y se les encuentra en forma libre, como esteroides de ácidos grasos o como glicósidos. Sin embargo los glicósidos carotenoides son muy raros, un ejemplo de estos últimos es la crocina.

Los carotenoides se encuentran principalmente en partes aéreas de las plantas, especialmente en hojas, tallos y flores, en frutos (por ejemplo tomate, pimentón, etc.), y en menor proporción en raíces (por ejemplo la zanahoria).

El caroteno más comúnmente encontrado es el β -caroteno, y normalmente constituye entre el 25-30 % del contenido total de carotenoides en las plantas. La luteína es la xantofila más abundante (40-45 %), pero siempre se encuentra en menor proporción que el β -caroteno.

Los carotenoides junto con los flavonoides y las clorofilas, son los pigmentos vegetales más distribuidos. En especial existen carotenoides que confieren coloraciones amarilla, naranja, roja y violeta a tejidos vegetales y algunos órganos animales. Los flavonoides confieren también coloraciones similares, inclusive coloración azul a muchas flores y frutos, mientras que las clorofilas se reconocen fácilmente por su coloración verde. Existen también vegetales tan conocidos como la remolacha *Beta vulgaris*, que debe su color característico a pigmentos

nitrogenados denominados betacianinas, menos distribuidos que los primeros. (Martínez, 2003).

2.4.4. Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)

En los últimos años del siglo XX se generó una verdadera revolución en el campo de las investigaciones relacionadas con el estrés oxidativo, y la relación que se cree existe entre éste y el envejecimiento. El estrés oxidativo se puede definir como una perturbación del equilibrio entre prooxidantes y antioxidantes, con un desplazamiento a favor de los primeros, de modo tal que esta alteración da lugar a cambios en las biomoléculas y de hecho, a modificaciones funcionales en los lugares donde las mismas se encuentren en un momento dado. El estrés oxidativo es el efecto adverso que se produce en la sangre y los tejidos de los seres vivos cuando existe un incremento de la degradación de sus biomoléculas causado por radicales libres de oxígeno. Dicha lesión oxidativa puede llegar a la muerte celular.

Los radicales libres son átomos o moléculas que contienen uno o más electrones no apareados en el orbital más externo, lo que produce una gran reactividad en dicha estructura. De hecho esto da lugar a que estos RL intervengan con gran eficacia y rapidez en un sinnúmero de procesos bioquímicos a nivel celular. Su gran reactividad es al final de cuentas la causante de su toxicidad. Normalmente los radicales libres no son más que metabolitos fisiológicos, pero en ciertas condiciones o estados propios de la actividad del hombre en relación con su medio, la producción de estos compuestos puede incrementarse en forma considerable, rompiéndose entonces el equilibrio que debe existir entre estos y sus rivales o contrapartes los antioxidantes corporales.

La capacidad antioxidante puede considerarse actualmente un factor a tener en cuenta en análisis nutricional de frutas y verduras y en la determinación de variaciones en procesos postcosecha.

Los métodos más usados para medir capacidad antioxidante son el FRAP, basado en la capacidad de reducción férrica y los de ABTS, DPPH y ORAC, basados en la captación de distintos radicales libres. Se han estudiado distintos aspectos que influyen en su aplicación, como puede ser el disolvente empleado en la extracción o la presencia de compuestos no antioxidantes que pueden actuar como interferencias. Así, ciertos aminoácidos y ácidos urónicos no antioxidantes presentes en alimentos vegetales, pueden mostrar un efecto interferente en estos ensayos, particularmente en el ORAC (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2007).

Un estudio realizado por Prior *et al.*, (2003) donde realizó estudios de Capacidad antioxidante (capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) en ensayos de plasma hidrófilos y lipófilos, alimentos y otras muestras biológicas establece que existe un interés creciente en el uso y la medición de la capacidad antioxidante en la industria alimentaria y farmacéutica y en los estudios clínicos. Este interés se deriva de la gran evidencia de la importancia de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en el proceso de envejecimiento y la patogénesis de muchas enfermedades en las que están involucrados ROS. Sin embargo, el método de la capacidad de absorción de radicales (ORAC) de oxígeno, con algunas modificaciones que se han hecho con el tiempo, se está convirtiendo en un método utilizado para evaluar la capacidad antioxidante de las muestras biológicas y los alimentos.

Cuadro 3. Efecto de la cantidad de AAPH en el ensayo de ORAC de jugos de frutas comerciales

Jugo	ORAC FL (μ mol TE/mL)		ORAC FLB
	3.2 μ mol AAPH	12.8 μ mol AAPH	(μ mol TE/mL)
Frambuesa	32.7 \pm 0.7		32.7 \pm 0.7
Ciruelo seco	21.0 \pm 1.1		21.0 \pm 1.1
Uva concordia	20.0 \pm 0.6	19.9 \pm 1.1	20.0 \pm 0.5
Uva roja	19.6 \pm 1.2	18.7 \pm 0.9	19.1 \pm 0.6
Arándano agrio/uva concordia	14.9 \pm 0.0	15.7 \pm 0.4	15.3 \pm 0.3
Naranja	11.7 \pm 0.2	10.0 \pm 0.0	10.8 \pm 0.5
Fresa	11.1 \pm 0.6	10.3 \pm 0.7	10.7 \pm 0.4
Arándano	9.6 \pm 0.4	8.3 \pm 0.5	9.0 \pm 0.4
Manzana	4.6 \pm 0.3	4.0 \pm 0.3	4.3 \pm 0.2
Manzana	5.2 \pm 0.1	4.7 \pm 0.4	5.0 \pm 0.2
Uva blanca	3.7 \pm 0.2	3.1 \pm 0.4	3.4 \pm 0.2
Uva blanca	13.2 \pm 0.4	11.6 \pm 0.2	12.4 \pm 0.4

(Prior *et al.*, 2003)

El Cuadro 3 muestra resultados que se obtuvieron cuando se comparó la $ORAC_{FL}$ de algunos jugos comerciales con $3.2 \mu\text{mol}$ frente al $12.8 \mu\text{mol}$ de AAPH. Los datos presentados en el Cuadro 4, indican que la capacidad antioxidante de diferentes jugos. Los jugos de color oscuro, en general, tienen la $ORAC_{FL}$ superior.

2.5. Métodos de preservación y extensión de la vida útil de los alimentos

La preservación de alimentos implica colocar a los microorganismos en un ambiente hostil, con el fin de inhibir su crecimiento, disminuir su sobrevivencia o causar su muerte. Las respuestas de los microorganismos a estos ambientes hostiles determinan si pueden crecer o morir (Leistner, 2000).

Por lo anterior es necesario considerar la homeostasis, agotamiento metabólico, y las reacciones de estrés.

2.5.1. Homeostasis:

Es la tendencia a la uniformidad y estabilidad en el estatus interno del organismo. Por ejemplo, el mantenimiento de un pH definido, es un prerrequisito y característica de las células vivientes, y aplica tanto a grandes organismos como a microorganismos (Leistner, 2000).

En la preservación de alimentos la homeostasis de microorganismos es un fenómeno clave el cual merece mucha atención, porque si la homeostasis de los microorganismos es perturbada por factores de preservación en los alimentos, no se multiplicarán, permanecerán en fase de latencia o incluso morir, antes de que la homeostasis sea reparada (restablecida). Por lo tanto la preservación alimenticia es lograda perturbando la homeostasis de los microorganismos en un alimento temporal o permanentemente (Leistner, 2000).

2.5.2. Agotamiento metabólico

Otro fenómeno de importancia práctica es el agotamiento metabólico de los microorganismos, el cual puede causar la “auto esterilización” de un alimento.

Aparentemente, los microorganismos en diferentes técnicas combinadas de preservación en alimentos, utilizan diferentes mecanismos de reparación para su homeostasis para sobrevivir al ambiente hostil que enfrentan, por lo que deben utilizar completamente su energía y como consecuencia mueren, si se encuentran metabólicamente exhaustos (Leistner, 2000).

2.5.3. Reacciones de estrés

Algunas bacterias se vuelven más resistentes o inclusive más virulentas bajo estrés, desde que generen proteínas de choque al estrés. La síntesis de proteínas de choque de estrés protectoras es inducida por el calor, pH, Aw, etanol, componentes oxidativos, etc. así como por la mortandad (Leistner, 2000).

Las reacciones de estrés pueden tener un efecto no específico, debido a que los microorganismos estresados pueden ser más tolerantes a otros estreses, adquieren una tolerancia cruzada (Leistner, 2000).

La exposición simultánea a diferentes estreses puede requerir mayor consumo de energía para la síntesis de más o menos proteínas de choque al estrés, lo cual puede causar que los microorganismos se encuentren metabólicamente exhaustos. Por lo tanto, la preservación multipropósito (combinada) de los alimentos puede ser la clave para combatir la síntesis de proteínas de choque al estrés, lo cual puede lograr la estabilidad y seguridad microbiana de los alimentos (Leistner, 2000).

2.5.4. Cambios genéticos

Los cambios genéticos pueden ocurrir a dos niveles: Genes reguladores osmóticos y genes reguladores de la tasa de crecimiento, en el cual se incrementa su expresión debido a que la tasa de crecimiento es reducida por condiciones de estrés (Knochel y Gould, 1995).

En el cuadro 4 se muestran algunas técnicas antimicrobianas existentes y emergentes empleadas para la preservación de alimentos

Cuadro 4. Técnicas antimicrobianas existentes y emergentes empleadas para la preservación de alimentos.

Objetivo	Factor de preservación
Reducción o inhibición del crecimiento	Temperatura baja Actividad de agua reducida Restricción de nutrientes disponibles Disminución del oxígeno Acidificación Fermentación alcohólica Uso de preservativos
Inactivación de microorganismos	Calentamiento Irradiación Presurización Electroporación Manothermosonication Lisis celular

Fuente: Gould, 1996.

2.6. Conservación de alimentos a altas temperaturas

El uso de temperaturas elevadas para conservar alimentos se basa en sus efectos destructores en los microorganismos. Se entiende por temperaturas elevadas cualesquiera temperaturas que sean superiores a la temperatura ambiental. Con respecto a la conservación de alimentos hay dos temperaturas de uso habitual: temperaturas de pasteurización y temperaturas de esterilización. La pasteurización mediante el uso de calor implica la destrucción de todos los microorganismos que producen enfermedades o la destrucción o reducción de todos los microorganismos que alteran determinados alimentos, como es el caso de la pasteurización del vinagre (Jay, 2002).

Esterilización significa la destrucción de todos los microorganismos viables que pueden ser determinados mediante una técnica de siembra en placa o de recuento. A los alimentos enlatados a veces se les califica de “comercialmente estériles” para indicar que no se puede detectar ningún organismo viable mediante los métodos de cultivo usuales empleados o que el número de supervivientes es tan reducido que carece de importancia en las condiciones de enlatado y almacenaje. Asimismo, en los alimentos enlatados pueden existir microorganismos

que no pueden crecer en el producto a causa de un pH, de un potencial de óxido-reducción (Eh) o de una temperatura de almacenaje desfavorables (Jay, 2002).

2.6.1. Factores que afectan a la termorresistencia de los microorganismos

2.6.1.1. Agua

La termorresistencia de las células microbianas aumenta cuando disminuyen la humedad, la hidratación, o la actividad de agua (A_w). Por ejemplo, en A_w de 1,00 y pH 6,5, el valor D95 era 2,386 minutos, mientras que en A_w de 0,86, D95 era 13,842 minutos (Gaillard *et al.*, 1998).

Puesto que está perfectamente demostrado que la desnaturalización de las proteínas se produce más rápidamente cuando se calientan en agua que cuando se calientan en aire, se piensa que la desnaturalización de las proteínas es el mecanismo de la muerte térmica o está íntimamente relacionada con él. La presencia de agua permite la rotura térmica de enlaces peptídicos, un proceso que necesita más energía en la ausencia de agua y, consiguientemente, confiere una mayor termorresistencia (Jay, 2002).

2.6.1.2. Grasa

En presencia de grasas, hay un aumento general de la termorresistencia de algunos microorganismos. Parece ser que los ácidos grasos de cadena larga son protectores mejores que los ácidos de cadena corta (Jay, 2002).

2.6.1.3. Sales

El efecto de la sal en la termorresistencia de los microorganismos es variable y dependiente de la clase de sal, concentración empleada, y otros factores. Algunas sales tienen un efecto protector en los microorganismos, y otras tienden a hacer más termosensibles a las células. Se ha indicado que es posible que algunas sales disminuyan la actividad de agua y de este modo aumenten la termorresistencia por un mecanismo parecido al de la desecación, mientras que es posible que otras aumenten la actividad de agua (por ejemplo Ca^{2+} y Mg^{2+}) y, por consiguiente, aumenten la sensibilidad al calor (Jay, 2002).

2.6.1.4. Carbohidratos

La presencia de azúcares en el menstuo suspendente produce aumento de la termorresistencia de los microorganismos suspendidos en él. Este efecto es debido, al menos en parte, a la disminución de la actividad de agua causada por concentraciones elevadas de azúcares (Jay, 2002).

2.6.1.5. pH

Los microorganismos son muy resistentes al calor en su pH óptimo de crecimiento, que generalmente es aproximadamente 7,0. Cuando el pH es disminuido o aumentado a partir de su valor óptimo, existe un aumento consiguiente de la termosensibilidad. Se obtiene provecho de este hecho en el tratamiento térmico de los alimentos de acidez elevada, donde se aplica considerablemente menos calor para conseguir la esterilización en comparación con los alimentos neutros o próximos a la neutralidad (Jay, 2002). Cuando para reducir el pH se usan ácidos orgánicos como el acético o el láctico, se produce una disminución de la termorresistencia.

2.6.1.6. Proteínas y otras sustancias

Las proteínas del menstuo de calentamiento tienen un efecto protector en los microorganismos. Por consiguiente, si se quieren conseguir los mismos resultados finales, los alimentos ricos en proteínas deben ser sometidos a un tratamiento térmico de mayor intensidad que el que se aplica a los alimentos con contenido de proteínas bajo.

2.6.1.7. Número de organismos

Cuanto mayor es el número de organismos, tanto mayor es el grado de termorresistencia. Se ha indicado que el mecanismo de protección frente al calor con poblaciones microbianas numerosas, es debido a la producción de sustancias protectoras excretadas por las células, y algunos investigadores pretenden haber demostrado la existencia de tales sustancias. Se sabe que las proteínas confieren cierta protección frente al calor, sería de esperar que, en un cultivo, varios de los

compuestos extracelulares sean de naturaleza proteica y, por consiguiente, capaces de proporcionar alguna protección (Jay, 2002).

2.6.1.8. Edad de los organismos

Las células bacterianas tienden a ser más resistentes al calor mientras se encuentran en la fase estacionaria de crecimiento (células viejas) y menos resistentes durante la fase logarítmica. Las esporas bacterianas viejas son más termorresistentes que las esporas jóvenes. El mecanismo de la termorresistencia aumentada de las células microbianas menos activas es sin duda complejo y no se conoce del todo (Jay, 2002).

2.6.1.9. Temperatura de crecimiento

La termorresistencia de los microorganismos tiende a aumentar cuando la temperatura de incubación aumenta, y esto es especialmente cierto en los organismos esporógenos. Aunque no se conoce del todo el mecanismo exacto de este efecto, es comprensible que la selección genética favorezca el crecimiento de las cepas más termorresistentes a temperaturas sucesivamente más elevadas (Jay, 2002).

2.6.1.10 Compuestos inhibidores

Una disminución de la termorresistencia de la mayoría de los microorganismos ocurre cuando el calentamiento tiene lugar en la presencia de antibióticos termorresistentes, SO₂ y otros inhibidores microbianos. Se ha averiguado que el uso de calor más antibióticos y de calor más nitrito, es más eficaz para controlar la alteración de ciertos alimentos que cualquiera de los dos compuestos solos (Jay, 2002).

2.6.1.11. Tiempo y temperatura

Es de esperar que cuanto mayor fuese el tiempo de calentamiento, tanto mayor tendrá que ser el efecto destructor del calor. No obstante, con harta frecuencia hay excepciones a esta norma básica. Una norma más fiable es la de que cuanto mayor es la temperatura, tanto mayor es el efecto destructor del calor. A medida

que aumenta la temperatura, disminuye el tiempo necesario para conseguir el mismo efecto.

Asimismo es importante el volumen de la vasija o recipiente de calentamiento y su composición (cristal, metal, plástico). En recipientes grandes, se tarda más en efectuar la pasteurización o la esterilización que en recipientes pequeños. Lo mismo es cierto para recipientes cuyas paredes no conducen el calor tan fácilmente como otras (Jay, 2002).

2.7. Relación entre pH y temperatura

La relación entre el pH de un medio de calentamiento y la resistencia térmica de microorganismos contaminantes es importante y significativa para la salud pública (Gaillard *et al.*, 1998).

El pH del medio de calentamiento tiene un prominente efecto sobre el valor $D_{(T,pH)}$. Por ejemplo, a 95°C un decrecimiento en el valor D de 5.7 veces puede ser observado cuando el pH decrece de 6.9 a 4.1. Como para la mayoría de las bacterias esporuladas, un incremento en la temperatura resulta en un decrecimiento en el efecto del pH mientras que un decrecimiento en el pH del medio resulta en un decrecimiento del efecto de la temperatura. Este comportamiento significa que existe cierta interacción en los valores de $D_{(T,pH)}$ entre temperatura y pH (Gaillard *et al.*, 1998).

También es bien conocido que el lapso de tiempo para el crecimiento de la bacteria es dependiente de la "historia" de la población bacteriana, especialmente de las condiciones térmicas previas (Gaillard, 2005).

La seguridad y estabilidad microbiológica de los productos se confía en la aplicación simultánea de diferentes tratamientos de preservación a intensidades individuales bajas, comúnmente conocido como el enfoque obstáculo (Leistner y Gould, 2002).

La temperatura, acidificación, y microorganismos competitivos (bacterias ácido lácticas) son los más importantes obstáculos usados en la preservación de los alimentos (Leistner, 2000). La acidificación involucra la reducción de la severidad del tratamiento de calor, disminuyendo la resistencia al calor de las esporas de bacterias así como previniendo el crecimiento de la mayoría de los microorganismos patógenos. Esto permite la reducción del tratamiento térmico de esterilización o pasteurización después de una etapa de acidificación apropiada (Naim *et al.*, 2008).

La combinación de estos obstáculos (90°C, pH= 3.5 y una concentración de nisina de 2000 IU•g) incrementa significativamente la tasa de inactivación de las esporas ($D_{90}=1.17$ min) en comparación con un tratamiento térmico solo ($D_{90}=19.6$ min) (Naim *et al.*, 2008).

III. JUSTIFICACIÓN

La salsa es uno de los pilares del arte de cocinar y el complemento imprescindible de casi todos los platillos e indispensable en las familias mexicanas así como en todo el mundo, pasando a veces a ser protagonista indiscutible. En el Estado de Hidalgo, México, existen microempresas que elaboran diferentes salsas entre ellas las elaboradas con Xoconostle, y cada día va en aumento su consumo, sin embargo no existen datos del nivel de producción y consumo, así como el aporte nutricional, compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

Son importantes los métodos de conservación de las salsas para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos y deterioradores como lo son *E. coli*, *Shigella*, *Staphylococcus* entre otros. Una fuerte tendencia es el uso de procesos en donde se obtengan productos que sean menos procesados, tengan mayor calidad, más naturales, libres de aditivos y nutricionalmente más saludables (Gould, 1996). Es importante una correcta nutrición, así como los compuestos bioactivos presentes fundamentalmente en alimentos vegetales tales como compuestos fenolicos o carotenoides. En estudios realizados por Pimienta Barrios *et al.* (2008) menciona que el consumo habitual de la cascara del fruto de xoconostle puede ser útil en el control de la glucosa sérica en individuos con diabetes mellitus (DM2) y en personas sanas puede ayudar a prevenir el estado de hiperglucemia y alteración en la concentración de colesterol y triglicéridos que pueden relacionarse con síndrome metabólico. Por lo anterior en este trabajo se planteó la elaboración de salsas de Xoconostle y determinar sus compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana para ofrecer un alimento nutritivo y funcional.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general:

Determinar los compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y antimicrobiana de diferentes salsas de Xoconostle.

4.2 Objetivos específicos:

Determinar los compuestos bioactivos de diferentes salsas de Xoconostle para potenciar su consumo.

Evaluar la actividad antioxidante en las diferentes salsas de Xoconostle

Determinar la actividad antimicrobiana de diferentes salsas de Xoconostle contra *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*.

V. HIPÓTESIS

Las salsas elaboradas a base de Xoconostle tienen compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y antimicrobiana que permiten obtener un producto con características funcionales.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Para la elaboración de salsas, se utilizó fruto del xoconostle Ulapa, de la variedad *Opuntia oligacantha* C. F. Först, y fue cosechado en un huerto establecido en el municipio de Tezontepec de Aldama, Hidalgo; otros ingredientes utilizados fueron el chile seco cascabel sal y ajo.

6.1 Establecimiento del experimento

Las salsas fueron elaboradas bajo la norma NMX-F-377-1986, que establece todas las especificaciones mínimas de calidad que debe cumplir el producto denominado Salsa Picante Envasada.

Una vez cosechados los frutos se trasladaron al Centro de Investigación de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICyTA), y posteriormente al taller de frutas y hortalizas del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la UAEH donde se seleccionaron eliminando los frutos con daño causado por pudriciones.

Los frutos de Xoconostle, se lavaron con agua, posteriormente se enjuagaron con una solución de hipoclorito de sodio al 2% y se dejaron secar para comenzar el proceso. Se tuvieron cuatro tratamientos; dos formulaciones de salsas, cocida y asada, y dos tratamientos térmicos en autoclave (121°C durante 15 min) y en marmita (80°C durante 20 min)

Para cada tratamiento se tuvieron cinco tiempos de almacenamiento: 0 (inicial), 15, 30, 60 y 300 días y se considero como unidad experimental un frasco de 250 g y se evaluó cada tratamiento por triplicado.

6.2 Diseño de tratamientos

Se tuvieron cuatro tratamientos; T1, Xoconostle Cosido, en autoclave; T2, Xoconostle Cosido, en marmita; T3, Xoconostle Asado, en autoclave y T4, Xoconostle Asado, en marmita.

Elaboración de salsas

T1, Xoconostle Cosido, en autoclave y T2, Xoconostle Cosido, en marmita

Pesado:

Se pesaron los frutos de xoconostle (968 g), chiles (57 g), ajos (9.4 g), sal (17 g) y agua (400 mL).

Proceso:

Se pusieron chiles secos (cascabel), en una solución de hipoclorito de sodio al 2% para su lavado, posteriormente se enjuagaron con agua destilada, se secaron y por último se asaron a fuego lento evitando quemarlos, se les retiró el pedúnculo y se depositaron en la licuadora.

Los xoconostles ya lavados se pelaron retirándoles la cascara y las semillas, dejando solamente la pulpa, se partieron a la mitad y se colocaron en una olla; se adicionaron los 400 mL de agua y se pusieron a hervir durante 15 minutos, a 80°C. El ajo ya pelado se depositó en la licuadora industrial así como la sal, y los demás ingredientes. Después de que los xoconostles estuvieron cocidos se incorporaron a la licuadora industrial y se licuaron junto con los chiles, ajos y sal durante 30 segundos. Ya molidos los ingredientes se procedió al envasado en frascos de vidrio de 250 mL. Antes del envasado se lavaron los frascos de vidrio con agua destilada y con hipoclorito de sodio al 1%, posteriormente se enjuagaron y se dejaron secar, por último se hicieron pasar por el exhaustor por un tiempo de 5 minutos, a una temperatura de 80 °C y se procedió al envasado en frascos hexagonales de vidrio.

Después del llenado se introdujeron a la autoclave los frascos ya cerrados, pasando por un proceso de esterilización de 121°C durante 15 minutos.

Las salsas con tratamiento en marmita se introdujeron en ésta a una temperatura de 80°C durante 20 min.

Elaboración de Salsas

T3, Xoconostle Asado, en autoclave y T4, Xoconostle Asado, en marmita.

Se pesaron los frutos de xoconostle (968 g), chiles (57 g), ajos (9.4 g), sal (17 g) y agua (400 mL).

El ajo ya pelado y se depositó en la licuadora industrial así como la sal. Los chiles en una solución de hipoclorito de sodio al 2% para su lavado se enjuagaron con agua destilada y se pusieron a asar a fuego lento evitando quemarlos, posteriormente se les retiró el pedúnculo y se agregaron a la licuadora con los demás ingredientes. Los xoconostles ya lavados se cortaron a la mitad y se asaron en un comal a una temperatura de 140°C, durante 30 a 45 minutos, una vez asados se les retiraron las semillas y se depositaron en la licuadora industrial junto con los chiles, el ajo y la sal y se molieron durante 80 segundos aproximadamente.

Ya molidos los ingredientes se procedió al envasado. Antes realizar el envasado, se lavaron los frascos con agua destilada con hipoclorito de sodio al 1%, posteriormente se enjuagaron y se dejaron secar, se hicieron pasar por el exhaustor durante 5 minutos, a una temperatura de 80 °C. Se aplicó de igual manera los tratamientos térmicos, en autoclave a 121°C durante 15 min y tratamiento en marmita a 80°C durante 20 min. La salsa de xoconostle fue envasada en frascos de vidrio hexagonales con capacidad de 250 mL.

6.3 Variables de estudio

6.3.1 Físicoquímicas

Vitamina C

La técnica consistió en colocar 10g de muestra con 50 mL de la solución de ácido metafosfórico al 3%. Se pasó la muestra a una probeta de 100 mL (se midió el volumen) y se llevó hasta un volumen de 100 mL con agua destilada y se agitó para homogeneizar la muestra. Se tomaron 10 mL de la capa superior y se colocaron en un matraz erlenmeyer, se tituló con la solución de 2-6 diclorofenol indofenol hasta que viró de color azul a rosa. Se tomó la lectura hasta que se presentó el color rosa y persistió por lo menos 10 segundos.

Se preparó una solución estándar de ácido ascórbico; 10 mg por 10 mL de ácido metafosfórico 3%, después se tomó 1 mL y se agregó 9 mL de ácido metafosfórico 3% para titularse y se calculó el factor de Dye. (blanco) por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{Factor Dye} = 0.5 / \text{gasto en la titulación.}$$

El ácido ascórbico se calculó por medio de la siguiente fórmula.

$\text{mg de ácido Ascórbico} / 100\text{g ó ml} = (\text{gasto de titulación de la muestra} \times \text{factor Dye} \times \text{volumen total}) / (\text{volumen de alícuota} \times \text{peso de muestra}).$

Preparación de soluciones:

Ácido metafosfórico al 30%; para 1L se pesaron 30 g del ácido metafosfórico (MERCK)

2-6 diclorofenol indofenol; Se pesaron 25 mg de 2-6 diclorofenol indofenol marca (merk) y 21 mg de bifosfato de sodio (J. Becker), que se disolvieron en un vaso con agitación y se aforaron en un matraz de 500 mL con agua destilada.

Acidez titulable

Se realizó de acuerdo a la metodología de la AOAC (1990), 942.15 y se expresaron los datos como % de ácido cítrico. Se determinó acidez pesando 10g de muestra añadiendo 50 mL de agua destilada y se homogenizó, se midió el volumen y se filtró, posteriormente se tomó una alícuota de 5 mL y se le agregaron de dos gotas de fenofaleina, se tituló con una solución de hidróxido de sodio al 0.1 N.

Cálculos:

$$\% \text{ de ácido} = \frac{(\text{mL de NaOH}) (\text{N NaOH}) (\text{Meq ácido}) (\text{Volúmen total})}{(\text{Peso de la muestra}) (\text{Alícuota del jugo en mL})} \quad (100)$$

Color

Esta determinación se realizó mediante un colorímetro por reflexión "Hunter Lab", el cual se basa en el empleo de funciones trigonométricas. Una rueda de color dividida en 360°; con rojo púrpura situado en el extremo derecho en el ángulo 0; el amarillo en 90°; el verde – azul en 180° y el azul en 270°, el Hunter Lab, indicara el cambio de coloración en el fruto en 3 direcciones; L*, a* y b*, las cuales marcan los cambios de brillantez. L* mide la oscuridad a luminosidad, a* representa el rojo si es positivo y el verde si es negativo; b* corresponde al amarillo si es positivo y al azul en caso de ser negativo. La medición se realizó en una porción tomada de cada muestra de las salas que se depositaron en un vidrio de reloj.

Se determinó la luminosidad L, el ángulo de tono (Hue) y la pureza del color.

6.3.2. Funcionales

Polifenoles

Extracción de la muestra.

Se realizó de acuerdo a la metodología de Singleton and Rossi, (1965) con algunas modificaciones, se pesaron 5 g de salsa en un tubo falcon de 50 mL, y se añadieron 20 mL de metanol al 80 %, se colocaron en el baño ultrasónico durante 20 minutos a 37 °C y se agitaron en un vortex por 10 segundos a los 5, 10, 15 y 20 minutos, se centrifugaron a 4000 rpm durante 4 minutos y se transfirió el sobrenadante a un nuevo tubo falcon de 50 mL, posteriormente al residuo se le agregó 20 mL de metanol al 80 % y se repitieron los pasos anteriores, se combinaron los sobrenadantes y se aforaron las muestras a 50 mL con agua destilada.

A cada pocillo se añadieron 20 µL de muestra y como estándar se utilizó agua destilada, se añadieron 100 µL de Folin-Ciocalteu y de 1 a 8 minutos como máximo agregar 80 µL de solución de carbonato de sodio 7.5%, dejar una hora y medir la absorbancia a 765 nm.

Análisis de la muestra.

Se restó el valor de la absorbancia del blanco para cada muestra y se realizó la curva de calibración del ácido gálico: $Abs = f (°C \text{ g/ mL})$.

Se calculó la concentración de equivalentes de ácido gálico para cada muestra.

Carotenoides Totales

Extracción de la muestra.

Se pesaron 500 mg de muestra, se pusieron en un tubo Falcon de 15 mL y se añadieron 10 mL de hexano, se mezcló en un vortex durante 30 segundos y se dejó a 4 °C en agitación constante en el Rooking plataforma durante 2 horas a 9 rpm, se mezcló en un vortex durante 30 segundos y se colocó durante 15 minutos en un baño ultrasónico y después se centrifugó durante 5 minutos a 4000 rpm, el sobrenadante se transfirió a un nuevo vial de 15 mL, se añadió 5 mL de residuo de hexano y se agitaron en vortex durante 30 segundos y se colocó 15 minutos en un baño ultrasónico y se centrifugó durante 5 minutos a 4000 rpm y se transfirió el sobrenadante mediante la combinación del vial de 15 mL sin residuos y se leyó en un espectrofotómetro BMG Omega a 450 nm. (Singleton y Rossi, 1965).

Cálculos:

$$\text{Conc. (ppm)} = \frac{\text{Abs max}}{E \text{ dL cm}^{-1} \text{ g}^{-1} \times 1 \text{ cm}} \times \frac{10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}}{1} \times \frac{1000}{1}$$

Coefficiente extinción : $(E \text{ dL cm}^{-1} \text{ g}^{-1})$:

2592 dL g⁻¹ para el beta-caroteno a 450 nm en el hexano

96-well transparent: VWR ref. CA62406-081

Capacidad de Absorción del radical Oxígeno (ORAC)

Extracción de la muestra.

La extracción se basó sobre la técnica de Xianli Wu *et al* (2004), con algunas modificaciones. Se pesó 1g de muestra y se le adicionaron 10 mL de AWA (70:29:5:0.5) en un tubo de plástico de 15 mL. El tubo se colocó en un vortex por 30 segundos y sonicado por 5 minutos a 37 °C y el tubo fue agitado dos veces durante la sonicación. Posteriormente los tubos fueron puestos a temperatura ambiente por 10 minutos y después de 5 minutos se agitaron por 30 segundos en un vortex. Después de 10 minutos los tubos fueron centrifugados a 4000 rpm por 10 minutos y el sobrenadante fue removido y transferido a tubos graduados de 25 mL. Una segunda extracción fue realizada usando 10 mL de AWA en las mismas condiciones y ambos sobrenadantes fueron combinados y ajustados a un volumen final de 25 mL usando AWA. Este extracto fue usado para la medición de H-ORAC con diluciones preparadas.

La Capacidad de Absorción del Radical Oxígeno se determinó mediante el método de Cao *et al.*, 1993: 2, 2'-Azobis (2-amidinopropano) dihidroclorídrico (AAPH) se usó como generador del radical libre y fluoresceína como fluorescencia. El Fluosatr Galaxy (Fluorímetro de placa) fue equipado con una incubadora y una bomba de inyección (la velocidad de inyección fue de 420 $\mu\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$). La excitación de onda y emisión de onda fue fijada respectivamente a 485 nm y 520 nm. El microplato contenía 220 μL de una solución constituida por: fluoresceína (200 μL) y muestra (20 μL). Entonces 75 μL of AAPH fueron inyectados: el microplato fue incubado a 37 °C por 120 min y fue agitado automáticamente durante 8 minutos después de cada ciclo. Finalmente el valor ORAC fue calculado usando una curva estándar lineal $Y = a \cdot x + B$ hechas entre los estándares con varias concentraciones de Trolox y la superficie debajo de la curva Net (A_{Net}).

Cálculo de ASC: $A = (0.5 + f5/f4 + f6/f4 + f7/f4 + \dots + f35/f4)$

$$A_{Net} = A_{muestra} - A_{blanco}$$

A = área de fluoresceína debajo de la curva entre cada muestra y el blanco

El resultado final fue calculado usando la ecuación: $A_{Net} * (V * D/1000) * M$

V: volumen (mL)

D: dilución (mL)

M: masa (g)

6.3.3 Microbiológicos

Actividad Antimicrobiana y prueba de inhibición de patógenos.

Se usaron cepas de *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *E. coli* O157:H7 resistentes al antibiótico Rifampicina (Castro-Rosas *et al.*, 2011). Las cepas fueron incubadas a 35°C durante 24 h. Se prepararon diluciones decimales con diluyente de peptona; 15 mL de cada tipo de salsa fueron inoculados, por separado, con cada uno de los patógenos a una concentración final de 1×10^2 UFC/mL. Todas las salsas inoculadas se incubaron a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 h y a $3-5^\circ\text{C}$ durante 120 h. El recuento de los microorganismos se realizó mediante la técnica de vertido en placa empleando agar para métodos estándar (AME) con 100 mg•L de rifampicina (Rif; Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA) las cajas de cultivo se incubaron a 35°C por 48 h (Cruz-Gálvez *et al.*, 2012). Para la prueba de inhibición, mediante la técnica de vertido en placa se inocularon cajas de AME con 100 mg•L con cada uno de los patógenos a una concentración final de 1×10^6 UFC•caja. Una vez que las cajas con agar estuvieron solidificadas, se realizaron 6 orificios circulares o "pozos" por caja con ayuda de una pipeta Pasteur estéril. En cada pozo se agregó 50 μL de cada tipo de salsa a base de Xoonostle o extracto de Xoonostle o chile. Las cajas se incubaron a 35°C durante 24 h. Todos los estudios se realizaron por triplicado.

Para la prueba de inhibición de patógenos se realizaron cuatro salsas tipo "A" pero con diferentes tratamientos térmicos; A1: salsa elaborada con xoconostle asado, sometida a tratamiento térmico en marmita (80 °C/15 min) Salsa A2: elaborada con xoconostle asado, sometida a tratamiento térmico en autoclave (121 °C/15 min) Salsa A3: salsa elaborada con xoconostle cocido, sometida a tratamiento térmico en marmita (80 °C /15 min) Salsa A4: salsa elaborada con xoconostle cocido, sometida a tratamiento térmico en autoclave (121 °C/15min). Esto para observar el efecto del procesamiento de la salsa en la capacidad antimicrobiana de las salsas a base de Xoconostle. Para los extractos de chile, 10 g de chile seco variedad "cascabel", fueron enjuagados con agua potable, estos chiles se molieron en licuadora con 90 mL de agua purificada durante 4 min. Para la obtención de los extracto de Xoconostle, un fruto (46 g) lavado y sin semillas se molió en licuadora con 10 mL de agua purificada durante 4 min (Castro-Rosas *et al.*, 2011).

Estudio de comportamiento de los patógenos en salsa

Las pruebas microbiológicas se llevaron a cabo en tres diferentes tipos de salsas, variando únicamente los ingredientes, esto para hacer una comparación entre la salsa elaborada a base de xoconostle y las otras dos utilizándolas como testigos.

La primera salsa elaborada a base de xoconostle (salsa A), se elaboró utilizando 968 g de Xoconostle, 9.4 g de ajo, 57 g de chile, 17 g de sal y 400 mL de agua purificada; la salsa (B) se elaboró con 484 g de Xoconostle y 484 g de jitomate, 9.4 g de ajo, 57 g de chile, 17 g de sal y 400 mL de agua purificada; la tercera salsa (C) se elaboro a base de jitomate con 968 g, 9.4 g de ajo, 57 g de chile, 17 g de sal y 400 mL de agua purificada.

Las tres salsas se analizaron para observar el comportamiento de cuatro tipos de cepas patógenas en alimentos, que fueron: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Thypimurium, y *Escherichia coli* O157:H7, todas ellas resistentes al antibiótico Rifampicina.

Conteos Microbiológicos

En muestras de salsa, se coló la supervivencia. Se cuantificó mediante la eliminación de la zona inoculada (círculo marcado) con un cuchillo estéril hasta una profundidad de aproximadamente 0,5 cm. Cada muestra extraída se colocó en una bolsa estéril que contenía 10 ml de agua de peptona estéril 0.1% y se pasó la bolsa sellada por el homogenizador 2 minutos a 160 rpm. Para el recuento de microorganismos se preparó diluyente de peptona al 0.1% y se hicieron diluciones de las muestras homogenizadas.

6.4. Análisis de resultados

Para el análisis de resultados se utilizó el programa estadístico SAS, el diseño completamente al azar. Se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey con una $p \leq 0.05$.

Para el diseño completamente al azar se utilizó el siguiente modelo estadístico.

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

Y_{ij} = es el resultado por efecto de los tratamientos

μ = es la media general

T_i = *ésimo* tratamiento

E_{ij} = error del *ésimo* tratamiento en la *j* – *ésima* unidad experimental

$i = 1, 2, \dots, \dots, 8$

VII. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Análisis Fisicoquímicos en salsa de Xoconostle

7.1.1. Grasa

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de grasas en las salsas de xoconostle excepto en las salsas elaboradas con Xoconostle asados con tratamiento térmico en autoclave y en las salsas de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita que fueron las que presentaron el menor contenido de grasa y no se observaron diferencias significativas entre ellas con valores de 0.21 y 0.22 g/100 g respectivamente, mientras que el mayor contenido de grasa se observó en las salsas con xoconostle cocido y con tratamiento térmico en autoclave con valor de 0.48 g/100 g (Cuadro 5). Los valores encontrados son similares a los reportados por Trápala *et al.*, (2012), en donde reportan valores de grasa en frutos de Xoconostle que van desde 0.14 hasta 0.39 g/100g. Las salsas establecidas en el mercado como la salsa de “La Costeña (salsa taquera)” presentó valores de 2 g /100 g de salsa y la “Del Monte (salsa taquera)” 1.5 g / 100 g, estos valores son mayores a los encontrados en la salsa de Xoconostle. Al respecto García Pedroza, *et al.*, (2005) compararon seis variedades de frutos de Xoconostle y los valores de grasa son similares a los encontrados en este trabajo y van desde 0.8 hasta 1.2 % de grasa.

7.1.2 Carbohidratos

En contenido de carbohidratos en las salsas de Xoconostle se muestran diferencias estadísticamente significativas, excepto las salsas de Xoconostle Cocido con tratamiento térmico en autoclave y tratamiento térmico en marmita con valores de 2.71 y 2.72 g/100 g. El mayor contenido de carbohidratos se obtuvo en la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita con 3.15 g/100g mientras que la salsa que presento el menor contenido de carbohidratos fue la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave con 2.32 g/100 g (Cuadro 5). Los valores encontrados en las salsas fueron similares a lo que

reporta Trápala *et al.*, (2012) donde evaluarón el contenido de carbohidratos en 10 variedades de frutos de Xoconostle con valores que van de 3.80 a 5.33 g/100 g. En este sentido la salsa comercial Búfalo (salsa norteña) presentó valores de 3 g/100 g (Cuadro 1), similares a los valores en el contenido de carbohidratos en la salsa de Xoconostle, mientras que las salsas comerciales como Herdes (salsa 5 chiles) y Del Monte (salsa taquera) muestran valores de 13 g y 6 g/100 g respectivamente. Contreras *et al.*, en 2011 reportaron valores que van de 5.81 a 7.98 g/100 gramos de muestra, en cuatro variedades de Xoconostle cosechado en el estado de Hidalgo.

7.1.3 Valor energético

Se observan diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) en los valores de valor energético de los cuatro tipos de salsas de Xoconostle (Cuadro 5), siendo la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave la que mayor contenido energético presentó con 57.54 Kcal/g. Las salsas de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita y Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave presentó el menor contenido energético con valores de 36.42 y 37.9 Kcal/g. Al respecto las salsas comerciales, y la salsa de Xoconostle presentan valores similares a la salsa La Costeña (salsa taquera) que presenta 25 kcal/100 g y la salsa Del Monte presenta 42.3 kcal/100 g respectivamente (Cuadro 1).

Cuadro 5. Contenido nutrimental de salsas de Xoconostle (1)

Tipo de Salsas	Grasas (g/100 g)	Carbohidratos (g)	Valor Energético (Kcal/100 g)
A/a	0.215c	2.32a	37.9c
C/a	0.486a	2.71c	57.54a
A/m	0.448b	3.15b	49.16b
C/m	0.223c	2.72c	36.42d
C.V.	8.325	0.883	0.629
D.M.S.	0.6924	0.0688	0.7445

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocido en marmita; C/a: Cocido en autoclave; A/m: Asado en marmita; A/a: Asado en autoclave

7.1.4 Cenizas

El contenido de cenizas en las salsas de Xoconostle mostro diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$) en los cuatro tipos de salsas con valores que van de 5.16 a 7.9 %, siendo la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita, la que presentó el mayor valor (7.09%), mientras que la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita presenta el menor valor con 5.16 %. (Cuadro 6). Estudios realizados por Contreras *et al.*, (2011) reportaron valores en el contenido de cenizas en 4 variedades de Xoconostle recolectados en el estado de Hidalgo que van de 0.49 a 0.65 g/100 g de muestra, estos valores son menores con respecto al contenido de cenizas en la salsas de xoconostle.

7.1.5 Humedad

Con respecto al porcentaje de humedad en las salsas de Xoconostle se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro tipos de salsas, excepto entre la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave y con tratamiento térmico en marmita con valores de 8.62 y 8.70 respectivamente (Cuadro 6). El valor más alto en el contenido de humedad lo presentó la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita con 15.44 % de humedad y con tratamiento térmico en autoclave mostró 12.37 % de humedad. Morales *et al.*, (2012) reportaron valores de humedad más altos en frutos de Xoconostle con respecto a los encontrados en salsas de Xoconostle, con valores que van de 92.71% a 95.83 % de humedad.

7.1.6 Proteína

El contenido de proteína en las salsas de Xoconostle fue estadísticamente diferente en los cuatro tipos de salsas, excepto en la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave y la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita con valores de 1.34 y 1.35 g/100 g respectivamente, el valor más alto en el contenido de proteína lo presentó la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave con 1.37 g/100 g de muestra y el valor más bajo fue en la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento

térmico en marmita con 1.33 g/100 g de muestra (Cuadro 6). Estos valores son similares a los que presentan las salsas comerciales como es el caso de la salsa “Del Monte (salsa taquera)” que muestra valores de 1.2 g/100 g de muestra; las salsas “Herdez (salsa 5 chiles)” y “La Costeña (salsa taquera)” reportan valores de 1 g/100 g. Contreras *et al.*, (2011), reportaron valores para frutos de Xoconostle de 0.71 a 1.56 g/100 g, estos valores son similares a los encontrados en las salsas de Xoconostle.

7.1.7 Fibra

Con respecto a fibra cruda en las salas de xoconostle se observaron diferencias estadísticamente significativas entre cuatro tipos de salsas de Xoconostle con valores que van de 5.11 a 5.42% de fibra cruda. La salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave presentó el menor valor (5.11%) y la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave el mayor valor (5.42%). Al respecto Contreras *et al.*, (2011) en cuatro variedades de frutos de Xoconostles analizados reportaron valores de 2.35 a 4.28 % de fibra cruda (Cuadro 6).

Cuadro 6. Contenido nutrimental de salsas de Xoconostle (2)

Tipo de Salsas	Cenizas (%)	Humedad (%)	Proteína (g)	Fibra Cruda (%)
A/a	6.65c	12.37b	1.37a	5.11d
C/a	7.90a	8.62c	1.34ab	5.42a
A/m	5.16d	15.44a	1.35ab	5.22c
C/m	7.32b	8.70c	1.33b	5.32b
C.V.	0.386	0.680	0.979	0.204
D.M.S.	0.0684	0.200	0.034	0.0282

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤0.05; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

7.1.8 pH

Al inicio del almacenamiento, se observaron diferencias estadísticas significativas en el potencial hidrogeno en las, salsas de Xoconostle (Cuadro 7), excepto entre las salsas de Xoconostle cocido y Xoconostle asado con tratamiento térmico en

autoclave con valores de 3.63 y 3.60 respectivamente, los valores encontrados son similares a lo reportado por García-Pedroza *et. al.*, (2005) y Contreras *et. al.*, (2011), en frutos de Xoconostle, donde reportan valores que van de 2.9 a 4.5 de pH. A los 15 y 30 días de almacenamiento no se observaron diferencias significativas en pH en los cuatro tipos de salsas de Xoconostle (Cuadro 7). A los 60 y 300 días de almacenamiento el menor valor de pH se obtuvo en la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave (3.06), mientras que el valor más alto en pH lo presentó la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita (3.60). Pimienta-Barrios *et. al.*, (2008) monitorearon cambios en el pH de frutos de Xoconostle durante 35 días después de la cosecha (2 a 35 días) donde reportaron valores con poca variación que oscilan entre 3.1 y 3.3. García-Pedroza *et al*, (2005) reportaron valores en seis variedades de Xoconostle que van de 3.1 a 3.3 de pH, estos valores son similares a los encontrados en salsas de Xoconostle (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto del pH con base al tiempo de almacenamiento en salsas de Xoconostle.

Tipos de Salsas	pH Tiempo de Almacenamiento (Días)				
	0	15	30	60	300
C/m	3.26c	3.66a	3.20a	3.40a	3.60a
C/a	3.63a	3.73a	3.36a	3.10b	3.06b
A/m	3.40b	3.63a	3.16a	3.30a	3.20b
A/a	3.60a	3.40a	3.23a	3.40a	3.20b
CV (%)	1.17	8.31	10.68	1.74	4.67
DMS	0.106	0.784	0.905	0.151	0.399

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤0.05; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

7.1.9 Sólidos solubles totales (°Brix)

Al inicio del almacenamiento, se observaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de sólidos solubles totales, excepto entre las salsas de

Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave y en las salas de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita con porcentajes de 9.30 y 9.13 °Brix, y entre las salsas de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave y con tratamiento térmico en marmita con 6.40 y 6.36 °Brix (Cuadro 8). A los 15 y 60 días de almacenamiento, se observaron diferencias estadísticas significativas en el contenido de sólidos solubles totales en las salsas de Xoconostle, excepto en las salsas de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave y con tratamiento térmico en marmita (Cuadro 8). El contenido más alto en sólidos solubles totales a los 30 y 60 días de almacenamiento se observó en las salsas de Xoconostle asado, con tratamiento térmico en marmita, con valores de 8.13 y 7.56 % de °Brix respectivamente, sin embargo al final del periodo de almacenamiento a los 300 días, no se observaron diferencias significativas. Las salsas de Xoconostle cocido no presentaron diferencias estadísticas significativas con los diferentes tratamientos térmicos en los diferentes tiempos de almacenamiento, y en las salsas de Xoconostle asado, al inicio y al final del periodo de almacenamiento tampoco presentaron diferencias significativas con los diferentes tratamientos térmicos. Al respecto Trápala *et al.*, (2012) reportaron valores de 4.30 a 7.78 °Brix en 10 variedades de Xoconostles y estos valores son similares a los encontrados en las salsas de Xoconostle.

Cuadro 8. Efecto del contenido de sólidos solubles totales (°Brix) con base al tiempo de almacenamiento en salsas de Xoconostle

Tipos de Salsas	Tiempo de Almacenamiento (Días)				
	0	15	30	60	300
C/m	6.36b	7.23c	7.23c	6.96ab	6.40a
C/a	6.40b	7.40c	7.30c	7.10ab	6.93a
A/m	9.13a	8.26b	8.13a	7.56a	7.30a
A/a	9.30a	9.13a	7.70b	6.63b	6.43a
CV (%)	1.04	1.24	0.53	4.53	5.52
DMS	0.213	0.261	0.106	0.837	0.984

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

7.1.10. Color

Se observaron diferencias estadísticas significativas en el valor L^* a los 0, 15 y 30 días de almacenamiento en los cuatro tipos de salsas de Xoconostle (Cuadro 8). Las salsas de Xoconostle asado, con tratamiento térmico en marmita y con tratamiento térmico en autoclave presentaron el mayor valor de L^* (mayor brillantez), con valores de 18.56 y 21.27 respectivamente, mientras que las salsas de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita y autoclave no mostraron diferencias significativas en luminosidad (L) al inicio de almacenamiento. En a^* se encontraron diferencias significativas a los 0, 30 y 300 días de almacenamiento. La salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave es la que presentó el mayor valor de a^* (mayor coloración) a los 30, 60 y 300 días de almacenamiento siendo las que presentaron la menor pérdida de coloración. En el valor de b^* solo se encontraron diferencias significativas al inicio de almacenamiento. Al final del periodo de almacenamiento (60 y 300 días) no hubo diferencias significativas en los valores de L^* , a^* y b^* . En general no se observaron diferencias estadísticas significativas en el color de las salsas de Xoconostle cocidas con los dos tratamientos térmicos en marmita y en autoclave pero si en las salsas de Xoconostle asado y salsa de Xoconostle cocido.

Cuadro 9. Efecto del color con respecto al tiempo de almacenamiento sobre salsas de Xoconostle.

Tipos de salsas	Color (L, a, b)														
	Tiempo de Almacenamiento (Días)														
	0			15			30			60			300		
	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b	L	a	b
C/m	16.36 c	13.85b	6.77ab	15.33c	11.36a	5.05a	16.89b	10.34ab	5.93a	18.72a	10.17a	5.57a	20.44a	9.61a	5.2a
C/a	16.41c	12.54b	6.25b	17.16bc	10.75a	6.07a	18.12ab	10.86a	6.15a	21.31a	10.23a	5.43a	24.50a	9.92a	5.61a
A/m	18.52b	16.95a	8.22a	18.62b	11.05a	4.49a	19.51a	10.26ab	5.67a	20.41a	8.59a	5.55a	22.27a	6.64b	5.15a
A/a	21.27a	14.57ab	7.89ab	22.18a	10.28a	5.77a	18.3ab	9.92b	5.56a	18.21a	9.52a	5.42a	17.56a	9.44a	4.92a
C.V.(%)	3.06	7.68	8.75	5.62	9.32	12.06	4.63	2.4	4.1	8.68	9.50	16.58	15.38	9.33	12.92
DMS	1.42	2.90	1.66	2.69	2.64	1.72	2.07	0.65	0.62	4.46	2.39	2.38	8.52	2.17	1.76

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

7.2 Análisis Funcionales en salsas de Xoconostle

7.2.1. Polifenoles

La concentración de polifenoles expresado como miligramos equivalente de ácido gálico por gramo de muestra (mg EAG/g M). Las salsas de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita y con tratamiento térmico en autoclave presentaron mayor contenido de polifenoles al inicio, 60 y 300 días de almacenamiento, y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre ellas (Cuadro 10). En general no se observaron diferencias significativas entre las salsas de Xoconostle cocido con los dos tratamientos térmicos y entre las salsas de Xoconostle asado con los dos tratamientos térmicos, sin embargo si se observaron diferencias significativas entre las salsas de Xoconostle cocido y asado. Se encontró una correlación entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante (ORAC) de 0.94 para la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave y 0.92 asado con tratamiento térmico en marmita, 0.82 para salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita y 0.57 con tratamiento térmico en autoclave.

Cuadro 10. Efecto de los polifenoles con respecto al tiempo de almacenamiento sobre salsas de Xoconostle.

Tipos de Salsas	Polifenoles (mg EAG/g M)			
	Tiempo de Almacenamiento (Días)			
	0	30	60	300
C/m	1.34b	1.55a	0.955b	0.83b
C/a	1.31b	1.19b	0.924b	0.75b
A/m	1.70a	1.52a	1.27a	1.17a
A/a	1.67a	1.25b	1.250a	1.14a

² Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

7.2.2. Capacidad de Absorción del Radical Oxígeno (ORAC)

En capacidad de Absorción del Radical Oxígeno expresada en micro mol de equivalente de Trolox por gramo de muestra (μmol de TE/g), en los cuatro tipos de salsas se observaron diferencias estadísticas significativas (Cuadro 11). La salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave presentó la mayor capacidad de absorción del radical oxígeno desde el inicio, durante y hasta el final del periodo de almacenamiento (0, 30, 50 y 300 días) con valores de 61.69, 42.5, 35.5, y $21.2\mu\text{mol}$ de TE/g, siguiendo la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita con 41.1, 30.6, 29.1 y $17.23 \mu\text{mol}$ de TE/g a los 0, 30, 60 y 300 días de almacenamiento (Cuadro 11). En general las salsas de Xoconostle asado presentó la mayor actividad antioxidante con respecto a las salsas de Xoconostle cocidos. Al respecto Joseph (2004) realizó un estudio respecto a los compuestos antioxidantes en cuatro frutos de tuna, donde menciona que las tunas rojas con más flavonoides totales tuvieron la mayor actividad antioxidante y que puede ser debido a los altos contenidos de fenólicos o posiblemente a una combinación de antioxidantes individuales que producen efectos sinérgicos. En este sentido se observó una relación entre el contenido de polifenoles y capacidad de absorción del radical oxígeno ya que las salsas de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave y marmita son las que mayor contenido de polifenoles y la capacidad de absorción del radical oxígeno presentaron.

Cuadro 11. Efecto del de la capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC) con respecto al tiempo de almacenamiento sobre salsas de Xoconostle.

Tipos de Salsas	ORAC (μmol de TE/g)			
	Tiempo de Almacenamiento (Días)			
	0	30	60	300
C/m	28.83c	17.86c	0.870d	0.26d
C/a	13.20d	26.16bc	12.20c	8.10c
A/m	41.10b	30.60b	29.10b	17.23b
A/a	61.96a	42.50a	35.50a	21.20a

² Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

7.2.3 Carotenoides

Se observa un mayor contenido de carotenoides en la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita obteniendo valores de 119.17 y 119.4 $\mu\text{g/g}$ y en la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave valores de 119.47 y 111.53 $\mu\text{g/g}$ al inicio y 30 días de almacenamiento respectivamente, y no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ellas, pero si, con respecto a los otros dos tipos de salsas. Mientras que a los 60 y 300 días el mayor contenido de carotenoides se observa en la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en autoclave con valores de 75.76 y 56.40 $\mu\text{g/g}$ respectivamente (Cuadro 12)

Se observó una correlación ($R=$) de carotenoides con la capacidad de absorción del radical oxígeno, en la salsa de Xoconostle asado con tratamiento térmico en autoclave de 0.88, y con tratamiento térmico en marmita de 0.91, en la salsa de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita de 0.89 y con tratamiento térmico en autoclave de 0.66

Cuadro 12. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre Carotenoides totales en salsas de Xoconostle.

Tipos de Salsas	Carotenoides (µg/g)			
	Tiempo de Almacenamiento (Días)			
	0	30	60	300
C/m	119.17a	119.40a	68.30b	35.16c
C/a	88.50ab	86.17ab	75.76a	56.40a
A/m	71.33b	58.13b	51.40c	48.76b
A/a	119.47a	111.53a	48.80d	32.60d

^z Valores con las mismas letras dentro de la columna son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤0.05; DMS: Diferencia mínima significativa; CV: coeficiente de variación; C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

7.3 Análisis microbiológicos en salsas de Xoconostle

En el estudio de inhibición de patógenos se efectuó para determinar el efecto antimicrobiano de la salsa de Xoconostle y de algunos ingredientes de la salsa. Se observó que tanto el Xoconostle como las salsas a base de Xoconostle mostraron efecto antimicrobiano mientras que el chile no mostro efecto antimicrobiano (Cuadro 13).

Cuadro 13. Efecto inhibitorio de cuatro tipos de salsas, extracto de chile y Xoconostle contra bacterias patógenas.

Extracto	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli O 157:H7</i>	<i>Salmonella Thypimurium</i>
A/m	18±4.242 ^a	10	10.5±0.707	-
A/a	18.25±1.060	14±0.707	12.5±0.707	10.5±0.707
C/m	17.75±1.767	12.75±2.474	14±2.828	10.75±1.767
C/a	18.25±1.060	12.5±0.707	12.5±3.535	8
Xoconostle	13±2.828	11.5±0.707	14.25±1.767	-
Chile	3.75±5.303	- ^b	-	-

C/m: Cocida en marmita; C/a: Cocida en autoclave; A/m: Asada en marmita; A/a: Asada en autoclave

^a Diámetro de inhibición (mm).

^b Sin efecto antimicrobiano

En el estudio del comportamiento de los microorganismos, en la salsa a base de jitomate (pH 4.0) existió un mayor desarrollo de *Salmonella Thypimurium*

inicialmente, con respecto a las salsas elaboradas a base de Xoconostle y Xoconostle - Jitomate debido al bajo nivel de pH (3.38) que la salsa posee, ya que los patógenos inoculados como el caso de *E. coli* O157 H7, (Figura 7) su pH mínimo de desarrollo se encuentra entre 4.0 y 4.5. (Escartin, 2006) y *Listeria monocytogenes* (Figura 9) que aunque tiene un pH óptimo de 7.0, sus límites de crecimiento son de 4.5 y 8.0 (IAMFES, 1991), pero algunos investigadores confirman la capacidad de esta bacteria para desarrollarse a bajos valores de pH. (George *et al.*, 1988)

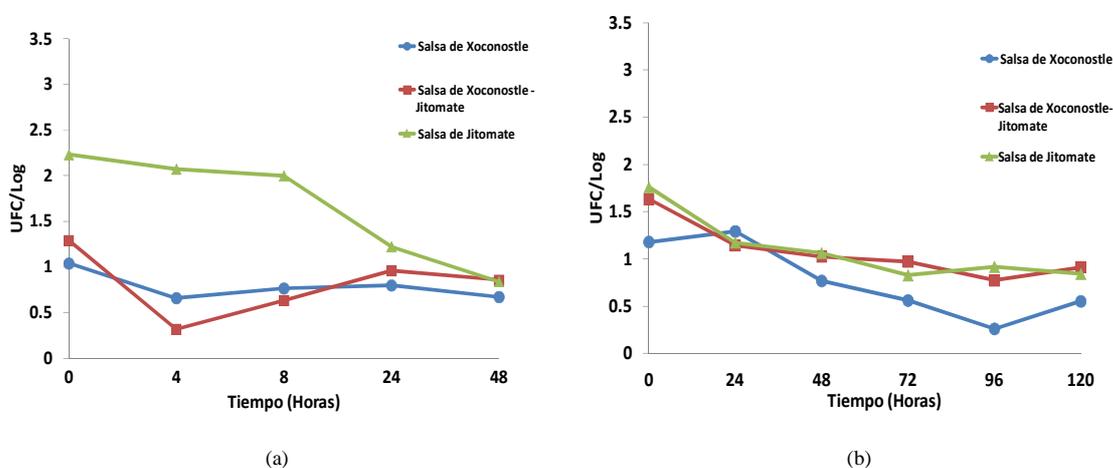


Figura 6. Comportamiento de *salmonella* Thypimurum en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeración (b)

El comportamiento de *Salmonella* en la salsa de Jitomate, refleja un mayor desarrollo de UFC/g inicialmente con respecto a las salsas elaboradas con Xoconostle-Jitomate y Xoconostle, como se muestra en la figura 8, lo que indica la poca capacidad de desarrollo que el microorganismo tiene en estas condiciones, ya que los valores de pH óptimos para desarrollar son de 3.8 como mínimo, 7.0 óptimo y 9.0 como máximo según la IAMFES (1991) (Figura 6).

Los alimentos refrigerados muestran un menor desarrollo de *Salmonella* Thypimurum, además de que interfiere el bajo pH en su desarrollo, también la baja temperatura, la que no les permite un desarrollo adecuado, por lo que se puede observar en estos casos una tendencia a disminuir conforme avanza el tiempo.

Aunque existen reportes de desarrollo de *Salmonella* a 6 °C con pH que oscilan entre 4.05 y 5.5.

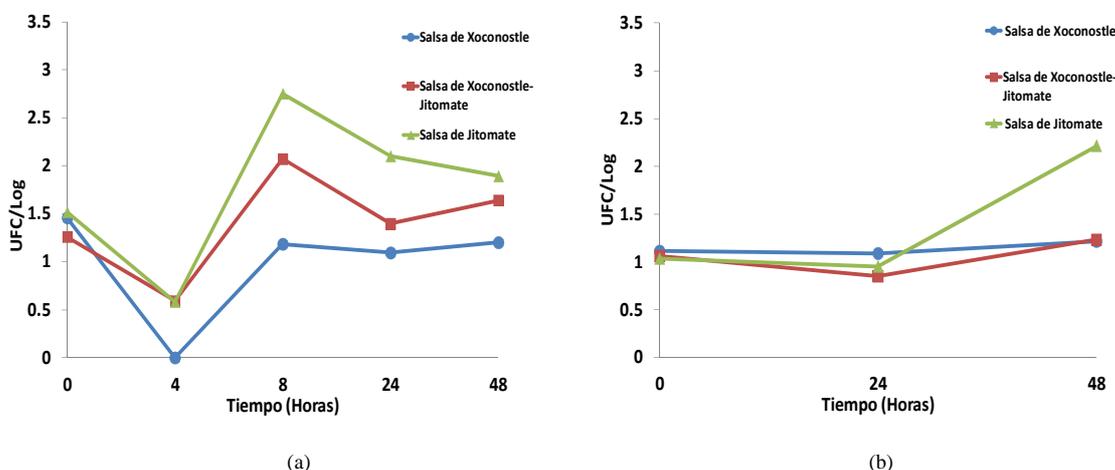


Figura 7. Comportamiento de *E. coli* O157:H7 en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeración (b)

E. coli O157:H7 se desarrolló en las salsas de Xoconostle, Xoconostle-Jitomate y Jitomate (Figura 7), su comportamiento inicial es similar al de *Salmonella* pero en este caso se adaptó a las condiciones en las que se encuentra y se observa un desarrollo elevado, mucho más claro en el caso de la salsa de Jitomate, mientras que en la salsa de Xoconostle y Xoconostle-Jitomate su desarrollo tiende a disminuir. Se destaca la capacidad que tiene *E. coli* para sobrevivir y multiplicarse a temperatura ambiente, pero en el caso de encontrarse en refrigeración solo tiende a disminuir y posteriormente a una mayor temperatura (12 °C) la proliferación es activa; su tendencia en salsas de Xoconostle tiende a mantenerse en fase estacionaria, mientras que en la salsa de Jitomate existe una tendencia exponencial a las 24 horas de incubación. Estos resultados difieren con un estudio realizado por Castro-Rosas *et al.*, (2010) donde encontraron que las poblaciones de *E. coli* disminuyeron cuando chiles jalapeños fueron almacenados a 4°C durante 8 semanas, aunque las poblaciones no estaban por debajo del límite de detección (Liao *et al.*, 2010).

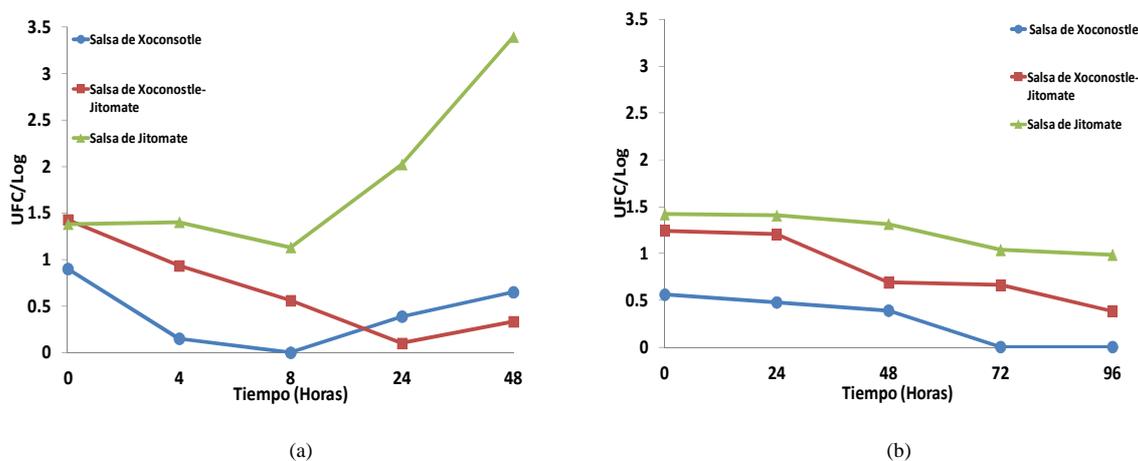


Figura 8. Comportamiento de *Staphylococcus aureus* en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeración (b).

En el caso de *Staphylococcus* existe un desarrollo en las salsas de Xoconostle, Xoconostle-Jitomate y Jitomate pero es mayor el incremento del patógeno en la salsa elaborada a base de Jitomate, como se observa en la Figura 8, mientras que la salsa de Xoconostle presenta mayor efecto inhibitorio en el desarrollo de *S. aureus*, esto se debe al posible efecto antimicrobiano que tiene el Xoconostle.

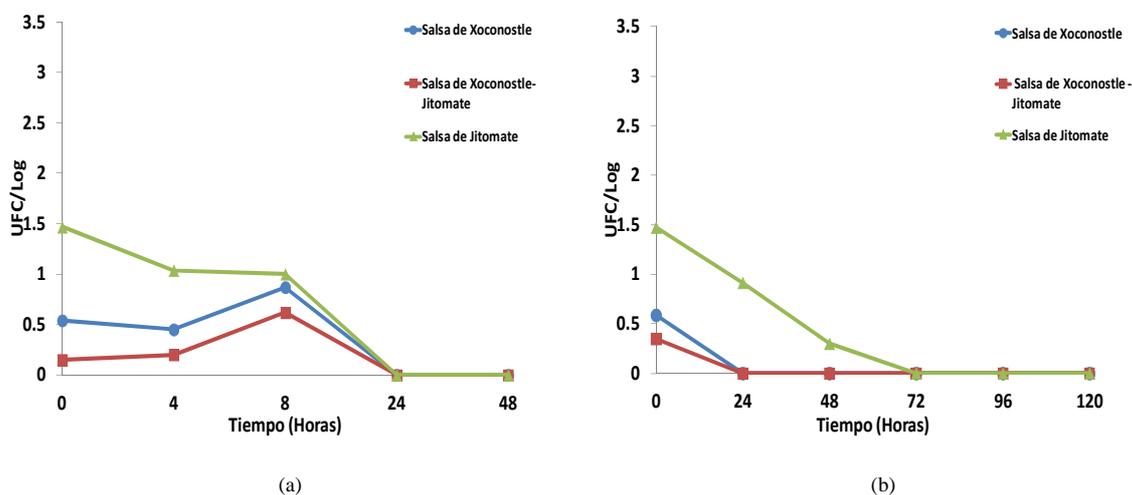


Figura 9. Comportamiento de *Listeria monocytogenes* en tres tipos de salsa a temperatura ambiente (a) y refrigeración (a).

L. monocytogenes no mostró desarrollo a temperatura de refrigeración ni en temperatura ambiente (Figura 9). Se observa que a las 8 horas de incubación en los tres tipos de salsas comienzan la fase de declive y a las 24 horas ya existe una muerte celular esto debido a que *Listeria* puede desarrollarse a 5 °C pero no con un pH tan bajo (3.38) que se tiene en la salsas de Xoconostle. Al inicio de la incubación se observa un mayor número de sobrevivencia en la salsa de Jitomate, mientras que en la salsa de Xoconostle y en la salsa de Xoconostle-Jitomate, su sobrevivencia es menor, ya que al primer día de incubación las bacterias mueren, mientras que en la salsa de Jitomate mueren al tercer día.

De igual manera se elaboro una salsa a base de Jitomate donde se sustituyo el chile cascabel por chile jalapeño, con la finalidad de observar el comportamiento de los mismos cuatro patógenos pero en condiciones diferentes, tratándose de una salsa diferente.

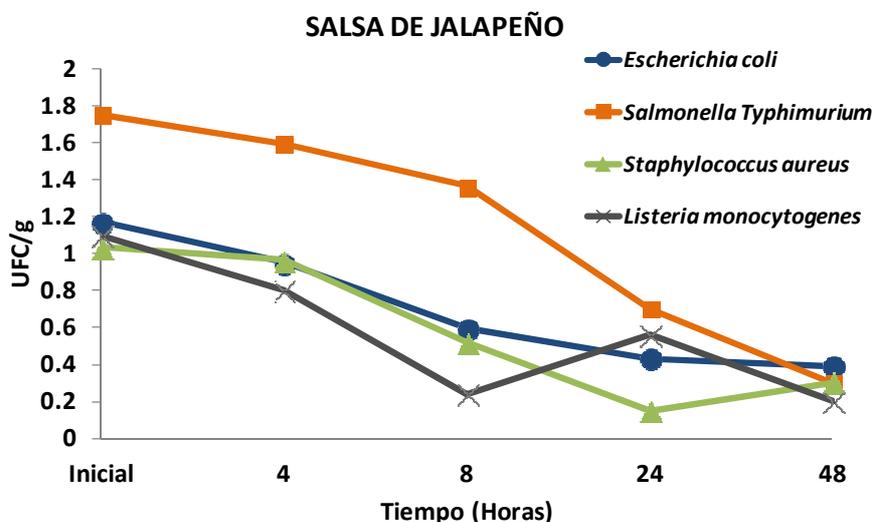


Figura 10. Comportamiento de cuatro patógenos en salsa a base de jitomate y chile jalapeño

En la figura 10 se muestra la comparación entre *Listeria monocytogenes*, *E.coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella Typhimurium* en una sola salsa, que es a base de jitomate pero que se sustituyo el chile cascabel por el chile

jalapeño, con el propósito de proporcionar información sobre si es determinante el efecto de otros ingredientes para el efecto inhibitorio que las salsas pudieran tener para el nulo desarrollo de microorganismos patógenos, en la cual se observa una disminución de UFC conforme transcurre el tiempo de los cuatro patógenos presentes, en un tiempo de 48 horas. Por lo que nos ayuda a comprender que con la variación de algunos componentes de la salsa con efecto antimicrobiano se podría potenciar a un mas este efecto.

VIII. CONCLUSIONES

Al inicio del almacenamiento se observaron diferencias en el potencial hidrogeno sin embargo durante el almacenamiento se mantuvo estable y no se observaron diferencias estadísticas, excepto al final del periodo de almacenamiento en las salsas de Xoconostle cocido con tratamiento térmico en marmita. Las salsas de Xoconostle cocido no presentaron diferencias significativas con los tratamientos térmicos durante el periodo de almacenamiento.

El contenido de sólidos solubles totales (°Brix) fue mayor en las salsas de Xoconostle asado, y no se observaron diferencias estadísticas significativas el final del almacenamiento en salsas de Xoconostle cocido y asado con los tratamientos térmicos en autoclave y marmita.

Se observó una mayor brillantez en las salsas de Xoconostle asado con tratamiento térmico en marmita y autoclave, sin embargo al final del periodo de almacenamiento no se observaron diferencias estadísticas en la brillantez e intensidad del color.

La salsa de Xoconostle asada con tratamiento térmico en marmita, es la que presento los mejores valores con fisicoquímicos con respecto a los otros tres tratamientos, obteniendo el mejor contenido de carbohidratos (3.15%), el más bajo valor en cenizas (5.16%), el más alto valor de humedad (15.44 %) y aportando 49.16 Kcal/100 g.

Los cuatro tipos de salsa de Xoconostle mostraron niveles de pH similares durante todo el tiempo de almacenamiento (0 a 300 días) con valores de 3.06 a 3.76 de pH

El contenido de sólidos solubles totales (°Brix) fue mayor en las salsas de Xoconostle asadas con respecto a las salsas de Xoconostle cocidas en los diferentes tiempos de almacenamiento.

Las salsas de Xoconostle asadas son las que presentaron un color más oscuro con respecto a las salsas de Xoconostle cocidas, y teniendo una decoloración de color conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento.

El mayor contenido de polifenoles se encontró en la salsa de Xoconostle asada en marmita y en la salsa de Xoconostle asada con tratamiento térmico en autoclave, a los 0, 60 y 300 días de almacenamiento.

El mayor contenido de actividad antioxidante (ORAC) se observó en la salsa de Xoconostle asada con tratamiento térmico en autoclave y en la salsa de Xoconostle asada con tratamiento térmico en marmita, en el transcurso del tiempo de almacenamiento (0 a 300 días).

La salsa de Xoconostle asada con tratamiento térmico en autoclave y la salsa de Xoconostle cocida con tratamiento térmico en marmita presentaron los valores más elevados de carotenoides al tiempo cero con valores de 119.47 y 119.17.

Los análisis microbiológicos concluyen que el uso de Xoconostles como ingrediente en salsas podría contribuir a mejorar o preservar la inocuidad en salsas. El tratamiento térmico no afectó la capacidad antimicrobiana de las salsas a base de Xoconostle. Sería adecuado realizar mayores estudios evaluando otras variedades de Xoconostle para determinar si existe alguna variedad de este fruto con mayor capacidad antimicrobiana para su potencial uso como fuente de antimicrobianos naturales para su uso en la industria alimentaria.

IX. BIBLIOGRAFÍA

Ackerman, D., (1990). A manual history of the senses. Random House. New York

Ackerman, D., (1990). *A natural history of senses*. Random House. New York.

Adams, M.R. y Moos M. O. (2000). Food microbiology. Segunda Edición. Royal Society of Chemistry. Reino Unido.

Bravo, H. H. (1978) Las cactáceas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Volumen I.

Caballero, A. (2008). Temas de higiene de los alimentos. Editorial Ciencias Médicas. Cuba.

Castro-Rosas J, Gomez-Aldapa CA, Acevedo-Sandoval OA, Ramirez-Gonzalez CA, Villagomez-Ibarra JR, Hernandez NC, Villarruel-Lopez A, Torres-Vitela MR. (2011). Frequency and behavior of *Salmonella* and *Escherichia coli* on whole and sliced jalapeño and serrano peppers. Journal of Food Protection 74:874-881.

Contreras L.E., Jaimez O.J., Castañeda O. A., Añorve M. J., (2011) Sensory profile and chemical composition of *Opuntia joconostle* from Hidalgo, Mexico. Centro de investigaciones químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca, Hidalgo, México. 2:37-39.

Cruz-Gálvez AM, Gómez-Aldapa CA, Villagómez-Ibarra JR, Chavarría-Hernández N, Rodríguez-Baños J, Rangel-Vargas E, Castro-Rosas J. (2013). Antibacterial effect against foodborne bacteria of plants used in traditional medicine in central Mexico: Studies in vitro and raw beef. Food Control. 32:289-295.

Delgado-vargas F, Jiménez AR, Paredes-López O. (2000) Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains-Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. Crit Rev Food Sci Nutr; 40(3):173-289.

Fennema, Owen R. (1996) Food chemistry. ISBN 0824793463) 1069 p.

Fernández E. E. (2000). Microbiología e inocuidad de los Alimentos. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

Frati MAC, Fernández HJA, Banales H, Ariza ACR. (1983). Disminución de la glucosa e insulina sanguíneas por nopal (*Opuntia sp.*). Archivos de Investigación Médica. 14:269-274.

Fregoso J. (2006). De la Huerta al Mundo, México Exporta Salsas, *Excelsior*, México.

Gaillard, S. Leguerinel, I. Mafart, P. Modelling (1998). Combined effects of temperature and pH on the heat resistance of spores of *Bacillus cereus*. Food microbiology. Francia. 625 - 630.

Gaillard, S. Leguerinel, I. Savy, N. Mafart, P. (2005). Quantifying the combined effects of the heating time, the temperature and the recovery medium pH on the regrowth lag time of *Bacillus cereus* spores after a heat treatment. Journal food of microbiology. Francia. 53 – 58.

García-Pedroza L. G., Reyes-Agüero J. A., Aguirre.Rivera J.R., y Pinos-Rodriguez L. M., (2005). Preliminary nutritional and organoleptic assessment of xoconostle fruit (*Opuntia spp.*) as a condiment or appetizer. Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Gil, H. (2010). Tratado de nutrición. Composición y calidad nutritiva de los alimentos. 2da. Edición. Editorial panamericana, México. 812.

Gould, G. (1996) Methods for preservation and extension of shelf life. International journal of food microbiology. 51 – 64.

Gould, G., Abee, T. Granum, P., Jones, M. (1995) Physiology of food poisoning microorganisms and the major problems in food poisoning control. International journal food microbiology. 121 – 128.

- Gurrieri, S., Miceli, L. C., (2000). Chemical characterization of sicilian prickly pear (*Opuntia ficus indica*) and perspectives for the storage of its juice. *Journal Agric Food Chem.* 48:5424 – 5431.
- Hayek SA, Ibrahim SA. (2012). Antimicrobial Activity of Xoconostle Pears (*Opuntia matudae*).
- Huang A. S., Von Elbe J. H. (1987) Effect of pH on the Degradation and Regeneration of Betanine. 52: 6, pp 1689–1693,
- J. Sancho, E. B. J. d. C., (2002). Analisis Sensorial de los Alimentos. México D.F. ALFAOMEGA.
- Jay, J. (2002). Microbiología moderna de los alimentos. Cuarta edición. Editorial Acribia. España.
- Joklik, W.K., Willett, H.P., Amos, D.B. and Wilfert, C.M. (1988). Zinsser Microbiology. 19th Ed. Appleton & Lange.
- Knochel, S, Gould, G. (1995). Preservation microbiology and safety: Quo vadis?. *Trends in food science and technology.*.. Volume 6:127 – 131.
- Larmond, E. (1977). *Laboratory methods for sensory ecaluation of foods*. Can. Dept. Agr. Publ. 1637.
- Leistner, L. (1995). Food preservation by hurdle technology. *Trends in food science and technology.* 6: 41 – 46.
- Leistner, L. (2000). Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *Internacional journal food microbiology.* No. 55. 181 – 186.
- Leistner, L., Gould, G. (2002). Hurdle technologies. Combination treatment for food stability. Safety and quality. Kluwer academic, New York.
- Lin J, Lee IS, Frey J, Slonczewski JL, Foster JW. (1995). Comparative analysis of extreme acid survival in *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, and *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology.* 177:4097–4104.

Martínez M.A., (2003). *Carotenoides*, Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia, Medellín,

Meléndez-Martínez Antonio J., M. Vicario Isabel, Francisco J. Heredia; (2007), *Pigmentos carotenoides: consideraciones estructurales y fisicoquímicas* Laboratorio de Color y Calidad de Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. 41012 Sevilla, España Vol. 57 N° 2.

Mínguez M.M., Pérez G. A, Hornero M.D., *Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples "colorantes" naturales*. Grupo de Química y Bioquímica de pigmentos, Departamento de Biotecnología de Alimentos, Instituto de la Grasa (CSIC) Sevilla, España.

Morales L. E., Pimentel G. D., Campos M. R., Hernández F. A., Pérez A. C. (2013) *Evaluación de las propiedades funcionales de pulpa de xoconostle (Opuntia oligacantha) y su conservación mediante microcápsulas*. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Naim, F. Zareifard, M.R., Zhu, S. Huizing, R. H. Grabowski, S. (2008). Combined effects of heat, nisin, and acidification on the inactivation of *Clostridium sporogenes* spores in carrot – alginate particles: From kinetics to process validation. *Journal food microbiology*. Holanda. Page 936 – 941.

NMX-F-377-1986. Alimentos Regionales Salsa Picante envasada Foods regional Canned spicy sauce Normas mexicanas.

O.Kuti Joseph, (2004). *Antioxidant compounds from four Opuntia cactus pear fruit varieties*, Texas A&M University, Horticultural Crops & Food Research Laboratory, 214 Howe Agriculture Lab Annex, MSC 228, Avenue B, Kingsville, TX 78363-8202, USA.

Olson, J.C., Casman, E.P., Baer, E.F. and Stone, J.E. (1970). Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* cultures isolated from acute cases of mamitis. Appl. Microbiol. 20:605-607

Ovando-Chacón, S.L. & Waliszewski, K.N. (2005). Preparativos de celulasas comerciales y aplicaciones en procesos extractivos. Universidad y Ciencia. 21:111-120.

Parr, A.J., Bolwell, G.P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. Journal Science Food Agriculture, 80:985-1012

Pérez-Jiménez J. y Saura-Calixto F., (2007). Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. Madrid España, pp 1150-1159.

Pimienta-Barrios E. (1990). El Nopal Tunero. Universidad de Guadalajara, México. 246 p.

Prior Ronald I., ha hoang, liwei gu, xianli wu, mara bacchiocca, luke howard, maureen hampsch-woodill, dejian huang,boxin ou, And robert Jacob. (2009). Assays for Hydrophilic and Lipophilic Antioxidant Capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORACFL)) of Plasma and Other Biological and Food Samples,

Rahman, S. (2003). Manual de conservación de los alimentos. Editorial Acribia. España.

Ray, B. (2004). Fundamental food microbiology. Tercera Edición. Editorial CRC Press. Estados Unidos.

Reyes- Munguía, A., Azúara- Nieto, E., Beristain, C. I., Cruz- Sosa, F., Vernon-Carter, E. J. (2009). Purple maguey (Rhoe discolor) antioxidant properties. Journal of Food, 7:209-216.

Rice-Evans, C. A., Miller, N.J., Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2:152-159

Richardson, P. (2001). *Tecnología térmicas para el procesado de alimentos*. Editorial Acribia. España.

Rodriguez-Amaya D. (1999). Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*; 49(1-S): 38-47.

Ross, J. A., Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual Review of Nutrition*, 22:19-34.

Sánchez G. V. y Ortega M. D. (1996). Componentes químicos durante la maduración del fruto de *Opuntia joconostle* WEBER forma cuaresmero, 30: 541-548. 1996.

Sánchez-Mejorada RH. (1982). *Algunos Usos Prehispánicos de las Cactáceas entre los Indígenas Mexicanos*. Gobierno del Estado de México. Secretaría de Desarrollo Agropecuario. Toluca, México 48 p.

Saskia, A. B. E., Van Accker., Bast, A. A. L. (1998). Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. En: *Flavonoids in health and Disease*. Ed Marcel Dekker, INC. New York, 9, 221-225.

Scheinvar L., Filardo Kerstupp S., Olalde Parra G., Zavaleta Beckler P. (2009). Diez especies mexicanas productoras de xoconostles: *Opuntia* spp. Y *Cylindropuntia imbricata* (Cactaceae)

Sharma, S., Mulvaney, S. (2003). *Ingeniería de alimentos*. Editorial Limusa Wiley. Mexico:.

Singleton V.L. y Rossi JA. (1965). Colorimetría de fenoles totales con reactivos de ácido fosfo-fosfotúngstico. *Revista Americana de Enología y Viticultura*

Tabera, J. C., (2006). *Manual Didactico de Cocina Tomo 2*. Málaga España: INNOVACION Y CUALIFICACION S.L.

Taiz, L., Zeiger, E. (2007). Fisiología vegetal. ed. University Jaume I. México. pp. 543- 546.

Tesoriere, L., D. Butera, M. Allegra, M. Fazzari y M.A. Livrea, Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 53, 12661270 (2005).

Trápala I. A., Hernández F. A., Campos M. R., Güemes V. N. y Campos R. E. (2013). Evaluación del potencial nutracéutico de diferentes tipos de xoconostles, Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos. Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Instituto de Ciencias Agropecuarias Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, pp 55-61.

Xianli Wu, Liwei Gu, Joanne Holden, David B. Haytowitz, Susan E. Gebhardt, Gary Beecher, Ronald L. Prior, (2004) Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. USDA Arkansas Children's Nutrition Center, USDA, 1120 Marshall Street, Little Rock, AR 72202, USA b Nutrient Data Laboratory, USDA Beltsville Human Nutrition Center, 10300 Baltimore Ave., Beltsville, MD, USA 17 (2004) 407–422

Yeh GY, Eisenberg DM, Kaptchuk TJ, Phillips RS. (2003). Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes Care*. 26:1277-1294.

X. ANEXOS

NMX-F-377-1986. ALIMENTOS. REGIONALES. SALSA PICANTE ENVASADA
FOODS. REGIONAL. CANNED SPICY SAUCE. NORMAS MEXICANAS.
DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma, participaron los siguientes Organismos:

Cámara Nacional de la Industria de Transformación.

Departamento de Normas y Control de Calidad

Conservas Guajardo, S. A. de C. V.

Conservas La Costeña, S. A. de C. V.

Clemente Jaques y Cia., S. A.

Empacadora Búfalo, S. A. de C. V.

Herdez, S. A.

0. INTRODUCCIÓN

Las especificaciones que se establecen en esta Norma, sólo podrán satisfacerse cuando en la elaboración del producto se utilicen materias primas e ingredientes de calidad sanitaria, se apliquen buenas técnicas de colaboración, se realicen en locales e instalaciones bajo condiciones higiénicas que aseguren que el producto es apto para el consumo humano.

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta Norma Mexicana establece las especificaciones mínimas de calidad que debe cumplir el producto denominado Salsa Picante Envasada.

2. REFERENCIAS

Esta Norma se complementa con las siguientes Normas Mexicanas vigentes:

NMX-F-102-S. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas.

NMX-F-112. Método de prueba para la determinación de sólidos solubles por lectura refractométrica en productos derivados de las frutas.

NMX-F-316. Determinación de sólidos totales en mieles y miel final.

NMX-F-317-S. Determinación de pH en alimentos.

NMX-F-360-S. Alimentos para humanos. Determinación de cloruros como cloruro de sodio (Método de Volhard).

NMX-Z-012. Muestreo para la inspección por atributos.

3. DEFINICIÓN

RECOPIADO POR: EL PROGRAMA UNIVERSITARIO DE ALIMENTOS

Para los efectos de esta norma se establece la siguiente definición:

Salsa Picante Envasada.- Es el producto resultante de la mezcla y/o molienda y suspensión de una o más variedades de chiles frescos, secos o conservados, sanos, limpios, adicionados o no de acidulantes, espesantes, especias e ingredientes permitidos por la Secretaría de Salud, que le proporcionen el sabor característico.

4. CLASIFICACIÓN Y DENOMINACIÓN DEL PRODUCTO

El producto objeto de esta Norma se clasifica en un sólo tipo, con un sólo grado de calidad, denominado como Salsa Picante Envasada, cualquiera que sea la procedencia del chile, ya sea fresco, seco o en conserva.

5. ESPECIFICACIONES

La Salsa Picante Envasada en su único tipo con un sólo grado de calidad debe cumplir con las siguientes especificaciones:

5.1 Sensoriales

Color: Característico de la variedad de chile o mezcla de chiles empleados.

Olor: Característico de la variedad de chiles o mezcla de chiles empleados.

Sabor: Picante característico de la variedad de chiles o mezcla de chiles empleados.

Consistencia: Fluida, semifluida o viscosa.

5.2 Físicas y químicas

La Salsa Picante Envasada debe cumplir con las especificaciones físicas y químicas anotadas, en la tabla 1.

Tabla 1

Especificaciones	Mínimo	Máximo
pH	2.8	4.0
Sólidos solubles %(^o Brix)	4.0	30.0
Sólidos totales	4.0	-
%de acidez expresado como ácido acético	1.0	4.5
% de cloruros (NaCl)	-	4.5

5.3 Microbiológicas

El producto objeto de esta Norma no debe contener microorganismos patógenos, toxinas microbianas, que puedan afectar la salud del consumidor o provocar deterioro del producto, según disposiciones que establezca la Secretaría de

Salud.5.4 Materia extraña objetable

El producto objeto de esta Norma debe sujetarse a lo que establezca la Secretaría de Salud para estos productos.

5.5 Contaminantes químicos

El producto objeto de esta Norma no debe contener ningún contaminante químico en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud.

Los límites máximos para estos contaminantes quedan sujetos a lo que establezca la Secretaría de Salud.

5.6 Ingredientes básicos

Chiles en cualquiera de sus variedades y en una proporción no menor del 1 %.

- Agua
- Vinagre
- Azúcares
- Sal común

5.7 Ingredientes opcionales

Fécula de maíz, condimentos, especias y otros permitidos por la Secretaría de Salud.

5.8 Aditivos para alimentos

Los permitidos por la Secretaría de Salud dentro de los límites que ésta establezca.

6. MUESTREO

6.1 Cuando se requiera el muestreo del producto, éste podrá ser establecido de común acuerdo entre productor y comprador, recomendándose el uso de la Norma Mexicana NMX-Z-12 (véase 2).

6.2 Muestreo Oficial

El muestreo para efectos oficiales estará sujeto a la legislación y disposiciones de la Dependencia Oficial correspondiente, recomendándose el uso de la Norma Mexicana NMXZ-12 (véase 2).

7. MÉTODOS DE PRUEBA

Para la verificación de las especificaciones físicas y químicas que se establecen en esta Norma, se deben aplicar las Normas Mexicanas que se indican en el capítulo de Referencias (véase 2).

8. MARCADO, ETIQUETADO ENVASE Y EMBALAJE

8.1 Marcado y etiquetado

8.1.1 Marcado en el envase

- Cada envase del producto deben llevar una etiqueta o impresión permanente visible e indeleble con los siguientes datos:
- Denominación del producto, conforme a la clasificación de esta norma.
- Nombre o marca comercial registrada, pudiendo aparecer el símbolo del fabricante.
- El "Contenido Neto" de acuerdo a las disposiciones vigentes de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial.
- Lista completa de ingredientes en orden porcentual decreciente, mencionando los aditivos, porcentaje y su función si es que los contiene.
- Texto de las siglas Reg. S.S.A. No. "A", debiendo figurar en el espacio en blanco el número de registro correspondiente.
- Nombre o razón social y domicilio del fabricante.
- La leyenda "Hecho en México".
- Otros datos que exija el reglamento respectivo o disposiciones de la Secretaría de Salud.

8.1.2 Marcado en el embalaje

Deben anotarse los datos necesarios de 8.1.1 para identificar el producto y todos aquellos otros que se juzguen convenientes, tales como las precauciones que deben tenerse en el manejo y uso de los embalajes.

8.2 Envase

El producto objeto de esta Norma, se debe envasar en recipientes de un material resistente e inocuo, que garantice la estabilidad del mismo, que evite su contaminación, no altere su calidad ni sus especificaciones sensoriales.

8.3 Embalaje

Para el embalaje del producto objeto de esta Norma, se debe utilizar materiales apropiados, que tengan la debida resistencia y que ofrezcan la protección adecuada a los envases y a la vez faciliten su anejo en el almacenamiento y distribución de los mismos, sin exponer a las personas que los manipulen.

9. ALMACENAMIENTO

El producto terminado debe almacenarse en locales que reúnan los requisitos sanitarios que establezca la Secretaría de Salud.

10. BIBLIOGRAFÍA

NMX-Z-13 Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Mexicanas.

11. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

No se puede establecer concordancia por no existir referencia al momento de la elaboración de la presente.

Color

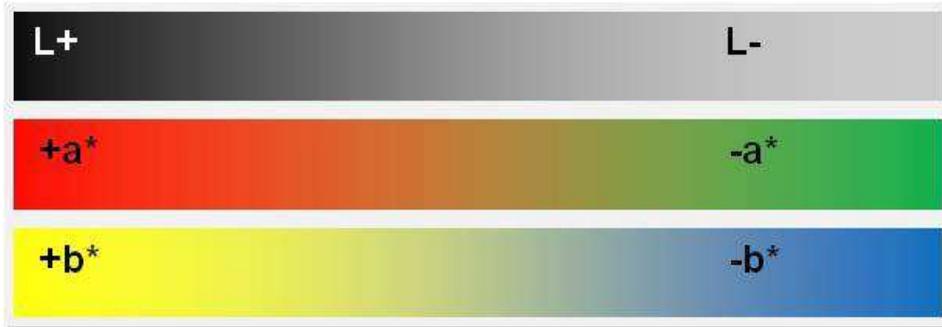
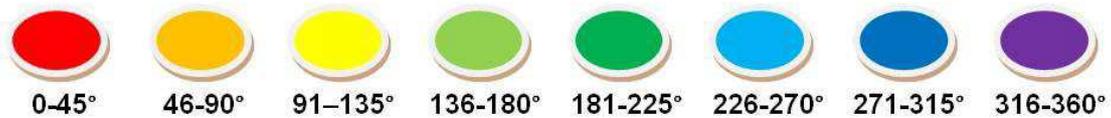


Figura 6.3. Representación de los valores de L, a* y b*

Las coordenadas de a* y b* se representan en un plano cartesiano de 360°, donde 0°=rojos, 90°=amarillos, 180°= verdes y 270°= azules



(Morales *et al.*, 2012)



La Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Colima,
La Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad
Autónoma de Nuevo León y la División Ciencias de la
Vida de la Universidad de Guanajuato

Otorgan la presente

CONSTANCIA

A

**Rodarte-Medina, L.R., Hernández-Fuentes, A.D. , Gómez-Aldapa
C.A., Castro-Rosas, J.**

Por su participación con el trabajo:

“COMPORTAMIENTO DE MICROORGANISMOS PATOGENOS EN
SALSA DE XOCONOSTLE (Opuntia joconostle F. A. C. Weber)” en el
marco del XV Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Colima, Col., 23 y 24 de Mayo de 2013


M. C. Daniel Jarumillo Cano
Director de la FCQ


Dra. Ma. Gpe. De Jesús Alanís Guzmán
Jefe del Depto. de Alimentos, FCB


Dr. Gerardo Martínez Soto
Director del Depto. de Alimentos, DICIVA

Este documento quedó registrado en la Dirección General de Educación Continua en
Libro: 1 foja: 80 Colima, Col., México; 24 de mayo de 2013
Registro STPS: R6UCO-6209190013



XV Congreso Nacional de Ciencia y
Tecnología de Alimentos

COMPORTAMIENTO DE MICROORGANISMOS PATOGENOS EN SALSA DE
XOCONOSTLE (*Opuntia joconostle* F. A. C. Weber)

Rodarte-Medina, L.R.^{ac}, Hernández-Fuentes, A.D.^a, Gómez-Aldapa C.A.^b, *Castro-Rosas, J.^b,

^a CICYTA, ICAP, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km. 1, Rancho Universitario, C.P. 43600, Tulancingo, Hidalgo., México.

^b Centro de Investigaciones Químicas. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, Centro Universitario, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, C.P. 42183 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

^c Estudiante de Maestría en Ciencia de los Alimentos-UAEH

* jcastro@uaeh.edu.mx

RESUMEN:

Se investigó el comportamiento de *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* Typhimurium, en salsa con y sin Xoconostle (*Opuntia joconostle* F. A. C. Weber). Los frutos se recolectaron directamente de un huerto de Xoconostle y se transportaron al laboratorio a temperatura ambiente. En el laboratorio se prepararon 3 tipos de salsa con tres formulaciones teniendo como base principal: chile-Xoconostle (A), Chile-Xoconostle-Jitomate (B) y Chile-Jitomate (C). Por separado, las bacterias patógenas fueron inoculadas en las salsas y éstas se almacenaron a 3-5° y 30° C. El recuento de los microorganismos patógenos se realizó mediante la técnica de vertido en placa. Además, se evaluó el efecto antimicrobiano de las salsas de Xoconostle, del fruto de Xoconostle y del chile mediante la técnica de difusión en agar. Tanto *E. coli* O157:H7 como *S. aureus* se multiplicaron en la salsa. *L. monocytogenes* y *S. typhimurium* no mostraron desarrollo. En todos los casos la salsa tipo A presentó mayor efecto inhibitorio en el desarrollo de *E. coli* y *S. aureus*, o en la sobrevivencia de *L. monocytogenes* y *S. typhimurium*. Mediante la técnica de difusión en placa se observó que tanto el Xoconostle como las salsas a base de Xoconostle mostraron efecto antimicrobiano. El chile no mostró efecto antimicrobiano.

ABSTRACT:

The behavior of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* Typhimurium in sauces with- and without- Xoconostle (*Opuntia joconostle* FAC Weber) was determinate. Xoconostle fruits was collected in field and transported to the laboratory at room temperature. Three types of sauces were made in the laboratory using principally: chili pepper-Xoconostle, chili pepper-Xoconostle-tomato (B), chili pepper-tomato (C). The sauces were inoculated with all pathogenic bacteria and they were stored at 3-5° and 35° C. Pathogenic microorganisms were counted by plate count. The antimicrobial effect of Xoconostle sauces, Xoconostle fruits and chili pepper was evaluated by diffusion technique. Both, *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* multiplied in all sauces but *L. monocytogenes* and *S. typhimurium* did not multiplied in sauces. Sauce type A showed an inhibitory effect in *E. coli* and *S. aureus* growth, or an antibacterial effect on survival of *L. monocytogenes* and *S. typhimurium*. Both, Xoconostle sauces and Xoconostle fruits showed antimicrobial effect by diffusion technique. The chili peppers did not show antimicrobial effect.

Palabras clave: Xoconostle, salsa, efecto antimicrobiano

ÁREA: Microbiología y biotecnología

Jueves 23 y viernes 24 de Mayo de 2013,
Paraninfo de la Universidad de Colima.
Colima, Col.




Universidad Veracruzana

Universidad Veracruzana
Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias


CONFERENCIA INTERNACIONAL
Nutrición Agropecuaria

Otorga la presente constancia a:

C. Rodarte Medina L. R., Campos Montiel R. G., Castro Rosas J. y Hernández Fuentes A. D.

Por su participación como **PONENTE** en el **SIMPOSIUM AGRONOMIA Y AGRONEGOCIOS INTERNACIONALES** con el trabajo titulado: **"Caracterización nutricional de salsas a base de xocoostle (Opuntia oligacantha c. f. först)"**.
Realizado en la Ciudad de Tuxpan de R. Cano, Ver. del 25 al 27 de septiembre de 2013.


Dr. Arturo Serrano Solis
Director de la Facultad


Mtra. Ma. de la Luz Hernández Sánchez

COMPORTAMIENTO BROMATOLÓGICOS EN SALSA DE XOCONOSTLE (OPUNTIA OLIGACANTHA F. C. FÖRST)

Rodarte-Medina, L.R.^{ac}, Campos-Montiel R.G.^a, J. Castro-Rosas^b, Hernández-Fuentes, A.D.^a.

a CICYTA, ICAP, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km. 1, Rancho Universitario, C.P. 43600, Tulancingo, Hidalgo., México.

b Centro de Investigaciones Químicas. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería. Universidad Autónoma del estado de Hidalgo, Centro Universitario, Carretera Pachuca-Tulancingo Km. 4.5, C.P. 42183 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

c Estudiante de Maestría en Ciencia de los Alimentos-UAEH

* hfad@hotmail.com

RESUMEN:

Se elaboró salsas a base de Xoconostle Ulapa, de la variedad *Opuntia oligacantha* C. F. Först, de un huerto comercial establecido en el municipio de Tezontepec de Aldama, Hidalgo, e ingredientes como chile seco cascabel y ajos se obtuvieron en plantaciones establecidas en Zacatecas, Zac., México. Las salsas fueron elaboradas bajo la norma NMX-F-377-1986. Se obtuvieron cuatro tratamientos con dos formulaciones (asada y cosida) y dos tratamientos térmicos (marmita: 80°C durante 20 min y autoclave: 121°C durante 15 min); T1: Xoconostle cocido en autoclave, T2: Xoconostle asado en autoclave, T3: Xoconostle cocido en marmita, T4: Xoconostle asado en marmita. Las variables evaluadas fueron: pH, acidez titulable, color, grasas, carbohidratos, valor energético, cenizas humedad, proteína y fibra cruda. Para el análisis de resultados se utilizó el programa estadístico SAS, el diseño completamente al azar. Se realizó el análisis de varianza y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey con una $p \leq 0.05$. El mayor contenido de sólidos solubles totales o °Bx, se encontró en la salsa de Xoconostle asada (A/m) y con tratamiento térmico en marmita y tratamiento térmico en autoclave (A/a), cenizas: en salsa de Xoconostle cocida en autoclave (C/a); el mayor contenido de humedad en salsa cocida en autoclave (C/a) y cocida en marmita (C/m), proteína en A/m y C/a; y el mayor contenido de fibra cruda lo presento C/a.

ABSTRACT:

Was developed Xoconostle sauces Ulapa, variety *Opuntia oligacantha* C. F. Först, from a commercial orchard established in Tezontepec de Aldama, Hidalgo, and ingredients such as dried chili and garlic bell were obtained in plantations established in Zacatecas, Zac., Mexico. The sauces were developed under NMX-F-377-1986. We obtained four treatments with two formulations (roasted and sewn) and two heat treatments (pot: 80 ° C for 20 min and autoclave 121 ° C for 15 min), T1: Xoconostle cooked in autoclave, T2: roasted Xoconostle autoclave , T3: Xoconostle cooked in pot, T4: Xoconostle pot roast. The variables evaluated were: pH, titratable acidity, color, fat, carbohydrate, energy value, ash, moisture, protein and crude fiber. For analysis of results was used SAS statistical software, completely randomized design. We performed the analysis of variance test and Tukey multiple comparisons at $p \leq 0.05$. The highest content of total soluble solids or ° Bx was found in roasted Xoconostle sauce (A / m) and heat treatment pot and heat treatment in an autoclave (A / a), ash Xoconostle sauce

cooked in an autoclave (C / a), the higher moisture content in sauce cooked in an autoclave C / ay cooked in pot (C / m), protein a / m C / a, and the highest crude fiber content I present C / a.