



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

**FACULTAD DE QUÍMICA**

*EFECTO DEL PROCESAMIENTO POR ALTA PRESIÓN  
HIDROSTÁTICA Y TRATAMIENTO TÉRMICO EN PARÁMETROS  
FISICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE JUGO DE BETABEL*

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

**REBECA ANA LUISA RÍOS REYES**



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

**2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Alberto Tecante Coronel

**VOCAL:** Federico Nieto Pineda

**SECRETARIO:** Tania Gómez Sierra

**1er. SUPLENTE:** Elsi Ideli Juárez Arroyo

**2º SUPLENTE:** Roeb García Arrazola

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

LABORATORIO 313, DEPARTAMENTO DE ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA.  
CONJUNTO E, FACULTAD DE QUÍMICA. CIUDAD UNIVERSITARIA.

### **ASESOR DEL TEMA:**

**Dr. Alberto Tecante Coronel**

---

### **SUPERVISOR TÉCNICO:**

**I.A. Mariana Ramírez Gilly**

---

### **SUSTENTANTE:**

**Rebeca Ana Luisa Ríos Reyes**

---

## Índice

<b>Resumen</b> .....	<b>1</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>3</b>
<b>Hipótesis y objetivos</b> .....	<b>5</b>
<b>Capítulo 1. Betabel</b> .....	<b>6</b>
1.1. Generalidades del Betabel.....	6
1.2. Composición.....	7
1.2.1. Ácidos fenólicos y flavonoides.....	7
1.2.2. Betalainas y amidas fenólicas.....	8
1.2.2.1 Factores que rigen la estabilidad de las betalainas.....	9
1.3. Actividad biológica del betabel.....	12
<b>Capítulo 2. Tratamiento Térmico y Tratamiento por Alta Presión Hidrostática</b> .....	<b>14</b>
2.1. Tratamiento térmico.....	14
2.1.1. Antecedentes.....	14
2.1.2. Definición.....	15
2.1.3. Efecto sobre los componentes químicos de los alimentos.....	16
2.2. Tratamiento por Alta Presión Hidrostática.....	18
2.2.1. Antecedentes.....	18
2.2.2. Sistemas de Presurización.....	20
2.2.3. Fundamento.....	21
2.2.4. Efecto de la APH en los componentes químicos de los alimentos.....	21
2.2.4.1. Agua.....	22
2.2.4.2. Proteínas y enzimas.....	22
2.2.4.3. Lípidos.....	23
2.2.4.4. Hidratos de carbono.....	25
2.2.4.5. Vitaminas y compuestos bioactivos.....	25
2.2.5. Efecto de la APH sobre los microorganismos.....	26
2.2.6. Oportunidades del uso de APH en alimentos.....	29

2.2.7. Estudios previos de aplicación de APH en jugos de frutas y vegetales.....	30
<b>Capítulo 3. Materiales y Métodos</b>	<b>32</b>
3.1. Reactivos y materiales.....	32
3.2. Extracción de jugo y envasado.....	33
3.3. Tratamiento y almacenamiento.....	33
3.3.1. Tratamiento con alta presión hidrostática (APH).....	33
3.3.2. Tratamiento térmico.....	34
3.3.3. Almacenamiento.....	34
3.4. Caracterización del jugo.....	34
3.4.1. Análisis microbiológico.....	34
3.4.2. pH.....	35
3.4.3. Acidez total.....	35
3.4.4. Sólidos solubles totales.....	35
3.4.5. Contenido de betalaínas y retención de pigmento.....	35
3.4.6. Polifenoles totales.....	36
3.5. Análisis estadístico.....	37
<b>Capítulo 4. Resultados y Discusión</b>	<b>38</b>
4.1. Microorganismos.....	39
4.2. pH y acidez total.....	42
4.3. Sólidos solubles totales.....	44
4.4. Contenido de betalinas y retención de pigmento.....	46
4.5. Polifenoles totales.....	49
<b>Conclusiones.....</b>	<b>53</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>54</b>
<b>Anexo.....</b>	<b>61</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> <i>Beta vulgaris rubra</i> (SAGARPA, 2017).....	6
<b>Figura 2.</b> Estructura química de betalaínas y flavonoides presentes en <i>Beta vulgaris rubra</i> . A, ácido betalámico°; B, betaxantina*; C, betacianina*; D, vulgaxantina I°; E, betanina°; F, vitexina* (Ninfali y Angelino, 2013*; Marañón-Ruiz et al., 2011°).....	8
<b>Figura 3.</b> Factores que rigen la estabilidad de las betalaínas (Herbach et al., 2006).....	10
<b>Figura 4.</b> Diagrama general de la elaboración, tratamiento y análisis del jugo de betabel.....	32
<b>Figura 5.</b> Curva patrón de ácido gálico.....	37
<b>Figura 6.</b> Variación con el tiempo del pH en jugo de betabel sometido a APH.....	43
<b>Figura 7.</b> Variación con el tiempo del contenido de acidez (%) en jugo de betabel sometido a APH...	43
<b>Figura 8.</b> Variación con el tiempo del pH en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico.....	43
<b>Figura 9.</b> Variación con el tiempo del contenido de acidez (%) en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico .....	44
<b>Figura 10.</b> Variación con el tiempo del contenido de sólidos solubles totales (°Bx) en jugo de betabel sometido a APH.....	45
<b>Figura 11.</b> Variación con el tiempo del contenido de sólidos solubles totales (°Bx) en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico.....	45
<b>Figura 12.</b> Variación con el tiempo del contenido de pigmento (a) betacianina, (b) betaxantina y (c) betalaína en jugo de betabel sometido a APH.....	48
<b>Figura 13.</b> Variación con el tiempo del contenido de pigmento (a) betacianina, (b) betaxantina y (c) betalaína en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico.....	49
<b>Figura 14.</b> Variación con el tiempo del contenido de polifenoles totales en jugo de betabel sometido a APH.....	50
<b>Figura 15.</b> Variación con el tiempo del contenido de polifenoles totales en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico .....	51

## Índice de Cuadros

<b>Cuadro 1.</b> Composición de betabel crudo (USDA, 2017).....	7
<b>Cuadro 2.</b> Presiones requeridas para lograr una reducción de 5 ciclos logarítmicos para un tratamiento de 15 minutos (Hogan et al., 2005).....	28
<b>Cuadro 3.</b> Productos alimenticios comerciales tratados por APH (Hogan et al., 2005).....	29
<b>Cuadro 4.</b> Bebidas y jugos de frutas y/o vegetales tratados por APH.....	31
<b>Cuadro 5.</b> Observaciones sensoriales en el jugo de betabel sin tratamiento.....	38
<b>Cuadro 6.</b> Efecto del tratamiento térmico y APH sobre el recuento total de bacterias mesófilas en jugo de betabel ( $\text{Log}_{10}$ UFC/mL).....	40
<b>Cuadro 7.</b> Efecto del tratamiento térmico y APH en el recuento total de hongos y levaduras en jugo de betabel ( $\text{Log}$ UFC/mL).....	42
<b>Cuadro 8.</b> Contenido promedio de pigmento presente en siete variedades de betabel (Adaptado de Wruss et al. 2015).....	46
<b>Cuadro 9.</b> Efecto del tratamiento térmico y APH en el contenido total de pigmentos en jugo de betabel (mg pigmento/L jugo) al día 0 de almacenamiento.....	47

## Resumen

El principal objetivo de esta investigación fue estudiar el efecto de la alta presión hidrostática (APH) sobre la calidad del jugo de betabel y evaluar el impacto sobre su conservación. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, considerando la Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995, en el jugo para verificar que el tratamiento no térmico de conservación prolonga la estabilidad, alarga la vida de anaquel y lo hace seguro para el consumidor. El jugo de betabel fresco empacado al vacío fue tratado a 400 MPa por 5 y 10 min, y se comparó con un tratamiento térmico a 65 °C por 15 min y un control sin tratamiento. Se evaluó el pH, la acidez total, el contenido de sólidos solubles totales, el contenido de polifenoles totales y de betaxantinas y betacianinas durante un tiempo de almacenamiento de catorce días en refrigeración a 4 °C. El tratamiento por APH redujo la carga microbiana inicial a niveles indetectables ( $< 1 \text{ Log UFC/mL}$ ) garantizando así la inocuidad del jugo. Sin embargo, al final del almacenamiento los jugos tratados con APH y térmicamente no lograron mantener la estabilidad microbiológica expresada como mesófilos aerobios y rebasaron el límite establecido por la norma. El contenido de sólidos solubles totales no cambió significativamente con el tratamiento de APH, pero sí con el tratamiento térmico. El pH, la acidez total, el contenido de polifenoles y de pigmento, mostraron cambios significativos ( $p \leq 0.05$ ) posteriores al tratamiento térmico y por alta presión, así como durante el almacenamiento. El jugo tratado a 400 MPa-10 min presentó una mayor retención de betalaínas totales y un aumento significativo en el contenido de polifenoles totales en comparación con 400 MPa-5 min y el tratamiento térmico.



## **Abstract**

The main goal of this investigation was to study the effect of high hydrostatic pressure (HPP) on the quality of beetroot juice and evaluate its impact on its preservation. Physicochemical and microbiological tests, considering the Official Mexican Standard NOM-130-SSA1-1995, were evaluated in the juice to verify that the non-thermal preservation method extends the stability, shelf life, and makes it safe for the consumer. Fresh beetroot juice vacuum-packed in polyethylene bags was treated at 400 MPa for 5 and 10 min, and compared with heat treated juice at 65 °C for 15 min, and a control, without any treatment. The pH, total acidity, total soluble solids content, total polyphenol and betaxanthines and betacyanins contents were evaluated during a storage period of fourteen days in refrigeration at 4 ° C. The HHP treatment reduced the initial microbial count to undetectable levels ( $< 1 \log \text{CFU/mL}$ ), thus guaranteeing the safety of beetroot juice. However, at the end of storage the HHP and pasteurized juices failed to maintain microbiological stability expressed as aerobic mesophiles and exceeded the limit established by the standard. The total soluble solids content did not change significantly with the pressure treatment while it decreased with heat treatment. The pH, total acidity, polyphenols and pigment contents showed significant changes ( $p \leq 0.05$ ) after heat treatment and high pressure, as well as during storage. The juice treated at 400 MPa-10 min showed a higher percentage of total betalain retention and a significant increase in total polyphenol content compared with 400 MPa-5 min and heat treatment.

## Introducción

Los procesos de conservación de alimentos aplicados hoy en día en el ámbito de la industria alimentaria tienen como objetivo principal evitar el deterioro de la calidad de los alimentos elaborados durante los periodos necesarios de almacenamiento (Bello, 2000). Tradicionalmente, la mayoría de alimentos eran procesados térmicamente sometiendo el alimento a temperaturas entre 60 y 100 °C durante pocos segundos como una forma de garantizar la vida útil prolongada y la seguridad alimentaria. Durante este periodo se transfiere una gran cantidad de energía al alimento la cual puede provocar cambios indeseables que afectan los atributos nutricionales y sensoriales, tales como la degradación severa de vitaminas, de compuestos que imparten color, sabor y textura (San Martín et al., 2002).

Hoy, los consumidores demandan alimentos de alta calidad que sean seguros y nutritivos, mínimamente procesados, libres de aditivos y que conserven su apariencia, sabor y textura. Esto ha dado lugar al uso de nuevas técnicas de conservación de alimentos en la industria alimentaria utilizando métodos no térmicos, los cuales están bajo una intensa investigación para evaluar su potencial como un proceso alternativo o complementario a los métodos tradicionales (Barbosa-Cánovas et al., 1999). La tecnología de alta presión hidrostática (APH) es un método no térmico de conservación cuya aplicación en el área de alimentos ha incrementado en años recientes y ha ganado popularidad en las industrias alimentarias en las dos últimas décadas (Sahu, 2014). Esta tecnología emergente usa presiones muy altas y tiempos cortos que inactivan enzimas y microorganismos causantes del deterioro del alimento (Donna & Feeherry, 2007). Asimismo, se utiliza para mejorar las propiedades reológicas y funcionales de los alimentos. Un aspecto importante es que los nutrimentos y aromas se retienen en el alimento, dando a los alimentos procesados con alta presión un aroma y textura de aspecto fresco (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

Las bebidas de frutas y vegetales son refrescantes, apetitosas, fáciles de digerir y nutritivas, ya que son fuentes ricas en vitaminas, fibra y sales minerales para el consumo humano y constituyen una parte importante de una dieta correcta. Algunos jugos obtenidos de frutas y hortalizas son muy perecederos. Tal es el caso del jugo de betabel, el cual, al ser sometido a un tratamiento térmico algunos nutrimentos presentes en este producto son afectados, como la destrucción de vitaminas y la pérdida de los pigmentos que le dan el color característico. Con

el fin de disminuir estos efectos no deseados y prolongar la vida de anaquel, se buscan alternativas que no afecten las cualidades sensoriales y mantengan el contenido nutrimental del jugo fresco. Distintos autores (Bayindirli et al., 2006; Houška et al., 2006; Dong et al., 2013; Zhao et al., 2014; Chen et al., 2015) proponen el uso de las altas presiones como una alternativa al procesamiento térmico para jugo de manzana, naranja, albaricoque y cereza agria, brócoli, granada, pepino y espárragos, respectivamente, cumpliendo con los requerimientos de seguridad y calidad.

El jugo de betabel es una buena fuente de muchos compuestos antioxidantes (biológicamente activos) que contribuyen positivamente a la salud, principalmente en la prevención de enfermedades cardiovasculares. La alta capacidad antioxidante del jugo de betabel, junto con su valor nutricional, hacen que éste sea un complemento ideal y positivo para la dieta (Wootton-Beard et al., 2011). Dadas las características potenciales que se pueden encontrar en el jugo de betabel, se ha centrado como objetivo primordial de este estudio.

El propósito principal de esta investigación fue evaluar los efectos del tratamiento térmico y por alta presión hidrostática sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas del jugo de betabel. A partir de determinadas pruebas y el análisis de los datos obtenidos, se buscó el tiempo de exposición que permita una mejor conservación del jugo en relación con el jugo no sometido a APH. Se planteó encontrar dentro de las condiciones que permitan que el jugo tratado por APH conserve en la mayor medida posible las características del jugo fresco.

Esta tesis se divide en cuatro capítulos. En el primero se presentan las generalidades del betabel y su composición. En el segundo se presenta información breve sobre los métodos térmicos y no térmicos de conservación, específicamente pasteurización y alta presión hidrostática. En el tercer capítulo se detallan las técnicas experimentales empleadas para la realización de esta investigación y en el último se muestran los resultados obtenidos con su respectivo análisis y las conclusiones obtenidas de este proyecto.

## **Objetivos**

### **General**

- ❖ Evaluar el efecto de la Alta Presión Hidrostática aplicada a jugo de betabel para determinar la contribución de este tratamiento a la conservación del jugo.

### **Particulares**

- ❖ Estudiar el efecto de la Alta Presión Hidrostática sobre parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de jugo de betabel y comparar con un tratamiento térmico para evaluar ambos métodos.
- ❖ Conocer el impacto de la Alta Presión Hidrostática sobre la conservación de jugo de betabel para disponer de un método alternativo al tratamiento térmico.
- ❖ Evaluar ciertos niveles de presión y tiempos de exposición sobre la conservación de jugo de betabel, para determinar las condiciones de tratamiento que permitan una mejor conservación del jugo en relación con el jugo no sometido a APH.

## **Hipótesis**

El tratamiento de jugo de betabel por Alta Presión Hidrostática disminuirá su carga microbiana, aumentará su vida de anaquel y mantendrá sus características físicas y su contenido nutrimental como si fuese jugo fresco.

# Capítulo 1. Betabel

## 1.1. Generalidades del Betabel

El betabel (*Beta vulgaris rubra*) es considerado una hortaliza de raíz (Figura 1). Se trata de un tallo engrosado bulboso perteneciente a la familia de las *Chenopodiaceae* y se cultiva principalmente por sus raíces, aunque sus hojas también son ampliamente manipuladas. Se ha utilizado como alimento desde hace 1000 a.C. por las poblaciones de la cuenca del Mediterráneo. Los Romanos se alimentaban de las hojas mientras que las raíces eran usadas para aplicaciones medicinales. En el siglo XIX, se volvió comercialmente importante en Europa; siendo Italia uno de los principales países productores a nivel mundial (Ninfali & Angelino, 2013).

El betabel es un tallo comestible que constituye el órgano de almacenamiento de la planta, principalmente de azúcares y almidones. El sistema de raíces es muy profundo y ramificado. Las hojas son de color verde intenso y los peciolo, es decir, los tallos de las hojas, son de color rojo o púrpura. Esta hortaliza se distribuye en regiones de clima templado o subtropical, la temperatura ideal para su desarrollo está entre 16 y 21 °C. Se desarrolla mejor en suelo arenoso ya que en los arcillosos se deforman los bulbos. El ciclo de crecimiento va de 160 a 200 días, se cosechan cuando el bulbo alcanza un diámetro de ocho a diez centímetros.

En México, la producción agrícola (2016) de esta hortaliza fue de 18 190.84 ton, siendo los principales estados productores: Puebla, Jalisco, Estado de México, Sonora, Michoacán y Baja California (SAGARPA, 2017).



Figura 1. *Beta vulgaris rubra* (SAGARPA, 2014).

## 1.2 Composición

El betabel es una fuente de muchos compuestos que ayudan a promover la salud como vitaminas, minerales, azúcares, fibras dietarias y pigmentos naturales que poseen actividades biológicas, incluyendo propiedades antioxidantes, antiradicales y anticancerígenas. Las semillas, hojas y raíces son ricas en compuestos polifenólicos cuya concentración depende del estado de desarrollo de la planta. Estos compuestos presentan diferentes tipos de moléculas que incluyen ácidos fenólicos, flavonoides y amidas fenólicas incluyendo a las betalaínas. El betabel es rico en hidratos de carbono, fibra y minerales, tales como sodio, potasio, calcio y hierro. En el Cuadro 1 se muestra la composición química reportada por la USDA (2017). Las hojas son una buena fuente de vitaminas A, E, B3, B5, B9 y minerales como el hierro, potasio, calcio, fósforo y magnesio (Ninfali & Angelino, 2013).

*Cuadro 1. Composición de betabel crudo (USDA, 2017).*

Por cada 100 g de betabel					
		Minerales		Vitaminas	
Energía	43 kcal	Potasio	325 mg	Vitamina C	4.9 mg
Agua	87.58 g	Sodio	78 mg	Niacina	0.334 mg
Hidratos de carbono	9.56 g	Fósforo	40 mg	Piridoxina	0.067 mg
Fibra dietaria	2.8 g	Magnesio	23 mg	Riboflavina	0.040 mg
Azúcares totales	6.76 g	Calcio	16 mg	Vitamina E	0.040 mg
Proteína	1.61 g	Hierro	0.80 mg	Tiamina	0.031 mg
Lípidos totales	0.17 g	Zinc	0.35 g	Ácido fólico	109 µg

### 1.2.1. Ácidos fenólicos y flavonoides

Ninfali y Angelino (2013) reportan que los principales ácidos fenólicos que se encuentran en esta hortaliza son el ácido siríngico (44.9 mg/100 g alimento fresco) y el ácido cafeico (14.8 mg/100 g alimento fresco). No obstante, Koubaier et al. (2014) mencionan la presencia de otros ácidos fenólicos como el gálico, ferúlico, vanílico, y elágico, en concentraciones menores. Asimismo, es una fuente potencial de glucósidos flavonoides derivados de la apigenina como la vitexina (Figura 2-F) y flavonoides más simples como betagarina, betavulgarina, cocliofilin y dihidroisoramnetina.

## 1.2.2 Betaláinas y amidas fenólicas

Asimismo, contiene una cantidad importante de betaláinas, un grupo de pigmentos nitrogenados hidrosolubles derivados del ácido betalámico (Figura 2-A), cromóforo común a todos los pigmentos betaláinicos.

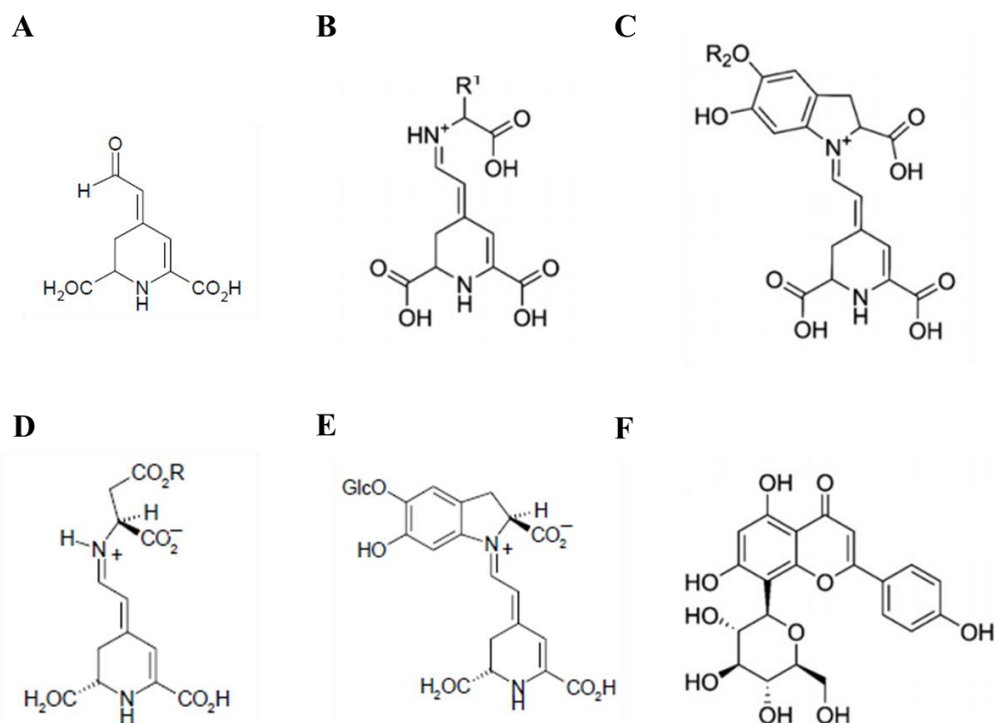


Figura 2. Estructura química de betaláinas y flavonoides presentes en *Beta vulgaris rubra*.

A, ácido betalámico°; B, betaxantina\*; C, betacianina\*; D, vulgaxantina I°; E, betanina°; F, vitexina\* (Ninfali & Angelino, 2013\*; Marañón-Ruiz et al., 2011°).

Dentro de la familia de las betaláinas, hay dos clases de compuestos: las betaxantinas (Figura 2-B), del latín beta = remolacha y del griego xanthos = amarillo. Son productos de condensación del ácido betalámico y aminoácidos o aminas, respectivamente. Dependiendo de la estructura particular del compuesto amino, la máxima absorción de las betaxantinas varía entre 460 y 480 nm. Las betaxantinas más comunes y frecuentemente abordadas son la glutamina-betaxantina (vulgaxantina I), la principal betaxantina en el betabel, y la indicaxantina (prolina-betaxantina), el pigmento predominante en las tunas amarillas (*Opuntia ssp.*). Los productos de condensación del ácido betalámico y de la ciclo-Dopa [ciclo-3-(3,4-dihidroxifenilalanina)] son comúnmente

referidos como betacianinas (del griego *kyaneos* = azul) debido a su color rojo-violáceo (Figura 2-C). Su fuerte desplazamiento batocrómico de 50 a 70 nm comparado con las betaxantinas es debido a la estructura aromática de la ciclo-Dopa. Por glucosilación con uno o dos monosacáridos así como una posterior acilación de los compuestos 5-O- o 6-O-glucósidos, una gran variedad de betacianinas es posible. Sin embargo, la investigación de las betacianinas se ha centrado principalmente en la betanina (betanidin 5-O- $\beta$ -glucósido), la betalaína más abundante en el betabel (Herbach et al., 2006).

Además de las betalaínas, se han identificado dos amidas fenólicas adicionales (N-trans-feruloiltiramina y N-trans-feruloilhomovanililamina). El descubrimiento de estos últimos compuestos ha estimulado esfuerzos para sintetizar químicamente estas moléculas y ser usadas como agentes antioxidantes y antitumorales, debido a su excepcional captación de radicales y capacidad fotoprotectora (Ninfali & Angelino, 2013).

#### **1.2.2.1 Factores que rigen la estabilidad de las betalaínas**

La estabilidad de las betalaínas es afectada por numerosos factores externos resumidos en la Figura 3. Con el fin de garantizar el contenido óptimo de betalaínas y la retención de color en alimentos, las condiciones particulares de tiempo-temperatura durante la fabricación de alimentos deben ser cuidadosamente controladas. Conjuntamente los factores externos durante el almacenamiento deben ser considerados, como la temperatura y la exposición a luz y oxígeno. Además de la concentración de pigmento y de las estructuras particulares de las betalaínas, los valores de pH y  $a_w$  pueden impactar considerablemente en la estabilidad.

La condensación del ácido betalámico con compuestos amino (betaxantinas) o ciclo-Dopa (betacianinas) resulta en diferente estabilidad de las estructuras de los pigmentos. Varios estudios reportan una estabilidad superior de las betacianinas en comparación con las betaxantinas a temperatura ambiente así como durante calentamiento. Por ejemplo, el valor de la vida media de la betanina tratada térmicamente fue once veces más alto en comparación con el de la vulgaxantina I. Adicionalmente, este pigmento es más propenso a la oxidación y es menos estable que la betanina a pH ácidos. El pH óptimo para la estabilidad de la betanina está reportado en un intervalo de pH entre 4 y 6. En condiciones de alta temperatura, el pH óptimo se desplaza hacia 6. En presencia de oxígeno, la betanina es más estable a pH 5.5 a 5.8, mientras



que en condiciones anaeróbicas pH menores como 4 a 5 son más favorables. Por otro lado, las betaxantinas presentan estabilidad en un intervalo de pH de 4 a 7, la vulgaxantina exhibe mayor estabilidad que la betanina a pH 7.

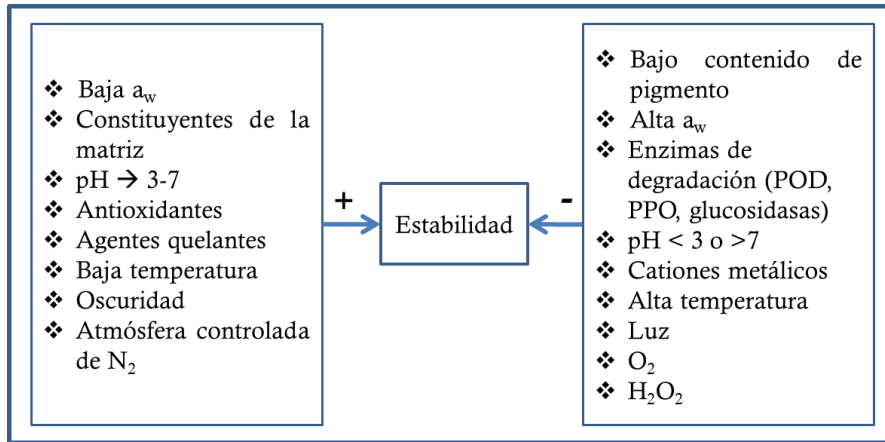


Figura 3. Factores que rigen la estabilidad de las betalainas (Herbach et al., 2006).

Debido a la dependencia de las reacciones hidrolíticas con el agua, la actividad de agua,  $a_w$ , es otro factor crucial. Se ha obtenido mejor estabilidad de la betanina con una actividad de agua inferior a 0.63. Existe una estabilidad superior de betaxantinas y betacianinas en sus matrices naturales en comparación con disoluciones purificadas. Los constituyentes de las plantas como azúcares, ácidos y sustancias pécticas, disminuyen  $a_w$ , estabilizando de esta manera los pigmentos betalainicos. Además de las condiciones predominantes en el jugo o en disoluciones del respectivo pigmento, también las condiciones ambientales pueden afectar la estabilidad o degradación de las betalainas. Las betaninas son inestables en presencia de oxígeno, la estabilidad decrece linealmente con el incremento de la concentración de oxígeno. Del mismo modo que el oxígeno, el peróxido de hidrógeno acelera la degradación de la betanina. La iluminación también ha sido un factor importante en la estabilidad de estos pigmentos. La susceptibilidad de las betalainas a la luz se ha explicado por la absorción de la luz en el intervalo del ultravioleta y de la luz visible que conduce a la excitación de los electrones del cromóforo de la betalaina a un estado de mayor energía, causado mayor reactividad o una disminución en la energía de activación de la molécula. Por otra parte, se han observado efectos aditivos del oxígeno y la luz. Mientras que la luz y el oxígeno causan la degradación de la betanina en 15.6

y 14.6 %, respectivamente, la presencia simultánea involucra una descomposición de 28.6 %. En contraste, en condiciones anaeróbicas son despreciables estos efectos perjudiciales.

La temperatura puede considerarse el factor más crucial que influye en la estabilidad de estos pigmentos durante el procesamiento y el almacenamiento de los alimentos. Las betalaínas son comúnmente conocidas por ser pigmentos termolábiles, es decir, que a altas temperaturas pierden su estabilidad. Su tasa de degradación se acelera con el aumento de temperatura y periodo de calentamiento. Adicionalmente, se observó que la estabilidad de la betalaína declina entre 60 y 80 °C. Desde que la conservación de los alimentos incluye usualmente un tratamiento térmico para mantener una seguridad dada, numerosos estudios se han realizado para obtener información de la degradación térmica de las betalaínas en jugos de betabel y de tuna. Se ha observado que la degradación de la betacianinas en estos jugos sigue una cinética de primer orden (Herbach et al., 2006).

Conjuntamente, fueron identificados diversos compuestos capaces de facilitar o acelerar la degradación de estos pigmentos característicos. Altas concentraciones de ácido ascórbico tienen un efecto pro-oxidativo, además de la presencia de cationes metálicos,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Sn}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$  y  $\text{Cu}^{2+}$ , los cuales forman complejos metal-pigmento acompañados de un efecto batocrómico e hipocrómico. Sin embargo, se encontró que la concentración del ión metálico capaz de desencadenar la degradación de las betalaínas depende respectivamente de la matriz. Mientras que en el jugo fue necesario una concentración de iones metálicos al triple en relación con la betanina para inducir la degradación de la misma, en una disolución purificada del pigmento una concentración de iones significativamente menor fue suficiente (Herbach et al., 2006).

La considerable descomposición de las betalaínas también resulta por la presencia de enzimas degradantes de este sustrato. Principalmente se identificaron peroxidasas en la membrana y pared celular del betabel. Sin embargo, las betacianinas son más propensas a la degradación por las peroxidasas que las betaxantinas. Asimismo, se han aislado polifenoloxidasas del betabel, las cuales son estables a pH entre 5 y 8, con un máximo a pH 7. Por otra parte, la peroxidasa del betabel puede ser inactivada a temperaturas superiores a 70 °C, mientras que la polifenoloxidasa exhibe una estabilidad térmica superior, perdiendo su actividad por encima de 80 °C (Herbach et al., 2006).

### 1.3. Actividad biológica del betabel

En años recientes ha crecido el interés en la actividad biológica del betabel y su potencial utilidad como un alimento funcional promotor de la salud y prevención de enfermedades (Clifford et al., 2015). Este bulbo ha sido utilizado extensamente debido a sus efectos, principalmente en la estimulación del sistema hematopoyético e inmune, así como en la protección del riñón, hígado e intestino de compuestos tóxicos. Por otra parte, presenta actividad antiséptica y contribuye al reforzamiento de la mucosa gástrica. También ha sido considerado como un tratamiento terapéutico prometedor en una gama de patologías clínicas asociadas con el estrés oxidante y la inflamación. El jugo extraído de las raíces y hojas ha sido considerado efectivo en la terapia de tumores del sistema digestivo, así como de pulmón, hígado, mama, próstata y útero. El primer mecanismo antitumoral era una interrupción en el intercambio de metabolitos entre las células tumorales y los tejidos circundantes, de tal manera que se obstaculice la capacidad de infiltración de las células tumorales (Ninfali & Angelino, 2013).

Debido a que el betabel es una fuente de nitratos, su ingesta proporciona un medio natural para incrementar la disponibilidad del óxido nítrico *in vivo* y ha surgido como una estrategia potencial para prevenir y manejar patologías asociadas con la disminución de la biodisponibilidad del óxido nítrico, en particular la disfunción endotelial y la hipertensión (Clifford et al., 2015). Estos nitratos presentan una toxicidad relativamente baja y prácticamente son convertidos en nitritos en la saliva y en la parte superior del tracto intestinal. Los nitritos son una forma más tóxica ya que reaccionan con amidas y aminos para formar compuestos N-nitrosos en condiciones específicas y que son bien conocidos como activadores de cáncer gástrico y de vejiga. Sin embargo, un rol positivo en la reducción de los nitratos, es la conversión de nitritos en óxido nítrico (NO) a través de numerosas rutas que involucran desoxihemoglobina, mioglobina, ascorbato y polifenoles. En la condición fisiológica o patológica de la hipoxia, el NO proporciona varios efectos, entre ellos la vasodilatación, modulación de la respiración celular, respuesta al estrés isquémico, disminución de la presión sanguínea, vaso-protección y propiedades de agregación antiplaquetaria. Ninfali y Angelino (2013) aseguran que el jugo de betabel tiene un efecto potencial en la reducción de la presión sanguínea y por lo tanto se utilizó en la mejora del rendimiento deportivo. Hay una creciente evidencia de que el estrés oxidante

conduce a cambios bioquímicos, que contribuyen al desarrollo de severas enfermedades degenerativas, como el cáncer y las cardiopatías. Las moléculas antioxidantes, que se derivan de la dieta, protegen contra los efectos perjudiciales del estrés oxidante (Azeredo, 2009).

En la farmacología moderna, las betalaínas han sido las moléculas más estudiadas debido a que se han vinculado a la protección contra el estrés oxidante, inflamación y tumores. Koubaier y colaboradores (2014) documentan que en estudios previos se ha reportado a las betacianinas y las betaxantinas como pigmentos que muestran una gran actividad antirradical a diferentes pH y debido a su estructura química es probable estabilizar radicales por la presencia de compuestos amino aromáticos. Asimismo, Ninfali y Angelino (2013) argumentan que la estabilidad de las betalaínas en el jugo de betabel es crucial para la exhibición del efecto antitumoral. Diversos trabajos han enseñado la actividad potente de las betalaínas *in vitro* como captadoras de radicales. Ninfali y Angelino (2013) recaudaron toda esta información y describen la capacidad de las betalaínas para proteger a las células endoteliales del proceso de oxidación relacionado con la respuesta inflamatoria. Asimismo, se ha mostrado que *in vivo*, al incorporar betalaínas en glóbulos rojos humanos, hay una consiguiente protección de las células a la hemólisis oxidante.

Tesoriere et al. (2003) han estudiado primeramente a las betalaínas y sugieren que estos compuestos juegan un rol relevante como antioxidantes en sistemas biológicos. La naturaleza catiónica de las betalaínas puede favorecer la interacción de estas moléculas hidrosolubles con fracciones polares de membranas celulares y lípidos de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y proveer una protección antioxidante muy efectiva para inhibir la peroxidación lipídica en sangre. El pigmento rojo, betanina, ha demostrado proveer una fuerte actividad antiinflamatoria, debido a que inhibe la actividad de la enzima ciclooxigenasa (COX), la cual cataliza la conversión del ácido araquidónico en mediadores químicos de la inflamación. La capacidad de las betalaínas para proteger tanto a las células endoteliales como al LDL de la oxidación debida a la respuesta inflamatoria, hacen de estas moléculas funcionalmente importantes para reducir el riesgo de formación de placa aterosclerótica (Ninfali y Angelino, 2013).

## **Capítulo 2. Tratamiento térmico y tratamiento por Alta Presión Hidrostática**

### **2.1 Tratamiento térmico**

#### **2.1.1. Antecedentes**

El empleo de calor para la conservación de alimentos se considera una técnica muy antigua, que alcanza aplicaciones muy extensas. Las técnicas de cocción, asado, fritura, hervido, entre otras, son diversas formas encontradas por el ser humano a lo largo de la historia para mejorar, no sólo las propiedades sensoriales de los alimentos, sino también su conservación, pues con ellas se llega a destruir microorganismos e inactivar enzimas. No obstante, en muchos casos no se alcanza la esterilidad del producto y es necesario protegerlos de una revitalización superior. Aparte de estos métodos, la industria alimentaria ha desarrollado diversos sistemas de conservación que están basados en la aplicación de temperaturas más o menos elevadas. El nivel de temperatura alcanzado y la intensidad del calor proporcionado son los factores que delimitan el campo de sus aplicaciones, en función de la eficacia que se consigue con unos u otros métodos.

Hace más de dos siglos que el biólogo Lazzaro Spallanzani descubrió cómo los productos cárnicos cocidos y sin manipulaciones externas que fueran perjudiciales, se podían conservar durante periodos de tiempo bastante considerables. Más tarde fue el francés Nicolás Appert quien mejoraba la estabilidad de diversos alimentos perecederos, cuando los calentaba en frascos cerrados introduciéndolos en recipientes con agua hirviendo. La eficacia de estos métodos se pudo interpretar correctamente desde un punto de vista científico, una vez que Pasteur puso de manifiesto la acción deletérea de los microorganismos sobre los productos alimenticios. En consecuencia se desarrollaron diversos métodos que se diferenciaban en la forma e intensidad con que se aplicaba el tratamiento térmico. Cada uno de ellos se caracteriza por una determinada capacidad de destrucción de los microorganismos presentes, así como por diversas acciones sobre los componentes químicos de los alimentos, como enzimas y vitaminas, que según los casos pueden ser acciones deseables o bien deletéreas. Entre los efectos positivos cabe señalar la inactivación de sistemas enzimáticos, el ablandamiento de tejidos y la mejora de

la digestibilidad. Sin embargo, entre los no deseables se pueden citar la destrucción de algunos nutrientes y la modificación de las cualidades sensoriales.

Cualquier tratamiento térmico que resulta suficiente para destruir microorganismos a la vez que inactiva enzimas, también puede afectar de modo adverso a las propiedades que caracterizan a los alimentos. De ahí la importancia de conocer todos los factores que inciden en el proceso térmico para elegir aquellas condiciones de tratamiento térmico capaces de provocar la destrucción de patógenos y toxinas y proporcionar una vida útil que alcance la duración programada. Por consiguiente, adquiere un gran interés la optimización de cada uno de los procesos (Bello, 2000).

### **2.1.2. Definición**

Como proceso térmico se entiende la combinación de tiempo-temperatura aplicada para reducir la población microbiana de un alimento y lograr una estabilidad biológica. El objetivo de la aplicación del tratamiento térmico es liberar al alimento de los microorganismos que puedan causar daño a la salud de los consumidores o causar deterioro en el alimento (A.A.P.P.A., 2004). La aplicación de calor en la conservación de alimentos ha dado lugar al desarrollo de varias metodologías que se distinguen tanto por sus planteamientos tecnológicos como por sus fines. En general, son llevadas a cabo a diferentes temperaturas y, a veces también, a distintos tiempos. Igualmente, la finalidad varía entre reducir la carga microbiana del alimento, destruir la mayoría de ellos y de modo particular los patógenos o bien llegar a la asepsia total (Bello, 2000). Las formas vegetativas de las células bacterianas se destruyen a temperaturas ligeramente superiores que la temperatura máxima con la cual pueden multiplicarse. Sin embargo, en general las esporas sobreviven a temperaturas mucho más altas. Por ejemplo, las esporas de *Clostridium botulinum* pueden sobrevivir 300 min a 100 °C. Desde el enfoque microbiológico, la muerte de los microorganismos sucede cuando éstos han perdido su capacidad de reproducción (A.A.P.P.A., 2004). Tales métodos empleados en la actualidad por la industria alimentaria, ordenados por la intensidad de tratamiento térmico que aplican, son escaldado, pasteurización y esterilización comercial.

Los tipos de tratamiento térmico que se aplican en la industria son:

- Escaldado

En sí mismo no representa un método que se aplica para la conservación de alimentos que se van a almacenar, sino más bien contribuye un tratamiento previo de los productos de origen vegetal, orientado a su estabilización con respecto a sus actividades enzimáticas. Se suele aplicar a frutas y verduras, antes de que reciban cualquier otro método de conservación como congelado, enlatado o esterilización comercial, deshidratación, entre otros. Es un tratamiento térmico de corta duración a una temperatura moderada que se lleva a la práctica mediante el empleo de vapor o con agua caliente (Bello, 2000).

- Pasteurización

Hace referencia a tratamientos térmicos de baja intensidad, es decir, implica una aplicación de calor poco drástica a temperaturas que se sitúan siempre por debajo del punto de ebullición del agua. Por consiguiente, se trata de un método de conservación que sólo conduce a una destrucción selectiva de la población microbiana patógena que está presente en el alimento. La elección de la temperatura a aplicar y el tiempo necesario para un tratamiento eficaz están condicionados por la garantía de no provocar cambios en la composición química del alimento (Bello, 2000).

- Esterilización comercial

Tratamiento térmico que se aplica a los alimentos con la finalidad de destruir todos los microorganismos presentes que puedan representar un peligro para la salud o deteriorar el alimento bajo condiciones normales de manejo (A.A.P.P.A., 2004).

### **2.1.3. Efecto sobre los componentes químicos de los alimentos**

Los tratamientos térmicos intensos, sobre todo en cuanto a tiempo de exposición más que a lo elevado de la temperatura, pueden afectar a los diversos componentes de los alimentos. La intensidad del tratamiento térmico aplicado, así como las condiciones bajo las que se realiza, son factores determinantes de posibles cambios, que pueden ser agrupados en dos tipos de modificaciones:

- Cambios de naturaleza física, suelen ser externos y visibles porque atañen a apariencia, textura, sabor y olor del producto alimenticio, con una clara repercusión visual, olfativa y gustativa.
- Cambios de naturaleza química, que por lo general no da lugar a manifestaciones externas, aunque no por ello pueden resultar menos importantes.

Cuando un alimento se somete a un tratamiento térmico suelen ser las modificaciones vinculadas a su aspecto externo lo que capta la atención de los consumidores. Las variaciones en la apariencia pueden ser motivadas por alteraciones en el volumen, en la coloración, consistencia, sabor y olor. Al aplicar calor a un alimento pueden ocurrir cambios en las estructuras que integran su composición, con reacciones que varían de acuerdo con la naturaleza química de la sustancia afectada. Tales cambios adquieren más relevancia cuando las sustancias afectadas son responsables de la calidad nutritiva o sensorial del producto alimenticio.

El agua es el componente mayoritario de los alimentos y se puede encontrar tanto en su forma molecular libre, como ligada a otros componentes a través de enlaces de hidrógeno. La cantidad existente como agua libre se favorece con el tratamiento térmico, tanto más cuanto mayor sea la temperatura aplicada, de esta manera se incrementa la movilidad molecular y se favorece la exudación que conduce a una desecación del alimento. De este modo, un producto alimenticio calentado sólo conservará su jugosidad inicial cuando la metodología empleada permita limitar las pérdidas de moléculas de agua. Asimismo, el calor también introducirá alteraciones en el comportamiento del agua como disolvente de otras sustancias presentes en el alimento.

Los lípidos responden con el fenómeno de fusión a los aumentos de temperatura en el alimento donde se encuentren. Las características de esta fusión pueden variar de acuerdo con las propiedades fisicoquímicas y estructurales del compuesto. Además, el calor favorece los procesos de oxidación cuando interviene el oxígeno del aire y están presentes ácidos grasos insaturados.

Los hidratos de carbono responden a la acción del calor según se trate de polisacáridos o azúcares simples. En relación con los polisacáridos, muchos alimentos de origen vegetal contienen almidón, que ofrece un comportamiento peculiar frente al tratamiento térmico. A



partir de 50 °C, el calor lo va convirtiendo en un engrudo, de tal modo que se hincha con el agua fijada por su estructura química. En consecuencia se produce un incremento de la viscosidad del medio y un espesamiento o gelatinización. En cuanto a los azúcares reductores, hay que tener en cuenta que pueden tomar parte de la reacción de Maillard cuando se encuentran bajo la acción del calor. Además, los tratamientos térmicos que superen 150 °C pueden dar lugar al fenómeno de caramelización. En ambos casos, se producen coloraciones pardas en el alimento que contiene azúcares reductores.

Las proteínas se desnaturalizan, en general, por la acción del calor a partir de 50 °C y cuando son enzimas pueden perder su actividad, aunque no siempre ocurre, como es el caso de algunas lipasas. El fenómeno de desnaturalización suele dar origen a otros efectos con sus correspondientes repercusiones negativas para el alimento, como pérdida de su capacidad para fijar agua por arriba de 68 °C, cambios en el color, modificaciones estructurales, coagulación a temperatura variable en función del alimento en el que toman parte, además de otros.

Finalmente, las vitaminas responden de diferente manera a la acción del calor. Ácido ascórbico, tiamina y ácido pantoténico son las vitaminas que ofrecen una mayor labilidad frente a la acción del calor sobre los alimentos de origen vegetal. Lo mismo ocurre con algunas vitaminas liposolubles, particularmente la vitamina A. En la industria alimentaria se ha elegido la valoración de algunas de estas vitaminas para controlar el nivel de los efectos negativos de los tratamientos térmicos, además para conocer el porcentaje de destrucción que afecta a las vitaminas hidrosolubles y liposolubles (Bello, 2000).

## **2.2. Tratamiento por Alta Presión Hidrostática**

### **2.2.1. Antecedentes**

El procesamiento por alta presión como tecnología de conservación de alimentos del siglo XXI ha evolucionado en realidad durante siglos, en gran parte por muchos años de investigación militar destinada a mejorar la eficiencia de armas y cañones. En 1995, Crossland describió el desarrollo de estas armas y cómo podían resistir las altas presiones generadas por la descarga de pólvora. El resultado de este trabajo, dedicado a la mejora de armamentos, condujo al crecimiento de la disponibilidad de equipos de alta presión que se podían adaptar a una amplia

variedad de usos, por ejemplo, la manufactura industrial de cerámica y diamantes (Donna & Feeherry, 2007). La generación de presión con fines industriales se podía decir que iba ligada casi exclusivamente a la industria militar hasta que a principios de siglo XIX, en 1820, Perkins realizó los primeros estudios sobre la compresibilidad del agua (Téllez et al., 2001).

Bert Hite de la Estación Experimental de Agricultura de la Universidad de Virginia del Este publicó en 1899 el primer reporte detallado del uso de alta presión como un método de conservación de alimentos. Hite diseñó y construyó una unidad de alta presión para pasteurizar leche y otros alimentos. Reportó que después de procesar leche a 450 MPa, esta se conservó durante más tiempo, demostrando una reducción de la población microbiana (Hogan et al., 2005). Posteriormente, en 1914, Hite con otros colaboradores reportó que la presión podía ser usada para extender la vida de anaquel de frutas debido a que las levaduras y otros microorganismos que tienen que ver con la descomposición son muy susceptibles a la presión, mientras que otros microorganismos no tan susceptibles no siempre sobreviven al medio ácido. Más tarde, en 1924, Cruess también propuso que la alta presión se podía usar exitosamente para preservar jugos de frutas, donde el pH bajo inhibió el crecimiento de formadores de esporas. Otros científicos estudiaron los efectos de las altas presiones en las propiedades físicas de los alimentos. En 1914, Bridgman estudió el efecto de la alta presión sobre la clara de huevo y observó su coagulación pero de diferente manera a los efectos producidos por el calor, demostrando que la desnaturalización proteínica de la clara se alcanza de manera irreversible a partir de 300 MPa. Mucho después, en 1973, McFarland observó que bajo ciertas condiciones, la alta presión provoca cambios en la carne como el ablandamiento (Donna & Feeherry, 2007).

Sin embargo, no fue hasta la década de los ochenta cuando realmente se comenzó a investigar de forma exhaustiva la relación entre las altas presiones hidrostáticas y los alimentos. Las investigaciones sobre matrices alimentarias comenzaron en la Universidad de Delaware, Estados Unidos, en 1982. Asimismo, se iniciaron líneas de investigación similares en la Universidad de Kyoto, Japón (1986), lo que trajo como resultado el lanzamiento al mercado de los primeros alimentos presurizados, como mermeladas de fresa, frambuesa y manzana en 1990, siendo el país pionero en la producción y comercialización de alimentos presurizados (Téllez et al., 2001). Hoy en día, se distribuyen muchos productos tratados con esta tecnología en Asia, Estados Unidos, Canadá, Europa y Oceanía en menor medida.

### 2.2.2. Sistemas de presurización

Un sistema de alta presión moderno y característico consiste en una cámara de presión y un dispositivo generador de presión. Los alimentos son sellados en su envase y colocados en la cámara, posteriormente esta se cierra. El medio de transferencia de presión, usualmente agua, se bombea dentro de la cámara desde el fondo. Una vez que la presión deseada se alcanza, el bombeo se detiene, se cierran las válvulas y la presión se puede mantener sin necesidad de más aporte de energía. Un principio fundamental de la APH es que la presión se aplica de manera isostática, tal que todas las regiones del alimento experimentan la presión uniformemente, a diferencia del tratamiento térmico, donde se establecen los gradientes de temperatura. Como proceso isostático, la presión se transmite rápida y uniformemente a lo largo del medio de presión y el alimento. Además, el tamaño del producto o su forma externa no afectan el procesamiento por alta presión (Huang et al., 2013). El trabajo de compresión durante el tratamiento de APH también incrementa la temperatura de los alimentos mediante un proceso conocido como calentamiento adiabático y la extensión del aumento de temperatura varía con la composición del alimento; normalmente 3-9 °C/100 MPa. Al final del tiempo de procesado se descomprime la cámara para sacar la carga tratada. Se coloca una nueva carga de alimento en la cámara de presión y se inicia de nuevo el ciclo. La APH es tradicionalmente un proceso por lotes y las cámaras de presión utilizadas para la producción comercial de alimentos tienen capacidades de 35-350 litros (Donna & Feeherry, 2007).

Téllez y colaboradores (2001) señalan que existen tres procesos básicos donde se usan altas presiones en combinación o no con tratamientos térmicos. En la industria se empleará uno u otro en función de la aplicación que se requiera. En los sistemas de presión isostática en frío, los materiales se colocan en un molde elastómero y se someten a APH. Las presiones aplicadas están en el intervalo de 50 y 600 MPa y se opera a temperatura ambiente con un tiempo de tratamiento entre 1 y 30 min. Los otros dos sistemas se diferencian básicamente por el intervalo de temperaturas aplicadas. Los sistemas de presión isostática templada emplean temperaturas entre 30 y 200 °C, mientras que los de presión isostática caliente utilizan temperaturas de 2000 °C y el medio presurizante es un gas, como argón, nitrógeno, helio o aire. El tiempo típico de ciclo varía entre 6 y 12 horas (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

### **2.2.3. Fundamento**

La utilización de altas presiones se rige por dos principios fundamentales, la Ley de Pascal: *Una presión externa aplicada a un fluido confinado en un recipiente, se transmite de forma uniforme e instantánea a través de todo el material*, es decir, la presión es aplicada isoestáticamente lo que permite que los alimentos conserven su forma original. Además, el principio de Le Chatelier: *Si se cambian los factores externos en los cuales se estableció el equilibrio, éste se desplazará de forma que neutralizará el efecto del cambio*, es decir, cualquier fenómeno que sea acompañado por una disminución de volumen será favorecido por la presión. Esto significa que la APH favorece las reacciones que implican una disminución de volumen y retarda aquellas en las que el volumen aumenta (Hogan et al., 2005). El uso de la alta presión reduce la disponibilidad del espacio molecular favoreciendo las interacciones de cadena y finalmente la inducción de cambio de volumen negativo. Los enlaces covalentes en los alimentos son usualmente menos afectados durante el procesamiento por alta presión, debido a que la energía de compresión involucrada es baja. La presión altera distancias interatómicas, actuando principalmente en las interacciones débiles en la que la energía de enlace depende de la distancia como las fuerzas de van der Waals, fuerzas electrostáticas, enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Sin embargo, estos efectos sobre los enlaces de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas son complicados dependiendo de las propiedades estructurales de los compuestos considerados (Medina-Meza et al., 2014). La ruptura de iones también se ha favorecido por la alta presión ya que conduce a una disminución de volumen debido a la electrostricción del agua. En consecuencia, la alta presión puede romper moléculas grandes de las estructuras celulares microbianas, tales como enzimas, proteínas, lípidos y membranas celulares (Sahu, 2014).

### **2.2.4. Efecto de la APH en los componentes químicos de los alimentos**

En comparación con técnicas tradicionales de pasteurización o de tratamientos térmicos, el procesamiento por altas presiones preserva en mayor proporción el color, sabor, calidad y contenido nutricional de los alimentos. Mientras que la estructura de moléculas de alta masa molar como proteínas e hidratos de carbono puede ser alterada, moléculas más pequeñas como compuestos volátiles, pigmentos, vitaminas y otros compuestos conectados con aspectos sensoriales, nutricionales y de promoción a la salud son menos afectados. Los cambios químicos

en alimentos procesados con esta tecnología son mínimos, debido a que la ruptura de enlaces covalentes no se lleva a cabo (Huang et al., 2013). Sin embargo, si pueden producirse cambios de color, apariencia y modificaciones en los atributos de textura, aunque los efectos varían de unos alimentos a otros.

#### **2.2.4.1. Agua**

El agua juega un papel importante en muchos procesos biológicos. Se considera el disolvente universal y tiene propiedades físicas únicas conocidas. El comportamiento de este disolvente se debe a la capacidad de las moléculas de agua para formar puentes de hidrógeno que permiten la formación de redes tridimensionales estructuradas o agrupaciones. Una molécula de agua típicamente presenta un arreglo tetraédrico. Las propiedades del agua pueden cambiar si el volumen cambia sobre intervalos significativos a temperaturas constantes. Al incrementar la presión se produce un descenso en el volumen del agua debido a una estructura más compacta que se da por una distorsión de los ángulos de los puentes de hidrógeno y un acercamiento mayor entre las moléculas de agua que no están enlazadas por puentes de hidrógeno (San Martín et al., 2002). A 22 °C el descenso de volumen del agua es aproximadamente 4 % a 100 MPa, 7 % a 200 MPa, 11.6 % a 400 MPa y 15 % a 600 MPa. Esta disminución de volumen implica un aumento en la densidad y como consecuencia los coeficientes de difusión de los solutos disminuyen. La compresión adiabática del agua causa un aumento de temperatura de 2 a 3 °C por cada 100 MPa, el cual depende de la temperatura inicial del agua y de la velocidad de compresión. Este cambio es reversible cuando se realiza la descompresión ya que se produce una disminución de la temperatura de la misma magnitud. Asimismo, la alta presión evita que el agua se congele a una temperatura de -22 °C a 210 MPa (Sánchez Basurto, 2012) y un incremento de 100 a 1000 MPa causa una depresión del pH de aproximadamente una unidad debido a la disociación del agua (Datta & Deeth, 1999).

#### **2.2.4.2. Proteínas y enzimas**

Los reordenamientos estructurales que tienen lugar en las proteínas bajo presión se rigen por el principio de Le Chatelier. En consecuencia, los procesos asociados con una disminución de volumen son alentados por la presión, mientras que los procesos que implican un aumento de

volumen son inhibidos por la presión. Los enlaces covalentes no se afectan por la alta presión y así la estructura primaria permanece intacta durante el tratamiento de presión. En la estructura secundaria el cambio ocurre a muy altas presiones, lo que podría ser explicado por la ruptura de los enlaces de hidrógeno los cuales se favorecen a presiones menores. En general, presiones superiores a 300 MPa a temperatura ambiente provocan una desnaturalización irreversible de la proteína, mientras que a valores menores de presión la estructura de la proteína presenta cambios reversibles (Knorr, 1999).

Las APH tienen un impacto significativo sobre la actividad y estabilidad de las enzimas. Algunas enzimas se inactivan con altas presiones, mientras que otras se activan. El mecanismo de inactivación de las enzimas en el ambiente de altas presiones, puede ser descrito en términos de la desnaturalización de la proteína. En general, la estructura primaria de la enzima no se ve afectada por la aplicación de alta presión, sin embargo, la estructura terciaria y cuaternaria de la enzima se modifica. Esta alteración es debida a la modificación de las interacciones electrostáticas e hidrofóbicas, así como de los puentes de hidrógeno. La estructura cuaternaria, la cual es la más sensible a estos tratamientos, tiende a estar estrechamente embalada por la aplicación de alta presión, una larga alteración en el volumen de hidratación bajo un ambiente de alta presión influye en la desnaturalización de la enzima (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

Por ejemplo, la polifenoloxidasas (PPO) cataliza la oxidación de monofenoles y difenoles en o-quinonas, que finalmente resulta en la decoloración y pérdida de nutrientes de frutas y vegetales. La inactivación de esta enzima por alta presión es altamente dependiente de la fuente de origen. Se ha observado que la PPO parcialmente purificada de champiñones es más resistente a la presión que su extracto enzimático comercial (Sahu, 2014). En trozos de pera Barlett presurizados a 400 MPa durante 10 min, la actividad de la PPO aumentó cinco veces. Por otra parte, la presurización de homogeneizados de manzana, plátanos o papas no dieron como resultado la inactivación de polifenoloxidasas (Barbosa-Cánovas et al., 1999).

#### **2.2.4.3. Lípidos**

En los últimos años, ha habido un creciente interés en la respuesta de los compuestos lipídicos a las APH, especialmente considerando los resultados deletéreos de los productos secundarios de la oxidación en el producto final. Por lo tanto, la estrategia adoptada en las tecnologías

emergentes para limitar la degradación lipídica es evitar el uso de altas temperaturas por tiempos prolongados o controlar los catalizadores de tales reacciones por inactivación (enzimas) o eliminación (iones metálicos). Los sistemas lipídicos son los componentes biológicos más sensibles a la presión, de hecho, la temperatura de fusión de los triglicéridos aumenta en más de 10 °C por cada 100 MPa, es por eso que los lípidos presentes en estado líquido a temperatura ambiente se cristalizan bajo presión. Las primeras investigaciones destinaron su atención a productos como pescado y carne, que presentan una susceptibilidad mayor a la degradación lipídica, debido a una mayor fracción insaturada y por lo tanto mayor sensibilidad a la autooxidación. Por ejemplo, en carne de pavo se observó que los procesamientos con presión tienen un pequeño efecto sobre la oxidación lipídica por debajo de 300 MPa, pero aumentó linealmente a presiones superiores. La química de los ácidos poliinsaturados bajo presión hidrostática es compleja ya que no siempre responden favorablemente. En algunas matrices se ha observado que el aumento o decremento de presión actúa promoviendo la oxidación de los lípidos insaturados y viceversa. Asimismo, se han estudiado los efectos de APH sobre los fosfolípidos de las membranas con bicapas de fosfatidilcolina y ácidos grasos saturados e insaturados, como una membrana modelo, ya que estos componentes biológicos son a menudo considerados como el objetivo principal de la inactivación por presión de microorganismos. Las conclusiones generales muestran que el espesor de la bicapa disminuye si hay un aumento de temperatura a presión constante. Por el contrario, a medida que aumenta la presión a temperatura constante, el espesor de la bicapa aumenta. Este fenómeno también se acompaña de una transición de fase líquido-cristalina a la fase de gel. Finalmente, el tratamiento de presión por encima de 300 MPa da como resultado una interrupción en la membrana celular y la liberación del contenido celular. Las membranas celulares que tienen fosfolípidos ricos en componentes sensibles a los radicales libres están más expuestas durante el procesamiento por alta presión y pueden desencadenar la cascada de reacciones oxidativas, resultando en una acumulación de compuestos primarios y secundarios en el producto final. El mecanismo por el cual las APH inducen la oxidación de los lípidos aún no ha sido del todo demostrado, además debe considerarse que la degradación de los lípidos debe ser contextualizada dentro de la amplia transformación de las estructuras biológicas de los alimentos (Medina-Meza et al., 2014).

#### **2.2.4.4. Hidratos de carbono**

Diversos estudios se han enfocado en los efectos de las APH en macromoléculas como proteínas y lípidos (Knorr, 1999; San Martin et al., 2002; Gómez-Estaca et al., 2007; Medina-Meza et al., 2014; Sahu, 2014 & Ma et al., 2015). Sin embargo, muy pocos han explicado lo que ocurre con los hidratos de carbono y sus estructuras. Cheftel (1995) afirma que los azúcares simples no resultan afectados por este tratamiento. En cuestión de moléculas de mayor masa molar como los polisacáridos, Michael y colaboradores (2001) concluyeron que la alta presión induce cambios fisicoquímicos en almidones, tales como pérdida de cristalinidad, de orden anisotrópico y de hidratación y un aumento de la viscosidad muy similares a los inducidos por calor. Yang y colaboradores (2009) observaron que las hemicelulosas y celulosas presentes en el pericarpio de la fruta son menos susceptibles a degradarse bajo condiciones de alta presión, debido a que los enlaces covalentes no pueden ser modificados por las altas presiones.

Las reacciones de condensación de Maillard son inhibidas por la aplicación de altas presiones entre 50 y 200 MPa. En consecuencia, no hay desarrollo del sabor y del color típico de esta reacción (Sánchez Basurto, 2012). Campus y colaboradores (2008) estudiaron los efectos de alta presión (300-400 MPa) en las características químicas de lomo curado. Observaron una reducción severa de compuestos que imparten sabor derivados de la reacción de Maillard. Por otro lado, reportaron que en muestras de vino blanco presurizadas (425 y 500 MPa) se encontró menor contenido de aminoácidos junto con un alto contenido de color marrón y de compuestos volátiles como furanos, lo que les permitió inferir un posible efecto del tratamiento en la aceleración de estas reacciones durante el periodo de almacenamiento. Estas observaciones se asemejan con estudios llevados a cabo en sistemas modelo que contienen azúcares y aminoácidos, que demostraron que los tratamientos de alta presión pueden acelerar la formación de compuestos de transposición de Amadori.

#### **2.2.4.5. Vitaminas y compuestos bioactivos**

Una de las ventajas constantemente mencionadas cuando se habla de APH es la retención de la calidad nutricional original del producto, ya que los compuestos de baja masa molar de los alimentos, como compuestos del sabor, volátiles, con actividad antioxidante, pigmentos y



algunas vitaminas no son alterados, debido a que los enlaces covalentes no son afectados por la presión (Vega-Gálvez et al., 2014). El efecto de la APH sobre la estabilidad de las vitaminas es uno de los estudios que más despierta interés entre los autores que han evaluado este procesamiento. Los investigadores han usado a la vitamina C como un indicador de calidad en frutas y vegetales debido a que es un compuesto bioactivo sensible que proporciona un indicativo de la pérdida de otras vitaminas y por lo tanto actúa como un criterio válido para otros compuestos nutricionales o sensoriales. En diversos trabajos se ha encontrado que el contenido de vitamina C en jugos presurizados es similar al de un jugo sin tratamiento y que la pérdida de vitamina es mucho menor en un jugo presurizado que en un jugo tratado térmicamente. Asimismo, concluyeron que los fenoles totales parecen ser relativamente resistentes al efecto del procesamiento, observando que las altas presiones y el tratamiento térmico no tienen efecto significativo en los niveles de compuestos fenólicos (Barba et al., 2012b).

#### **2.2.5. Efecto de la APH sobre los microorganismos**

Al estudio de los efectos de la presión sobre organismos vivos se le denomina barobiología. La mayoría de bacterias son capaces de crecer a presiones de hasta 20-30 MPa. Los microorganismos que son capaces de crecer a presiones tan altas como 40-50 MPa se les denomina barófilos. Los microorganismos barófilos difícilmente crecen o no lo hacen a presiones más altas de 30-40 MPa. Los microorganismos que pueden crecer en el intervalo de presiones de 0.1-50 MPa se denominan euribáricos. Los organismos barodúricos sobreviven a presiones de 50-200 MPa, pero no pueden crecer.

El procesado por alta presión es un método que induce cambios en los sistemas biológicos de tipo morfológico, bioquímico y genético que tienen lugar en las membranas y en la parte celular de los microorganismos (Barbosa-Cánovas et al., 1999), por lo que puede inactivar microorganismos patógenos en los alimentos a temperatura ambiente, extendiendo la vida de anaquel de los alimentos y reducir el daño de compuestos termolábiles presentes en los mismos ocasionados por las altas temperaturas (Matser et al., 2004). La aplicación de esta tecnología emergente a temperatura ambiente destruye las células vegetativas e inactiva ciertas enzimas. La efectividad del tratamiento depende de la presión aplicada, del tiempo de procesamiento, de la matriz alimenticia y del tipo de microorganismo, ya que la resistencia de los microorganismos

es muy variable. Sin embargo, la pérdida de la viabilidad de los microorganismos al ser sometidos a altas presiones se debe a la combinación de lesiones efectuadas en las células de los microorganismos. La membrana celular es el blanco principal, como resultado hay modificaciones en la permeabilidad y una interrupción funcional debido a fugas de compuestos intracelulares fuera de la célula, rompiendo su funcionamiento. Hay otros compuestos y funciones celulares sensibles a las altas presiones que son alterados o inhibidos como los ribosomas, la síntesis de proteínas y la actividad enzimática y en mecanismos genéticos, no se desnaturaliza el ADN sino que se detiene la replicación y transcripción por inactivación de enzimas clave para este proceso. En ocasiones, la célula es dañada pero puede recuperarse si las condiciones de almacenamiento y el contenido de sustratos posteriores al tratamiento son adecuados. Si el múltiple daño acumulado en diferentes partes de la célula excede la habilidad de la célula para repararse, la muerte ocurre (Huang et al., 2013). La composición del alimento puede afectar la reparación de la célula, los ácidos presentes pueden inhibir la reparación de las proteínas de las células dañadas, haciendo al microorganismo más sensible a la presión o temperatura (Sahu, 2014).

Asimismo, las altas presiones moderadas disminuyen la velocidad de crecimiento y reproducción, las presiones muy elevadas provocan la inactivación de microorganismos, ya que se desnaturalizan las proteínas y se inhibe la captación de aminoácidos indispensables para el crecimiento de la célula. Las APH son similares al procesamiento térmico en que hay un valor de umbral, que depende de cada microorganismo, por debajo del cual no se produce inactivación. Por encima del umbral, el efecto letal del proceso tiende a incrementar a medida que la presión y/o la temperatura aumentan. La respuesta de los diferentes tipos de microorganismos a la presión varía significativamente en el siguiente orden de aumento de la resistencia (Donna & Feeherry, 2007):

Bacterias vegetativas < Hongos y levaduras < Virus < Esporas bacterianas

En general, las células procariotas muestran una mayor resistencia hacia la presión que las células eucariotas. Dentro de los procariontes, los microorganismos Gram positivo como *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus* y *Clostridium* tienen una capa más gruesa de peptidoglucano y por lo tanto son generalmente más resistentes a la presión que los microorganismos Gram negativo (Georget et al. 2015). En el Cuadro 2 se resume la presión requerida para lograr la reducción decimal de algunos microorganismos. Las esporas bacterianas pueden ser

extremadamente resistentes a la alta presión, al igual que son resistentes a otros tratamientos letales como calor, irradiación y agentes químicos (Sahu, 2014). La eliminación de endoesporas bacterianas de los alimentos probablemente representa los mayores desafíos de procesamiento de alimentos y de la seguridad alimentaria para la industria. Está bien establecido que las esporas son la forma de vida más resistente a la presión, en general, únicamente muy altas presiones (> 800 MPa) pueden eliminar esporas bacterianas a temperatura ambiente (Hogan et al., 2005). El sistema alimenticio en sí podría tener un efecto protector sobre las esporas, debido a ciertos compuestos como grasas, azúcares y sales, que pueden interactuar con las esporas bacterianas de una manera protectora (Georget et al., 2015).

*Cuadro 2. Presiones requeridas para lograr una reducción de cinco ciclos logarítmicos para un tratamiento de 15 minutos (Adaptado de Hogan et al., 2005).*

Microorganismo	Presión (MPa)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	275
<i>Salmonella typhimurium</i>	350
<i>Listeria monocytogenes</i>	375
<i>Salmonella enteritidis</i>	450
<i>Escherichia coli</i> O 157: H7	680
<i>Staphylococcus aureus</i>	700

Debido a la gran resistencia que presentan las esporas bacterianas, la aplicación de presión es insuficiente para su inactivación y requieren otros métodos de procesamiento aplicados en combinación con la alta presión que pueden ser eficaces para la eliminación de las esporas, mediante un efecto sinérgico o de barrera, como es la aplicación de calor. Una alternativa al uso de tratamientos que combinan presión y calor para asegurar la inactivación de las esporas bacterianas, es causar la germinación de la spora y después se utiliza la APH para eliminar a las células vegetativas que son mucho más sensibles a la presión (Hogan et al., 2005). El modo de acción que ha sido sugerido es por electrostricción o un aumento en la ionización de algunos componentes de la spora, lo que todavía sigue siendo especulativo. La electrostricción provoca una compresión de dipolos adyacentes y es el resultado de interacciones de los iones del agua que depende del radio del ion y de su carga. La electrostricción permitiría la hidratación del núcleo, comenzando así el proceso de germinación (San Martín et al., 2002).

Interesantemente, las esporas bacterianas pueden ser estimuladas a germinar mediante el tratamiento a presiones relativamente bajas, como 50-300 MPa; una vez que germinaron, pueden ser eliminadas por tratamientos térmicos suaves o por alta presión (Hogan et al., 2005). Aun así, existe una significativa proporción de esporas iniciales que pueden permanecer en una latencia extrema y que no germinan.

### 2.2.6. Oportunidades del uso de APH en alimentos

El procesamiento por alta presión se puede aplicar para alargar la vida comercial de los alimentos y modificar la textura y propiedades sensoriales de los alimentos (Barbosa-Cánovas et al., 1999). Esta tecnología se aplica a un intervalo amplio de alimentos diferentes, incluyendo productos cárnicos crudos y cocinados, pescados y mariscos, platillos pre-cocinados, frutas, vegetales y jugos. Las principales aplicaciones hoy en día se enfocan en productos como mermeladas, jugos de frutas y vegetales, sopas, ostras, salsas, aderezos y más recientemente carne procesada como jamón. En el Cuadro 3 se enlistan los productos comerciales que están disponibles y que son procesados con esta tecnología. La gama de productos está aumentando y extendiéndose desde sus orígenes en Japón, seguido por los Estados Unidos y ahora Europa.

*Cuadro 3. Productos alimenticios comerciales tratados por APH  
(Adaptado de Hogan et al., 2005).*

<b>Producto</b>	<b>Fabricante</b>	<b>País</b>
Mermeladas, salsas de frutas, yogurt y gelatinas	Meida-Ya	Japón
Jugo de mandarina	Wakayama Food Industries	
Frutas tropicales	Nishin Oil Mills	
Carne de res	Fuji Ciku Mutterham	
Guacamole, aderezos, comidas preparadas y jugos de frutas	Avomex	EUA
Hummus	Hannah International	
Jugos de frutas y vegetales	Odwalla	
Jamón	Hormel Foods	
Productos avícolas procesados	Purdue Farms	
Ostras	Motivatit Seafoods, Goose Point Oysters y Joey Oysters	Francia
Jugo de naranja	Ultifruit	
Jugos de frutas	Pampryl	
Jugo de manzana	Frubaca	Portugal
Tapas y rebanadas de jamón	España	España
Batidos y jugos de frutas	Orchad House	Inglaterra

### **2.2.7. Estudios previos de aplicación de APH en jugos de frutas y vegetales**

En la última década, nuevos productos basados en jugos de frutas o vegetales, de un ingrediente o mezclados, han tenido una buena aceptación por los consumidores y un alto valor nutricional debido a su gran contenido de compuestos bioactivos y su capacidad antioxidante. Tradicionalmente, los alimentos fluidos han sido preservados por tratamientos térmicos como pasteurización y esterilización, estos procesos son capaces de prevenir el deterioro de los alimentos; sin embargo, también pueden resultar en la pérdida de compuestos responsables de atributos sensoriales y nutricionales durante el tratamiento de preservación y posterior almacenamiento. Diversos autores proponen el uso de las altas presiones como una alternativa viable al procesamiento térmico; han enfocado sus estudios para evaluar el efecto de los tratamientos por alta presión en alimentos fluidos y sobre el almacenamiento en frío para evaluar las posibles pérdidas de nutrimentos y características fisicoquímicas después de aplicar estos procedimientos, en comparación con muestras sin tratamiento o muestras sometidas a los tratamientos tradicionales. Hay varios estudios centrados en los efectos de las APH en las características fisicoquímicas y/o microbiológicas de diferentes jugos de frutas y vegetales, en el Cuadro 4 se ejemplifican algunos de estos casos.

Las APH han mostrado ser eficientes para mantener los niveles de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante en algunos jugos de frutas y vegetales, además de cumplir con los requerimientos de seguridad y calidad. Los parámetros no cambian significativamente durante el almacenamiento, sin embargo, se han observado algunas tendencias, los efectos de las altas presiones difieren no sólo en función de la intensidad del tratamiento, sino también de acuerdo con la matriz alimentaria, lo que sugiere que cada matriz debe estudiarse por separado.

*Cuadro 4. Bebidas y jugos de frutas y/o vegetales tratados por APH.*

<b>Producto</b>	<b>Condiciones de tratamiento</b>	<b>Referencias</b>
Jugo de moras	500 MPa/5 min	Hui Zou et al. (2016)
Jugo de espárragos	200, 400, 600 MPa/10 y 20 min	Chen et al. (2015)
Jugo de litchi con agua de coco y jugo de limón	200-600 MPa/50-70 °C/5-20 min	Jayachandran et al. (2015)
Jugo de manzana	430 MPa-7 min	Juárez-Enriquez et al. (2015)
Jugo de cereza	400 MPa/5 min y 550 MPa/2 min	Queirós et al. (2015)
Jugo de pepino	350 MPa-10 min/400 MPa-4 min/ 500 MPa-2 min	Zhao et al. (2014)
Jugo de arándano	200, 400, 600 MPa/5, 9 y 15 min	Barba et al. (2013)
Jugo de granada	300, 400 MPa/2.5, 5, 10, 15, 20 y 25 min	Dong et al. (2013)
Jugo de uva	400 MPa/3 min/30 °C	Uckoo et al. (2013)
Jugo de naranja con leche	100-400 MPa/2, 5, 7 y 9 min	Barba et al. (2012a)
Jugo de fresa	600 MPa-4 min	Cao et al. (2012)
Bebida con fresa, manzana, concentrado de jugo de manzana, plátano y naranja	450 MPa/1, 3 y 5 min	Keenan et al. (2012)
Jugo de zanahoria	500 y 600 MPa/1 min/20 °C	Patterson et al. (2012)
Jugo de sandía	300, 600 y 900 MPa/ 5, 20, 40 y 60 min/ 60 °C	Zhang et al. (2011)
Jugo de tomate	100-500 MPa/10 min/4, 25 y 50 °C	Hsu (2008)
Jugo de brócoli y manzana	500 MPa-10 min	Houška et al. (2006)
Jugo de naranja, manzana, albaricoque y cereza	250-450 MPa/0-60 min/25-50 °C	Bayindirli et al. (2006)
Jugo de naranja	100 MPa-60 °C-15 min/400 MPa-40 °C-1 min/350 MPa-30 °C-2.5 min	Sánchez-Moreno et al. (2003)
Jugo de guayaba	600 MPa-15 min-25 °C	Yen y Lin (1999)

### Capítulo 3. Materiales y métodos

La Figura 4 muestra el diagrama general del protocolo experimental de este estudio.

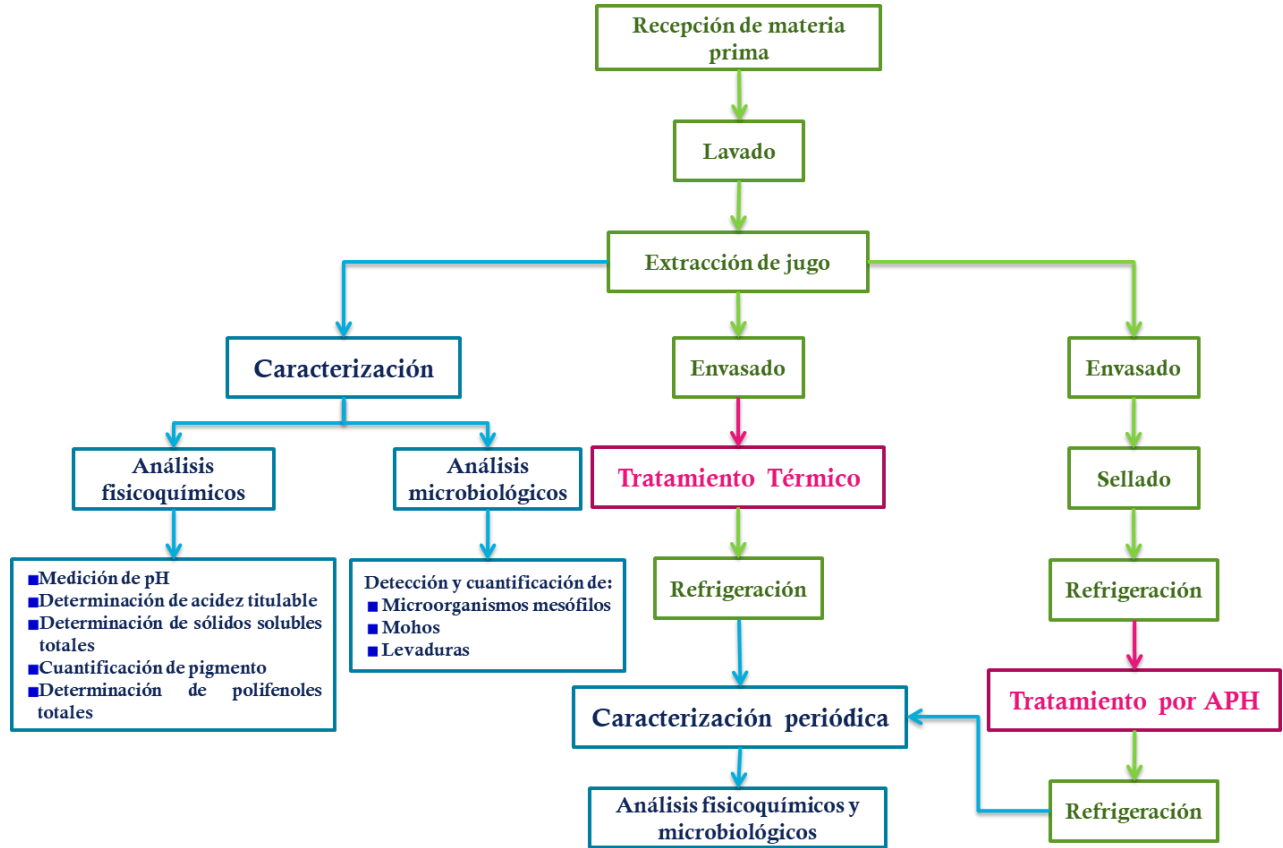


Figura 4. Diagrama general de la elaboración, tratamiento y análisis del jugo de betabel.

#### 3.1. Reactivos y materiales

Ácido gálico (Cristal monohidratado, Mallinckrodt Chemicals, Mallinckrodt Baker, Phillipsburg, Nueva Jersey, USA); Carbonato de sodio (Polvo anhidro, Baker Analyzed, J.T. Baker, México); Hidróxido de sodio (Disolución volumétrica valorada, Hycel de México, Guadalajara, México); Reactivo de Fenol de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA); Agua peptonada (Ref. 218105, Difco, Becton, Dickinson and Company, USA); Agar para cuenta estándar (Ref. 247940, Difco, Becton, Dickinson and Company, USA); Agar

dextrosa y papa (Ref. 211900, Bioxon, Becton, Dickinson de México); Agar extracto de malta acidificado (Ref. 211220, Difco, Becton, Dickinson and Company, USA); Agua destilada.

### **3.2. Extracción de jugo y envasado**

Los betabeles fueron adquiridos en el comercio local y lavados con agua y jabón. Se les quitó la cáscara con un mondador, la raíz y las hojas manualmente. Enseguida fueron cortados en placas rectangulares de aproximadamente 1 cm de espesor y altura y se obtuvo el jugo con un extractor (Turmix Motor Especial, Turmix de México, Turmix World Service, México). Después de la extracción, el jugo se dejó reposar 5 min para que la espuma formara una capa uniforme y así facilitar su separación y eliminación. El jugo se envasó en bolsas flexibles compuestas de cuatro capas de polietileno con una capa exterior de nylon, de (12 x 22) cm (ROL-28, FoodSaverOster, Sunbeam Products Inc, Korea), las cuales fueron selladas térmicamente con una máquina (Mini Jumbo, Henkelman Vacuum Systems, Países Bajos), removiendo la mayor cantidad posible de aire. Las bolsas se envolvieron en papel aluminio para evitar contacto con la luz y se almacenaron en refrigeración a 4 °C. Las muestras de jugo empacadas en bolsas fueron sometidas a tratamientos por APH y otras sin APH (control) como se describe a continuación.

### **3.3. Tratamiento y almacenamiento**

#### **3.3.1. Tratamiento con alta presión hidrostática (APH)**

Las muestras fueron tratadas a una temperatura inicial de  $21 \pm 2$  °C en un equipo de alta presión (Elmhurst Systems Engineering LLC, Albany, USA) en una cámara de acero inoxidable de 500 mL de capacidad y una presión máxima de proceso de 655 MPa. Dos bolsas con jugo empacadas al vacío se introdujeron al mismo tiempo en la cámara y se agregó la cantidad de agua, fluido transmisor de presión, señalada por el fabricante. La cámara se cerró y el equipo se programó con las condiciones de tiempo de exposición y presión. El procedimiento consistió en una etapa de presurización, seguida de mantenimiento de la presión, a  $58.6 \pm 1.3$  kpsi ( $\approx 400$  MPa), por 5 y 10 min y finalmente la despresurización. Al término del tratamiento la cámara se abrió, se sacaron las bolsas, se envolvieron en papel aluminio y se almacenaron en refrigeración a 4 °C para su posterior análisis.



### **3.3.2. Tratamiento térmico**

El jugo extraído se envasó en frascos de vidrio de 120 mL los cuales fueron previamente calentados en un baño con agua a 95 °C por 20 min. Las muestras de jugo fueron tratadas térmicamente en un baño con agua a 65 °C con una exposición de 15 min, posteriormente los frascos se cerraron, se enfriaron en un baño de agua helada, se envolvieron en papel aluminio para evitar contacto con la luz y se almacenaron en refrigeración a 4 °C para su posterior análisis.

### **3.3.3. Almacenamiento**

Las bolsas y frascos con las muestras de jugo de betabel procesadas por APH, tratamiento térmico y control, respectivamente, se almacenaron en refrigeración a 4 °C. Se realizó una caracterización fisicoquímica y microbiológica a 0, 7 y 14 días de almacenamiento. Todas las muestras del día 0 fueron extraídas y analizadas el mismo día.

## **3.4 Caracterización del jugo**

### **3.4.1. Análisis microbiológico**

Para la detección de microorganismos mesófilos aerobios viables en el jugo de betabel, se utilizó el método de cuenta en placa de bacterias descrito por Camacho et al. (2009). Las muestras con y sin tratamiento fueron diluidas con agua peptonada 0.1 % estéril bajo condiciones asépticas y 0.1 mL de cada dilución decimal fue inoculada por triplicado en cajas Petri con agar para cuenta estándar utilizando la técnica de extensión superficial en placa. Se incubaron a 37 °C por  $48 \pm 2$  h. Para la detección de mohos y levaduras se utilizó el método descrito por Camacho et al. (2009). Los medios utilizados fueron agar dextrosa y papa y extracto de malta acidificado, respectivamente. Se incubaron a 27 °C por  $72 \pm 2$  h y después se realizó el análisis cuantitativo y los resultados se expresaron como UFC/mL.

### **3.4.2. pH**

El pH fue medido a temperatura ambiente ( $25 \pm 3$  °C) usando un potenciómetro digital (Orion modelo 420, Orion Research Inc., USA). El potenciómetro fue calibrado con disoluciones buffer a pH 7.0, 4.0 y 10.0 previo a la medición. El pH se midió en 15 mL de jugo bajo agitación cuando la lectura fue estable.

### **3.4.3. Acidez total**

La determinación de acidez se hizo por triplicado; 15 mL de jugo de betabel fueron titulados con NaOH 0.1 mol/L valorado, utilizando el potenciómetro para medir el punto final de la titulación ( $\text{pH} = 7.0 \pm 0.1$ ). El volumen de NaOH se convirtió en masa y se expresó como g de ácido cítrico por mL de jugo de acuerdo con la norma NMX-F-102-S-1978.

### **3.4.4. Sólidos solubles totales**

Los sólidos solubles totales fueron determinados como °Bx a temperatura ambiente utilizando un Refractómetro (ATAGO Master Manual, Cole-Parmer Instrument Co., Japón), calibrado con agua destilada.

### **3.4.5. Contenido de betalaínas y retención de pigmento**

La cuantificación de betalaínas fue realizada utilizando el método de espectrofotometría de Yizhong et al. (2001). Para hacer la lectura de las muestras se hicieron tres diluciones consecutivas de 1 mL de jugo extraído con 10 mL de agua destilada. La medición se hizo por triplicado. El barrido espectrofotométrico se hizo en un espectrofotómetro (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, USA), con celdas de cuarzo de un centímetro. La absorbancia fue medida de 200-700 nm. Los valores de coeficiente de extinción ( $\epsilon$ ) usados para determinar la cantidad de pigmento fueron  $6.16 \times 10^4$  para betacianinas y  $4.80 \times 10^4$  para betaxantinas a sus respectivas absorbancias máximas; 536 nm para betacianinas y 482 nm para betaxantinas. El contenido de betalaína se expresó como mg de betaxantina o betacianina por litro de jugo. El porcentaje de retención de pigmento se calculó como sigue

$$\%Rp = \frac{\text{Contenido de betalaína a } x \text{ tiempo de almacenamiento}}{\text{Contenido de betalaína al día 0 de almacenamiento}} \times 100$$

### 3.4.6. Polifenoles totales

El método más usado para la determinación del contenido de polifenoles en alimentos es el ensayo de Folin–Ciocalteu para el cual se utiliza un reactivo del mismo nombre, que consta de una disolución de iones complejos provenientes de los heteropoliácidos fosfotúngstico ( $\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$ ) y fosfomolibdico ( $\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$ ) (Segura Morales, 2015). Se basa en el poder de reducción de los grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos sobre los constituyentes metálicos de estos iones complejos formando un producto color azul. La absorbancia de este producto se mide a 765 nm y es posible relacionarla con la concentración de polifenoles totales en el alimento. Sin embargo, se sabe que los múltiples compuestos fenólicos existentes responden de diversas maneras ante el reactivo de Folin (Vulic et al., 2012) y que el método puede ser afectado por otras moléculas no fenólicas reductoras (Rover & Brown, 2013).

La determinación se hizo por triplicado, por el método de Folin-Ciocalteu descrito por Chuquimia et al. (2008) y Dong et al. (2013) con algunas modificaciones. Un volumen de 3 mL de jugo de betabel fue mezclado con 10 mL de agua destilada. La mezcla fue centrifugada (Centrifuga Hermle z200A Labnet, Labortechnik, Alemania) a 4500 rpm por 20 min. El sobrenadante fue recolectado y se llevó a un aforo de 50 mL con agua destilada. Se realizó la reacción con 400  $\mu\text{L}$  de muestra, 40  $\mu\text{L}$  reactivo de Folin-Ciocalteu 2 N y 10 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 %, los cuales se mezclaron y homogeneizaron (Vortex mixer, Cole-Parmer, USA). La mezcla de reacción se dejó reposar 10 min en obscuridad. Se midió la absorbancia de las muestras a 765 nm utilizando un espectrofotómetro (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, USA). La absorbancia de cada muestra se comparó con la curva patrón de ácido gálico (0-210  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) la cual se muestra en la Figura 5. Los resultados fueron expresados como mg equivalente de ácido gálico (GAE) por 100 mL de muestra.

La curva patrón se realizó por duplicado a partir de una disolución de ácido gálico 0.1 % utilizando agua destilada como disolvente. Se tomaron alícuotas de 300, 900, 1500 y 2100  $\mu\text{L}$  de la disolución patrón en un matraz volumétrico de 10 mL y se llevó al aforo con agua destilada. Se realizó la reacción con 400  $\mu\text{L}$  de muestra, 40  $\mu\text{L}$  reactivo de Folin-Ciocalteu 2 N y 10 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 %, que se mezclaron y homogeneizaron (Vortex mixer, Cole-

Parmer, USA). La mezcla de reacción se calentó a 45 °C en baño maría por 10 min. Se midió la absorbancia a 765 nm utilizando un espectrofotómetro (Genesys 10 UV, Thermo Electron Corporation, USA).

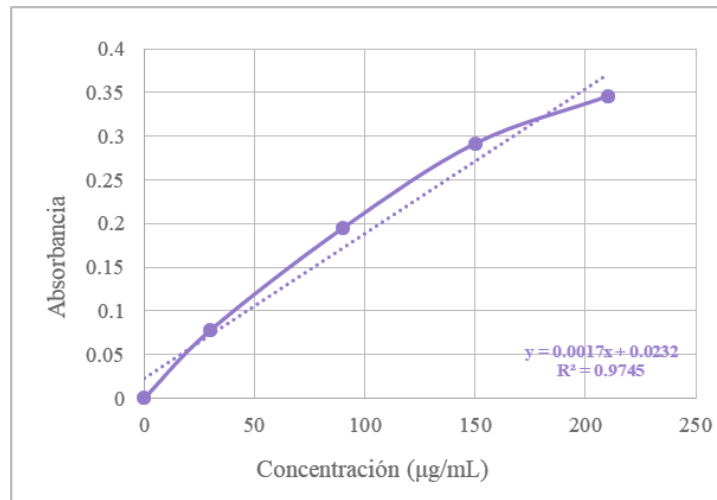


Figura 5. Curva patrón de ácido gálico.

### 3.5. Análisis estadístico

Todas las pruebas se hicieron por triplicado. Se reportan los promedios y las desviaciones estándar. Para determinar si existió diferencia significativa entre los datos obtenidos y el tiempo de almacenamiento en las muestras con y sin tratamiento por APH se utilizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) en Excel (Microsoft Office Professional Plus 2013, Microsoft Corporation), con un nivel de significancia de 0.05. También se realizó una prueba de diferencia mínima significativa de medias (DMS) para encontrar si hay diferencia significativa entre los parámetros medidos y los días de almacenamiento.

## Capítulo 4. Resultados y discusión

Previamente al tratamiento del jugo de betabel se examinaron sus características sensoriales en diferentes condiciones de almacenamiento y cómo estas se van modificando durante un periodo de seis días. El Cuadro 5 muestra las observaciones provenientes de esta primera evaluación. Con base en esta información se determinó el periodo de tiempo de conservación del jugo antes de cualquier tratamiento térmico y por APH.

*Cuadro 5. Observaciones sensoriales en el jugo de betabel sin tratamiento.*

Condiciones de almacenamiento	Tiempo (días)		
	1	2	6
Medio ambiente, con exposición a luz ambiente	Pérdida notable de color, cambió a rojo pardo. Conservación de aroma característico del jugo fresco. Consistencia líquida.	Deterioro de color a rojo más pardo. Persistió color amarillo en el fondo del tubo. No se conservó aroma característico de jugo fresco. Consistencia espesa.	El jugo ya no fue atractivo sensorialmente y no se conservó para estudio de días siguientes.
Medio ambiente, sin exposición a luz ambiente*	Color morado intenso, parecido al del jugo recién extraído. Conservación de aroma característico del jugo fresco. Consistencia líquida.	Color afin al del día uno. Se percibió aroma amargo. Presencia de sedimentos, consistencia más viscosa. Producción de burbujas y liberación de gas al abrir el recipiente que contenía el jugo.	Color aceptable. Sin embargo, en otros aspectos ya no fue atractivo sensorialmente por lo que no se conservó para estudio de días siguientes.
Refrigeración a 4 °C, exposición a la luz ambiente	Cambio de color de morado a rojo. Sin embargo, tuvo mayor brillo que el almacenado a T <sub>amb</sub> . Conservación de aroma característico del jugo fresco. Consistencia líquida.	Color afin al del día uno. Conservación de aroma característico del jugo fresco, ligero aroma dulce. Consistencia líquida.	Color afin al del día uno, pero menos brillo. Se percibió aroma amargo. Consistencia espesa. Producción de burbujas y liberación de gas al abrir el recipiente.
Refrigeración a 4 °C, sin exposición a luz ambiente*	Color morado intenso, parecido al del jugo recién extraído. Conservación de aroma característico del jugo fresco. Consistencia líquida.	Color afin al del día uno. Conservación de aroma característico del jugo fresco. Consistencia líquida.	Color afin al del día uno. Ligera conservación de aroma, pero también se percibieron notas amargas. Consistencia espesa. Producción de burbujas y liberación de gas al abrir el recipiente.

\*Se utilizó papel aluminio para cubrir los tubos con muestra y resguardar de la luz.

Los resultados muestran que el jugo de betabel es muy perecedero. Su conservación sin recibir algún tratamiento o medio de conservación no fue mayor a dos días a temperatura ambiente. La principal betacianina presente en el betabel es la betanina que puede transformarse y perder su coloración bajo la influencia de factores como el pH, altas temperaturas, oxígeno, luz y actividad de agua (Badui, 2006). Al estar el jugo expuesto a la luz y al oxígeno, disminuyó notablemente su color debido a la inestabilidad de estos pigmentos frente a estos parámetros. La refrigeración es un método de conservación a corto plazo; al refrigerar el jugo hubo mayor conservación debido a la disminución de temperatura. Aumentó la preservación de las betaninas y disminuyó la tasa de crecimiento de microorganismos que pueden llegar a fermentar azúcares presentes en el jugo causando liberación de dióxido de carbono, producción de metabolitos o compuestos de olor desagradable como aldehídos o ácidos. Este comportamiento se observó en las muestras almacenadas a temperatura ambiente en comparación con las muestras refrigeradas.

Durante esta etapa de análisis físico del jugo de betabel, se estableció la importancia de las pruebas microbiológicas para conocer la carga microbiana presente en el jugo de betabel fresco y el grado de reducción que se puede lograr con los métodos de conservación propuestos. Al no encontrar información sobre un microorganismo característico que puede desarrollarse en esta bebida se hizo un análisis microbiológico para la detección de microorganismos mesófilos viables, mohos y levaduras.

Además de la parte microbiológica, también se determinó el pH, la acidez total, el contenido de pigmento, de polifenoles totales y de sólidos solubles totales. Estos parámetros fisicoquímicos ofrecen información acerca de la calidad del jugo de betabel antes y después de ambos tratamientos.

## **4.1. Microorganismos**

### **4.1.1. Mesófilos aerobios**

El Cuadro 6 muestra el crecimiento microbiano de mesófilos aerobios en agar para cuenta estándar que sirve para conocer el contenido de microorganismos viables en un alimento. La cuenta inicial de mesófilos aerobios en las muestras de jugo sin tratamiento fue de 4.28 Log

UFC/mL. Después de catorce días de almacenamiento a 4°C la concentración aumentó a 7.68 Log UFC/mL.

*Cuadro 6. Efecto del tratamiento térmico y APH sobre el recuento total de bacterias mesófilas en jugo de betabel (Log UFC/mL).*

<b>Tiempo de almacenamiento (Días)</b>	<b>Control</b>	<b>Tratamiento térmico (65 °C-15 min)</b>	<b>Control</b>	<b>APH 400 MPa - 5 min</b>	<b>APH 400 MPa - 10 min</b>
<b>0</b>	<b>5.11</b>	<b>1.52<sub>VE</sub>*</b>	<b>4.28</b>	<b>&lt; 1<sub>VE</sub></b>	<b>&lt; 1<sub>VE</sub></b>
<b>7</b>	<b>6.87</b>	<b>1.83<sub>VE</sub></b>	<b>7.20</b>	<b>&lt; 1<sub>VE</sub></b>	<b>&lt; 1<sub>VE</sub></b>
<b>14</b>	<b>7.64</b>	<b>3.58</b>	<b>7.68</b>	<b>6.89</b>	<b>2.81</b>

\*VE: Valor estimado (Sensibilidad del método)

Los ensayos microbiológicos realizados a las muestras de jugo tratadas con APH muestran que la carga microbiana se redujo a menos de 1 Log UFC/mL, valor estimado por la sensibilidad del método, lo que muestra la eficacia del procesamiento por alta presión en ambos tratamientos para la reducción de la cuenta inicial, como se ha reportado para jugos ácidos (Ferrari et al., 2010; Uckoo et al., 2012; Dong et al., 2013; Queirós et al., 2015 & Hui Zou et al., 2016) y de baja acidez (Chen et al., 2015). Asimismo, el tratamiento térmico en el jugo de betabel redujo a 1.52 Log UFC/mL la carga microbiana inicial.

Después de siete días de mantener las muestras de jugo tratadas por APH almacenadas en refrigeración, las UFC/mL se mantuvieron en niveles indetectables (<1 Log UFC/mL) garantizando así la seguridad del jugo de betabel. No obstante, al día catorce de almacenamiento se presentó un aumento en el crecimiento microorganismos mesófilos aerobios que supera el límite permitido en jugos pasteurizados según la NOM 130-SSA1-1995, norma que declara un límite de 100 UFC/mL (2 Log UFC/mL). Por lo tanto el jugo de betabel tratado ya no cumplió con las especificaciones sanitarias.

La pérdida de la viabilidad de los microorganismos al ser sometidos a altas presiones se debe a la combinación de lesiones efectuadas en estas células. En ocasiones, la célula es dañada pero puede recuperarse si las condiciones de almacenamiento y el contenido de sustratos posteriores al tratamiento son adecuados (Hui Zou et al., 2016). Esto quiere decir que al transcurrir el tiempo de almacenamiento, los microorganismos que fueron dañados al ser sometidos a estas condiciones de presión y tiempo de proceso, lograron salir del estrés al que fueron sometidos y

encontraron las condiciones adecuadas para sobrevivir y reparar el daño fisiológico, siendo viables nuevamente (Sahu, 2014).

Con respecto al tratamiento térmico, las muestras analizadas al día siete de almacenamiento, fueron todavía aptas para consumo, dado que las UFC/mL no excedieron el límite señalado en la norma. Sin embargo, al día catorce tampoco fueron viables.

#### **4.1.2. Hongos y levaduras**

Los hongos y las levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, pueden encontrarse como microbiota normal de un alimento o también pueden ser causantes de la descomposición de otros alimentos. El Cuadro 7 muestra el crecimiento de ambos microorganismos en un medio de cultivo específico para cada uno. La norma para jugos pasteurizados señala un límite máximo de 25 UFC/mL (1.4 Log UFC/mL) de hongos y levaduras. Los ensayos microbiológicos realizados al jugo control y a las muestras procesadas térmicamente y por APH muestran que el crecimiento microbiológico de hongos fue menor de 1 Log UFC/mL; valor estimado por la sensibilidad del método, y que después de catorce días de almacenamiento en refrigeración las UFC/mL se mantuvieron dentro de los límites máximos establecidos en la norma. Este resultado es congruente con lo reportado experimentalmente para otros jugos tratados por APH (Uckoo et al., 2012; Dong et al., 2013 & Queirós et al., 2015).

Con respecto a la caracterización microbiológica de levaduras, la pasteurización redujo a 1 Log UFC/mL la cuenta inicial de levaduras en el jugo y durante el almacenamiento no se registró cambio en la concentración de UFC/mL. En las muestras de jugo tratadas con APH, la cuenta inicial también se redujo a menos de 1 Log UFC/mL, en ambos tratamientos. No obstante, al día catorce de almacenamiento se observó un incremento de UFC, dado que este valor es superior al límite señalado en la norma, el jugo de betabel tratado bajo estas condiciones de presión y temperatura ya no fue apto para consumo.



Cuadro 7. Efecto del tratamiento térmico y APH en el recuento total de hongos y levaduras en jugo de betabel (Log UFC/mL).

Microorganismo	Tiempo de almacenamiento (Días)	Control	Tratamiento térmico (65 °C-15 min)	Control	APH 400 MPa - 5 min	APH 400 MPa - 10 min
Hongos	0	< 1 <sub>VE</sub> *	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>
	7	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>
	14	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>
Levaduras	0	4.05	< 1 <sub>VE</sub>	3.55	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>
	7	6.86	< 1 <sub>VE</sub>	6.77	< 1 <sub>VE</sub>	< 1 <sub>VE</sub>
	14	7.46	< 1 <sub>VE</sub>	7.50	4.95	2.48 <sub>VE</sub>

\*VE: Valor estimado (Sensibilidad del método).

#### 4.2 pH y acidez total

El pH inicial del jugo de betabel fresco fue  $6.34 \pm 0.02$ , similar al reportado en la literatura (Yoon et al., 2005). La Figura 6 muestra que posterior al tratamiento con alta presión, al inicio del almacenamiento, el pH disminuyó significativamente con respecto al control ( $p \leq 0.05$ ); siendo el tratamiento de 10 min de mantenimiento de presión el que tuvo una mayor repercusión en el valor de pH disminuyendo 0.1 unidad.

Asimismo, en este tratamiento se observa que la concentración de acidez aumentó significativamente 25 % con respecto al control (Figura 7). Jayachandran et al. (2015) establecieron que la alta presión aumenta la constante de disociación iónica del agua y ácidos débiles en los alimentos, lo que resulta en un mayor número de iones libres en la matriz alimentaria y por lo tanto un aumento en la acidez y ligero descenso en el pH. El análisis estadístico muestra que entre los tratamientos por APH sí hay diferencia significativa con respecto al pH pero no en la acidez. Sin embargo, durante el almacenamiento no hubo cambio significativo entre ellos lo que sugiere que el procesamiento no tuvo efecto adverso sobre estos parámetros.

A los 14 días de almacenamiento, el pH del jugo control disminuyó de manera significativa con respecto al inicio ( $t = 0$  d) y mostró un aumento considerable de acidez. Queirós et al. (2015) sugieren en su estudio de jugo de cereza que el descenso constante de pH en el almacenamiento es debido a la probable fuga progresiva de ácidos orgánicos de los organelos celulares vegetales

a la matriz del jugo, quedando más expuestos, razón por la que también se observó un aumento en su acidez.

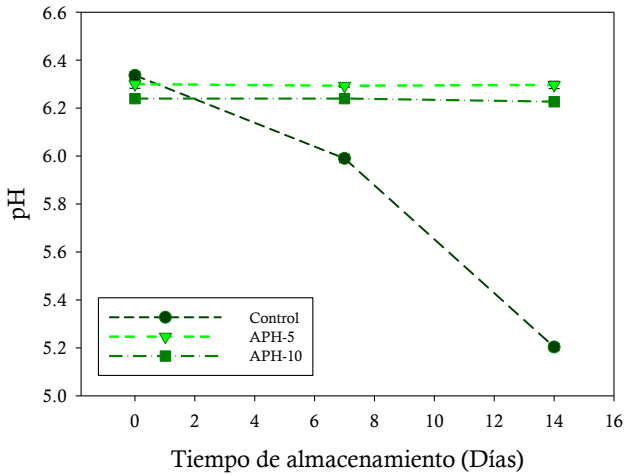


Figura 6. Variación con el tiempo del pH en jugo de betabel sometido a APH.

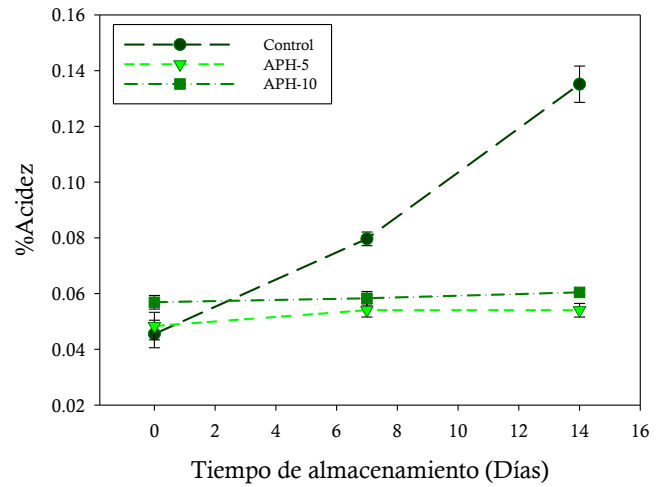


Figura 7. Variación con el tiempo del contenido de acidez (%) en jugo de betabel sometido a APH.

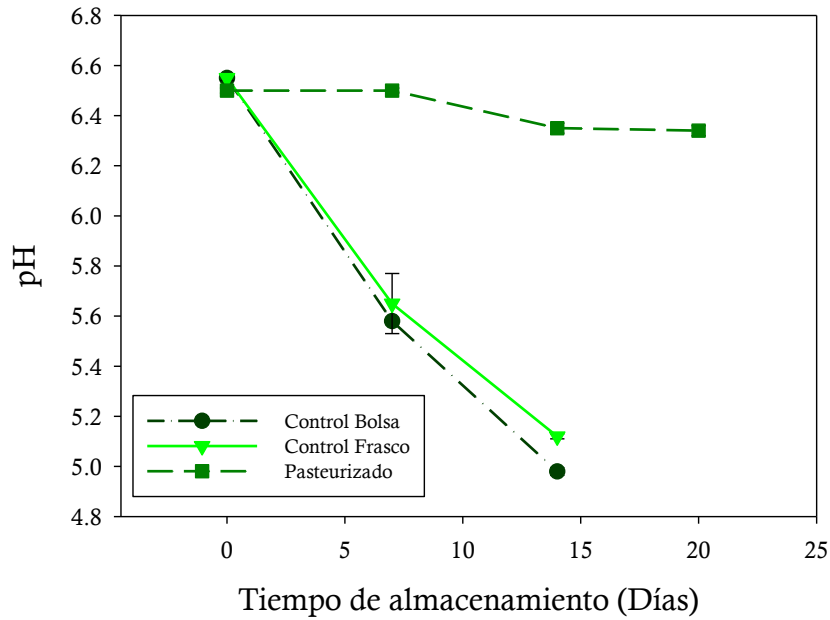


Figura 8. Variación con el tiempo del pH en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico.

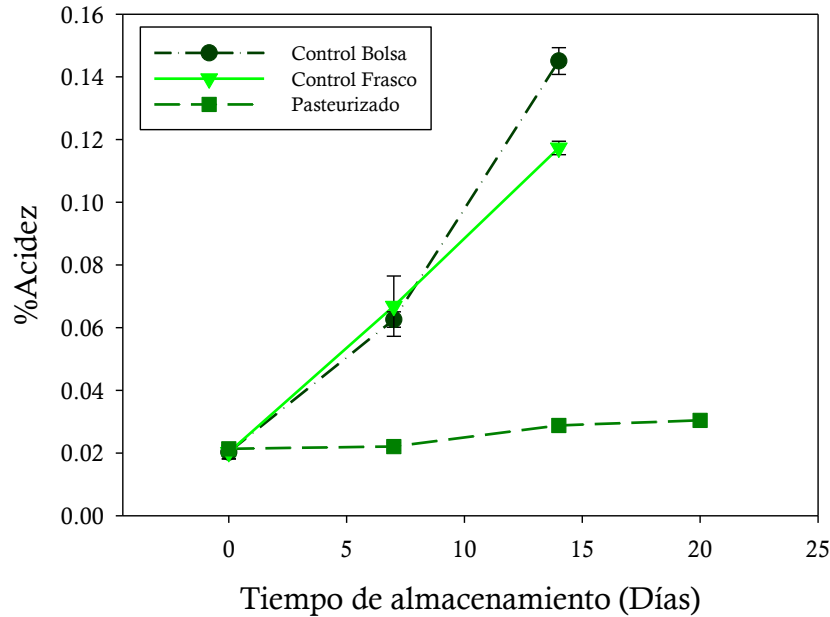


Figura 9. Variación con el tiempo del contenido de acidez (%) en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico.

La muestra control de jugo de betabel utilizada en el tratamiento térmico tuvo  $\text{pH } 6.55 \pm 0.01$ . La Figura 8 muestra que posterior al tratamiento térmico, al inicio del almacenamiento, el pH también disminuyó significativamente 0.05 unidades con respecto al control ( $p \leq 0.05$ ). Sin embargo, no hay diferencia significativa en el contenido de acidez (Figura 9). Durante el almacenamiento, el pH del jugo pasteurizado térmicamente mostró una disminución significativa y un aumento considerable de acidez hasta el día 14 de almacenamiento el cual se mantuvo sin cambio significativo hasta el día 21.

### 4.3 Sólidos solubles totales

Las muestras de jugo de betabel no presentaron cambios significativos ( $p \leq 0.05$ ) en el contenido de sólidos solubles totales después de haber sido sometidas al tratamiento térmico y por APH (Figuras 10 y 11).

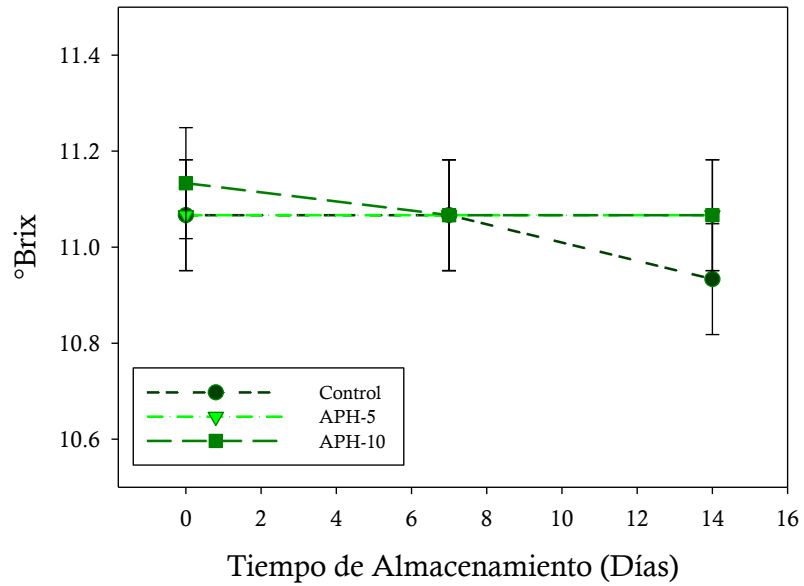


Figura 10. Variación con el tiempo del contenido de sólidos solubles totales (°Bx) en jugo de betabel sometido a APH.

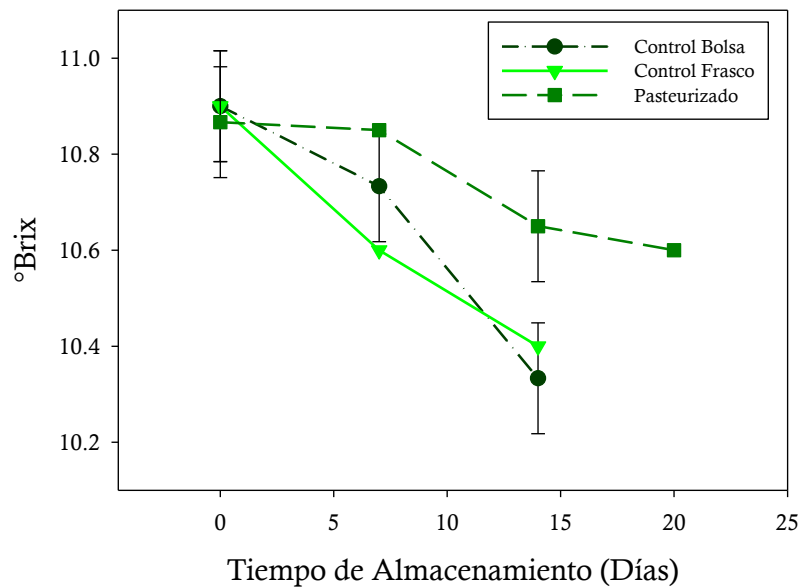


Figura 11. Variación con el tiempo del contenido de sólidos solubles totales (°Bx) en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico.

Estos resultados coinciden con reportes en la literatura para otros jugos y bebidas tratados por APH en condiciones similares a las de este estudio, como jugo de litchi con agua de coco y jugo de limón (Jayachandran et al., 2015), jugo de granada (Dong et al., 2013), jugo de cereza (Queirós et al., 2015) y jugo de arándano (Barba et al., 2013). Durante el almacenamiento, no se observaron cambios significativos en las muestras de jugo de betabel tratadas por APH. Sin embargo, el jugo pasteurizado y su control sí presentaron una disminución significativa de 0.22 y 0.5 grados respectivamente al día 14.

#### 4.4 Contenido de betalínas y retención de pigmento

Se hizo una identificación parcial del pigmento principal característico presente en el betabel, las betalínas, por medio de espectrofotometría se utilizó el método de Yizhong (1998 y 2001) para determinar las betacianinas y las betaxantinas sin necesidad de separarlas, ya que la estabilidad de ambas disminuye cuando esto ocurre. La cantidad de pigmento fue calculada con base en la ecuación de Lambert-Beer. Dada la distribución de las betalínas presentes en el betabel, se sabe que las betacianinas se encuentran en mayor proporción puesto que le imparten el color característico a este vegetal sin perder de vista que las betaxantinas también tienen una participación determinante. Se buscaron concentraciones de estos pigmentos presentes en el jugo de betabel, Wruss et al. (2015) reportan los valores mostrados en el Cuadro 8.

*Cuadro 8. Contenido promedio de pigmento presente en siete variedades de betabel  
(Adaptado de Wruss et al. 2015)*

<b>Pigmento (mg/L)</b>	
Betalína total	1103 ± 253
Betacianinas	705 ± 156
Betaxantinas	397 ± 100

De acuerdo con los datos obtenidos después de los respectivos tratamientos a los que fueron sometidas las muestras de jugo, Cuadro 9, el contenido de betacianinas disminuyó en ambos tratamientos por APH. Sin embargo, no es significativo y el contenido de las betaxantinas aumentó 9 %, siendo significativo en el tratamiento de APH-10 min. En la literatura no se reportan los efectos de las altas presiones sobre estos pigmentos. Sin embargo, hay estudios con

otros tipos de pigmentos, como las clorofilas (Chen et al., 2015), licopeno (Hsu, 2008), carotenos (Picouet et al., 2015) y antocianinas.

*Cuadro 9. Efecto del tratamiento térmico y APH en el contenido total de pigmentos en jugo de betabel (mg pigmento/L jugo) al día 0 de almacenamiento.*

<b>Pigmento</b>	<b>Control</b>	<b>Tratamiento térmico (65 °C-15 min)</b>	<b>Control</b>	<b>APH 400 MPa - 5 min</b>	<b>APH 400 MPa - 10 min</b>
<b>Betalaínas totales</b>	1464 ± 9.34	1311 ± 6.15	2210 ± 6.29	2255 ± 24.51	2259 ± 27.81
<b>Betacianinas</b>	875 ± 26.8	774 ± 18.6	1324 ± 13.64	1315 ± 53.82	1298 ± 42.19
<b>Betaxantinas</b>	589 ± 17.8	537 ± 21.2	886 ± 17.8	940 ± 32.4	961 ± 30.8

Chen et al. (2013) observaron en jugo de granada que las antocianinas son las responsables de impartir el color característico y que son sensibles a varios agentes. Se reportó que la mayoría de las antocianinas se polimerizaron durante el almacenamiento. Asimismo, que la disminución puede deberse a la oxidación y condensación de las antocianinas con los compuestos fenólicos, como el ácido ferúlico, lo que causó la pérdida del pigmento, pero la condensación de los productos es inestable y promovió su degradación en compuestos incoloros. Además, en otros estudios la pérdida de pigmento se promovió por la posible alta concentración de oxígeno absorbida por las partículas en la pulpa, así como por las enzimas remanentes en el jugo. Yang et al. (2012) sugirieron que una disminución de los compuestos antioxidantes se asocia con su oxidación química debido a la generación de radicales altamente reactivos que se producen en la etapa de presurización. No obstante, Hsu (2008) obtuvo resultados distintos para el contenido de licopeno cuantificado en jugo de tomate tratado por APH, el cual incrementó significativamente 56 %.

Consecutivamente (Figura 12), durante el almacenamiento (t = 14 días) en el jugo control y en el jugo tratado a APH-5 min y APH-10 min se observó una disminución significativa de betacianinas, 42, 45 y 61 % de retención, respectivamente, y betaxantinas, 64, 63 y 83 % de retención, respectivamente. Sokolowska et al. (2017) reportaron en su estudio de jugo de betabel tratado a APH bajo condiciones de 300, 400 y 500 MPa – 10 min que también hay una disminución de 11.3-12.2 % en el contenido de betacianinas y 7.7-8.9 % en el contenido de betaxantinas. No hay que perder de vista el hecho de que durante el envasado del jugo, el vacío

dentro de las bolsas no se lleva a cabo con una alta efectividad dada la naturaleza de la muestra, pudiendo quedar una concentración de aire mínima dentro del envase. Al entrar en contacto con el oxígeno se aceleran las reacciones de ruptura en la estructura de los pigmentos responsables de impartir el color rojo y amarillo que exhiben las betacianinas y betaxantinas respectivamente (Badui, 2006), afectándose el contenido en el jugo durante el almacenamiento. Estos resultados demuestran que las betaxantinas presentaron una mayor estabilidad a las altas presiones.

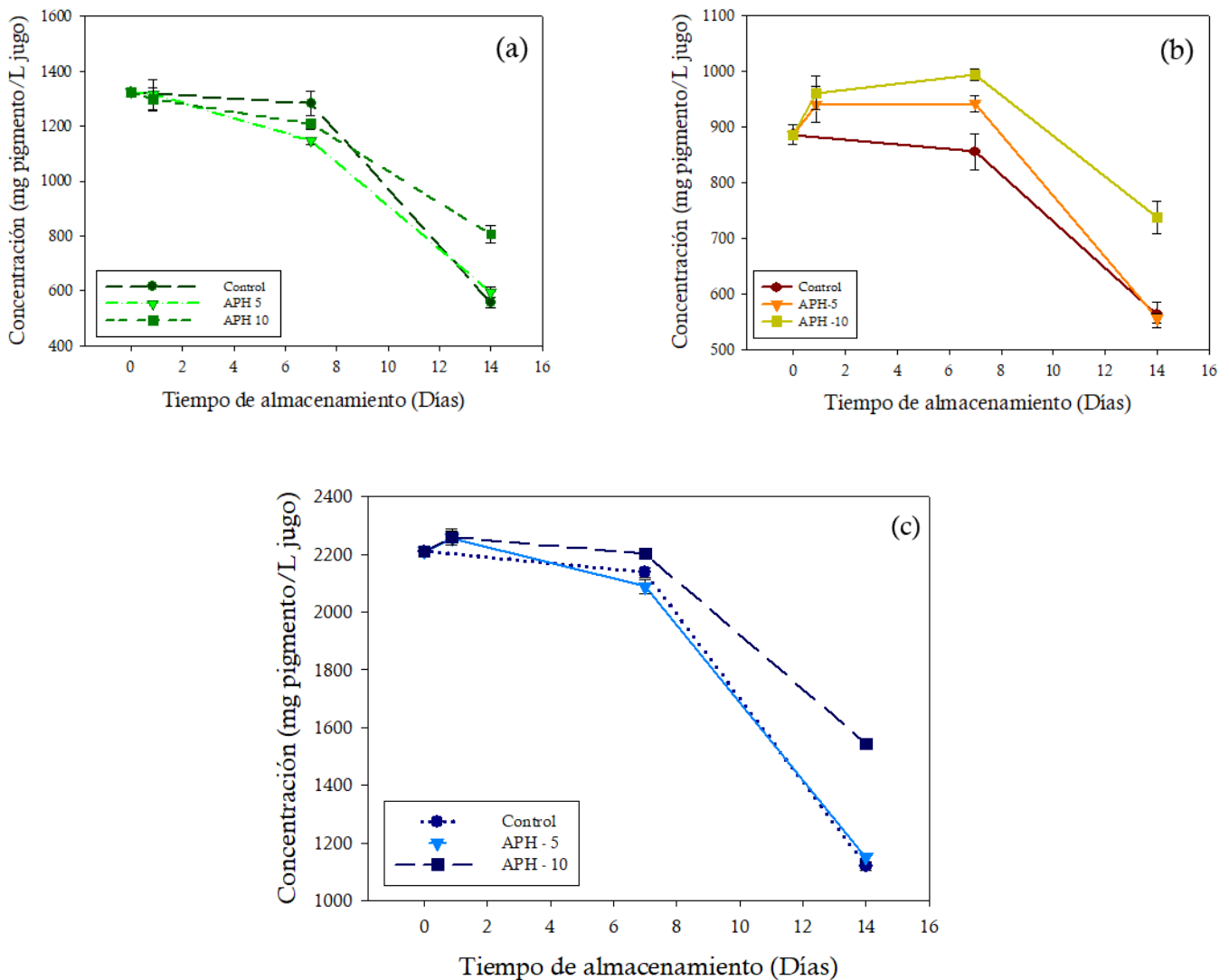


Figura 12. Variación con el tiempo del contenido de pigmento (a) betacianina, (b) betaxantina y (c) betalaína en jugo de betabel sometido a APH.

En el Cuadro 9 también se observan los resultados del contenido de pigmento antes y después del tratamiento térmico, el cual se ve más afectado en comparación con el tratamiento por APH. A  $t = 0$  días la retención de las betacianinas fue de 88 % y de las betaxantinas de 90 %. La temperatura puede ser considerada como el factor de influencia más importante en la estabilidad de las betalainas, tanto en el procesamiento como en el almacenamiento. La betalainas son pigmentos sensibles al calor que pierden estabilidad a altas temperaturas, se ha observado que a partir de 50-80 °C (Herbach et al., 2006). Se debe tener en cuenta que al pasteurizar, el jugo estuvo bajo condiciones de calentamiento por 15 min a una temperatura de 65 °C, aunado a esto en contacto con luz y oxígeno, factores que también influyen en los mecanismos de degradación de las betalainas.

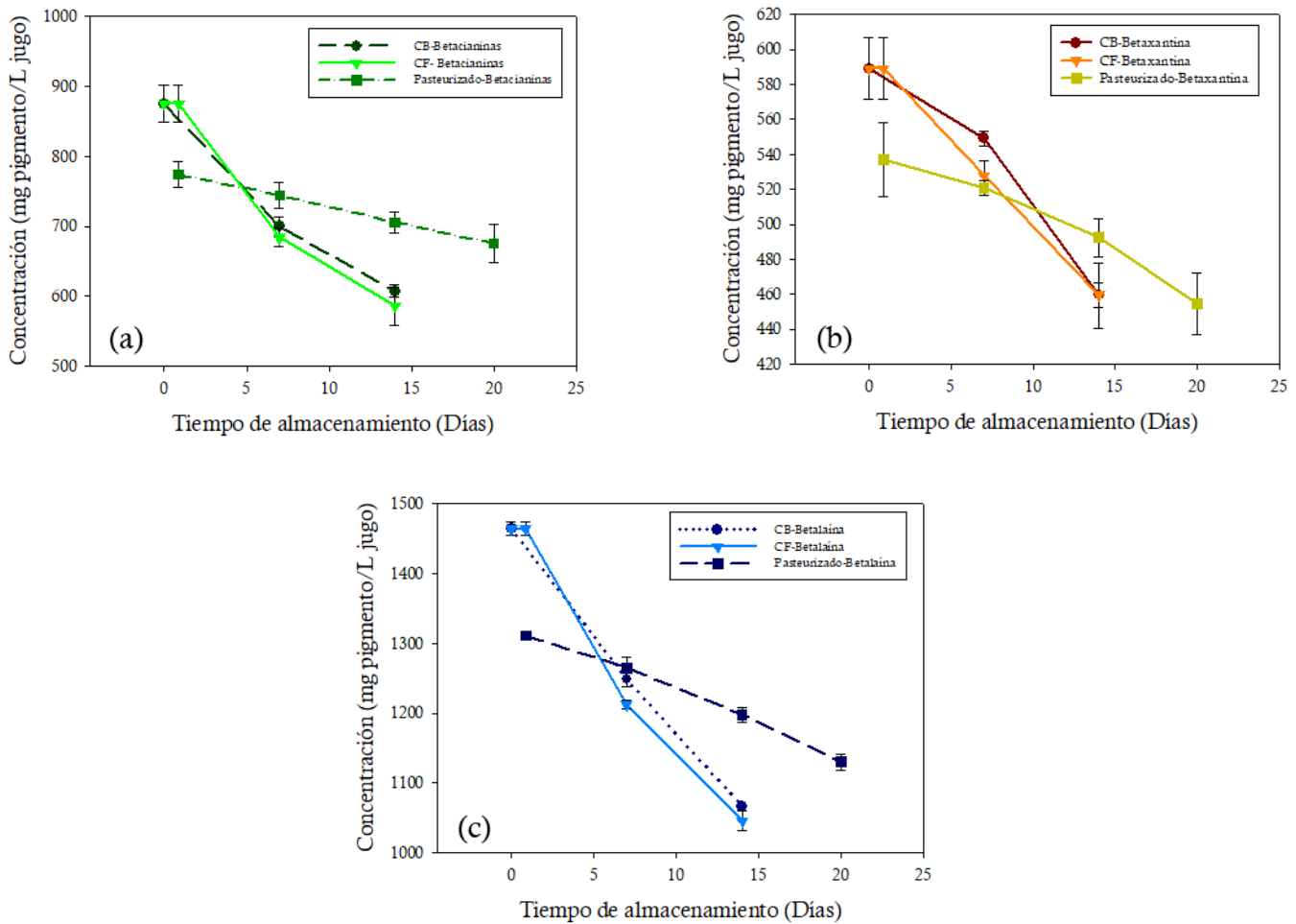


Figura 13. Variación con el tiempo del contenido de pigmento (a) betacianina, (b) betaxantina y (c) betalaina en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico.



Durante el almacenamiento (Figura 13) al día 14, el jugo control y el jugo tratado térmicamente presentaron una disminución significativa de betacianinas; 67 y 81 % de retención, respectivamente, y betaxantinas; 73 y 82 % de retención, respectivamente.

#### 4.5 Polifenoles totales

Dado que se cultivan muchas variedades de betabeles en el mundo, el contenido de polifenoles es diferente en cada una de ellas. Wruss et al. (2011) reportaron datos que varían de 0.9 a 1.3 g/L expresados en equivalentes de catequina, mientras que Wotton-Beard et al. (2011), determinaron 3025 µg FAE/mL expresados en equivalentes de ácido ferúlico. La disolución patrón empleada en cada caso fue diferente. Sin embargo, este dato ayuda a tener una estimación muy cercana con respecto a la concentración inicial que se puede encontrar en la muestra estudiada.

En la Figura 14, se observa la concentración inicial de polifenoles totales en el jugo de betabel (143.7 ± 3.7 mg GAE/100 mL), valor semejante al reportado en la literatura.

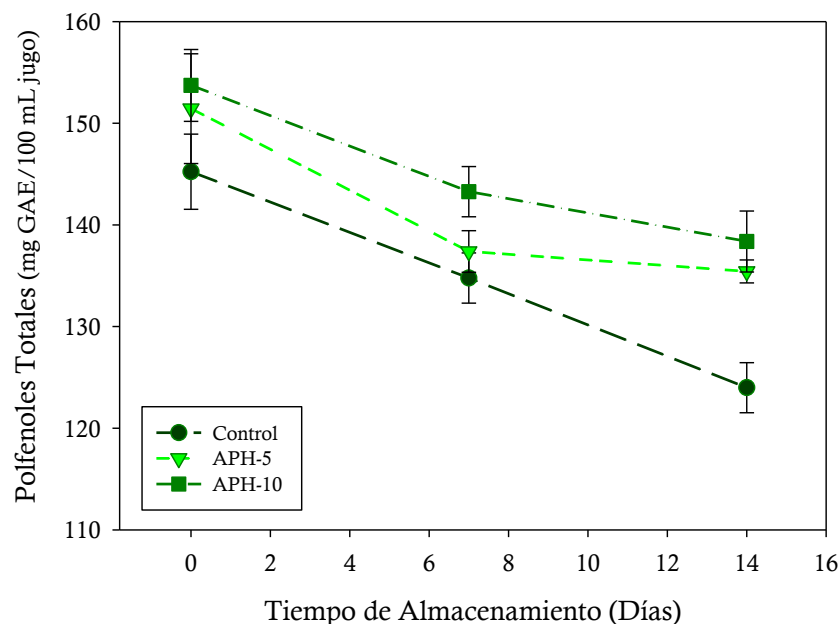


Figura 14. Variación con el tiempo del contenido de polifenoles totales en jugo de betabel sometido a APH.

Además, al inicio del almacenamiento el contenido de polifenoles totales aumentó significativamente 7 % con respecto al control ( $p \leq 0.05$ ), siendo el tratamiento de 10 min de mantenimiento de presión el que tuvo una mayor repercusión en comparación con el tratamiento de 5 min que únicamente tuvo un aumento de 5.4 %. Por el contrario, las muestras tratadas térmicamente (Figura 15) mostraron una disminución significativa de 9 %. Estos resultados son parecidos a los reportados en los estudios de Chen et al. (2013), Jayachandran et al. (2015) y Keenan et al. (2012) en condiciones similares de tratamiento.

Como ilustra el principio de Le Chatelier, durante el período de presurización, el volumen del sistema tiende a ser reducido, el disolvente de extracción entra en la célula para integrarse con componentes bioactivos y las células presurizadas muestran una permeabilidad aumentada. El aumento de los fenoles totales en la muestra tratada con APH puede estar relacionado con la disrupción de las células vegetales y un aumento de la capacidad de extracción de algunos compuestos antioxidantes (Dong et al., 2013).

El análisis estadístico muestra que entre los tratamientos por APH a 10 min y 5 min no hay diferencia significativa. Sin embargo, al séptimo día de almacenamiento hubo una disminución significativa de 11 y 12 %, respectivamente, posteriormente ya no hubo cambio significativo.

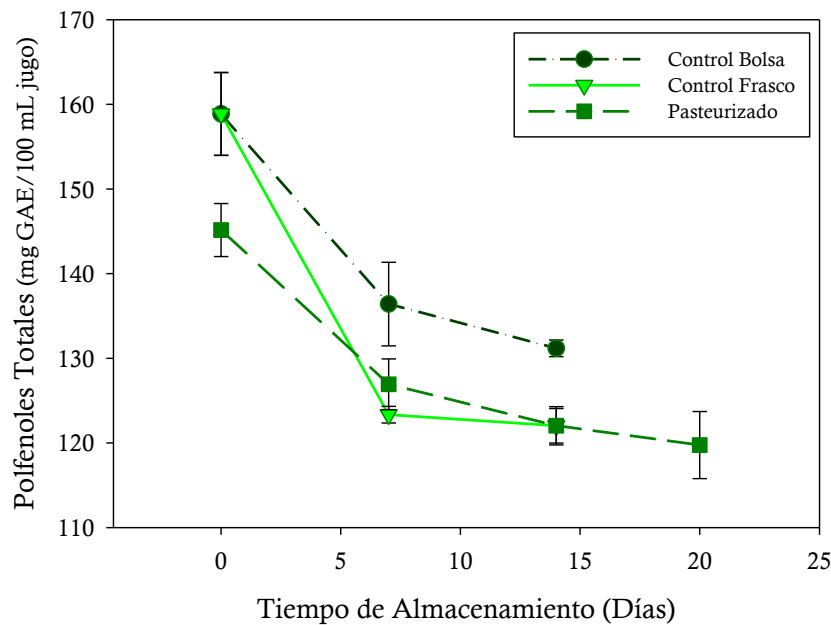


Figura 15. Variación con el tiempo del contenido de polifenoles totales en jugo de betabel sometido a tratamiento térmico

Este comportamiento fue similar en el jugo pasteurizado térmicamente, observándose una pérdida significativa de compuestos polifenólicos de 17%, consecutivamente ya no hubo cambio significativo. En comparación con otros artículos consultados, en los cuales se reporta que el contenido de polifenoles no cambia durante el periodo de almacenamiento posterior al tratamiento por alta presión o inclusive aumenta para un tratamiento de 400 MPa, 10 min (Ferrari et al., 2010), los resultados indican que sí hay una pérdida significativa de estos. Esta considerable disminución, puede ser debida a diversas cuestiones, algunos autores sugieren lo siguiente:

- El contenido de polifenoles totales puede decrecer por su envejecimiento natural debido a la polimerización, condensación y precipitación de los compuestos fenólicos, pero el tratamiento a alta presión hidrostática puede acelerar este envejecimiento. Asimismo, se asocia esta disminución con la generación de radicales altamente reactivos que se producen en la etapa de presurización y que realzan la oxidación química de los compuestos polifenólicos (Yang et al., 2012).
- Keenan et al. (2010) insinúan que en todos los productos batidos y bebidas durante el almacenamiento el contenido total de polifenoles es afectado debido a que el oxígeno proveniente del espacio de cabeza en el envase se puede difundir hacia el jugo creando especies de radicales libres que pueden oxidar compuestos antioxidantes y afectar los atributos de calidad con el tiempo.
- Queirós et al. (2015) mencionan que este decremento puede deberse al resultado de la actividad enzimática, principalmente polifenoloxidasas y peroxidasas, que usualmente no son inactivadas por APH y que están implicadas en reacciones oxidantes de compuestos fenólicos.

## Conclusiones

El tratamiento por APH 400 MPa-10 min redujo la carga microbiana inicial a niveles indetectables ( $< 1 \text{ Log UFC/mL}$ ) garantizando así la seguridad del jugo de betabel, pero al final del almacenamiento los jugos de betabel tratados por APH y térmicamente no lograron mantener la estabilidad biológica con respecto a los mesófilos aerobios. Se logró extender el tiempo de conservación a un periodo de catorce días en refrigeración en comparación con jugo no tratado en lo que respecta a la parte microbiológica.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, el pH, la acidez total, el contenido de polifenoles y de pigmento, presentaron modificaciones significativas posteriores al tratamiento térmico y por alta presión, así como durante el periodo de almacenamiento. El contenido de sólidos solubles totales no cambio significativamente con el tratamiento de APH, pero sí con el tratamiento térmico.

El jugo tratado por APH 400 MPa-10 min presentó un mayor porcentaje de retención de betalaínas totales y un aumento significativo en el contenido de polifenoles totales, manteniendo 89 % de su concentración inicial al final del almacenamiento en comparación con el tratamiento de APH 400 MPa-5 min.

En lo que respecta a las características sensoriales del jugo, no se hicieron pruebas que permitieran analizar cambios en los atributos del jugo, con respecto al sabor u aroma y como se modifican o permanecen durante el tiempo de almacenamiento del jugo. Sin embargo, durante el análisis de las muestras todavía se percibía notablemente el aroma característico de este producto después del tratamiento por alta presión y de catorce días de almacenamiento.

De acuerdo con los resultados obtenidos y reportados, aún no fue posible encontrar las condiciones adecuadas de tratamiento, tiempo de exposición y presión, que conduzcan a un mayor tiempo de conservación del jugo posterior al tratamiento de presurización.

Esta investigación sirve como base para la realización de otros proyectos en los cuales se encuentren las condiciones ideales que permitan alargar más días la vida de anaquel del producto y que conserve las características del jugo fresco.

## Referencias

- Academia del Área de Plantas Piloto de Alimentos (A.A.P.P.A.) (2004). *Introducción a la Tecnología de los Alimentos*. 2ª ed. México: Limusa, 54-55.
- Azeredo, H. (2009). Betalains: properties, sources, applications and stability - a review. *International Journal of Food Science & Technology* 44, 2365-2376.
- Badui, D. S. (2006). *Química de los Alimentos*. 4ª ed. México: Pearson Educación, 397-398.
- Barba, F., Córtes, C., Esteve, M. & Frígola, A. (2012a). Study of antioxidant capacity and quality parameters in an orange juice-milk beverage after high-pressure processing treatment. *Food and Bioprocess Technology* 5(6), 2222-2232.
- Barba, F., Esteve, M. & Frígola, A. (2012b). High pressure treatment effect on physicochemical and nutritional properties of fluid foods during storage: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11, 307-322.
- Barba, F., Esteve, M. & Frígola, A. (2013). Physicochemical and nutritional characteristics of blueberry juice after high pressure processing. *Food Research International* 50, 545-549.
- Barbosa-Cánovas, G.V., Pothakamury, U.R., Palou, E. & Swanson, B.G. (1999). *Conservación no térmica de alimentos*. 1ª ed. Zaragoza, España: Acribia, 10-47.
- Bayindirli, A., Alpas, H., Bozoğlu, F. & Hizal, M. (2006). Efficiency of high pressure treatment on inactivation of pathogenic microorganisms and enzymes in Apple, orange, apricot and sour cherry juices. *Food Control* 17, 52-58.
- Bello, J. (2000). *Ciencia Bromatológica: Principios Generales de los Alimentos*. 1ª ed. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 385, 388, 424-429.
- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B. & Velázquez, O. (2009). *Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos*. 2ª ed. México: Facultad de Química, UNAM; 75 - 92.
- Campus, M., Flores, M., Martínez, A. & Toldrá, F. (2008). Effect of high pressure treatment on color, microbial and chemical characteristics of dry cured loin. *Meat Science* 80, 1174-1181.

- Cao, X., Bi, X., Huang, W., Wu, J., Hu, X. & Liao, X. (2012). Changes of quality of high hydrostatic pressure processed cloudy and clear strawberry juices during storage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 16 181-190.
- Cheftel, J.C. (1995). High pressure, microbial inactivation and food preservation. *Food Science and Technology International* 1, 75-90.
- Chen, X., Quin, W., Ma, L., Xu, F., Jin, P. & Zheng, Y. (2015). Effect of high pressure processing and thermal treatment on physicochemical parameters, antioxidant activity and volatile compounds of green asparagus juice. *LWT-Food Science and Technology* 62, 927-933.
- Chuquimia, F., Alvarado, A., Peñarrieta, J., Bergenstahl, B. & Akesson, B. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y la cuantificación de compuestos polifenólicos y flavonoidicos de cuatro especies vegetales de la región Andina de Bolivia. *Revista Boliviana de Química* 25(1), 75-83.
- Clifford, T., Howatson, G., West, D.J., & Stevenson, E.J. (2015). The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease (Review). *Nutrients* 7(4), 2801-2822.
- Datta, N. & Deeth, H. (1999). High pressure processing of milk and dairy products. *Australian Journal of Dairy Technology* 54, 41-48.
- Doona, C.J. & Feeherry, F.E. (2007). Chapter 1: Introduction to High Pressure Processing of Foods. *High Pressure Processing of Foods*. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 1-10.
- Dong, C., Huping, X., Xingfeng, G., Zihan, Q., Xueli, P., Xiaosong, H., Xiaojun, L. & Jihong, W. (2013). Comparative study of quality of cloudy pomegranate juice treated by high hydrostatic pressure and high-temperature short time. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 19, 85-94.
- Ferrari, G., Maresca, P. & Ciccarone, R. (2010). The application of high hydrostatic pressure for the stabilization of functional foods: Pomegranate juice. *Journal of Food Engineering* 100, 245-253.
- Georget, E., Sevenich, R., Reineke, K., Mathys, A., Heinz, V., Callanan, M., Rauh, C. & Knorr, D. (2015). Inactivation of microorganisms by high isostatic pressure processing in complex matrices: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 27, 1-14.

- Gómez-Estaca, J., Montero, P., Giménez, B. y Gómez-Guillén, M.C. (2007). Effect of functional edible films and high-pressure processing on microbial and oxidative spoilage in cold-smoked sardine (*Sardina pilchardus*). *Food Chemistry* 105, 511-520.
- Herbach, K.M., Stintzing, F. & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation-structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science* 71(4), 41-50.
- Hui Zou, Tiantian Lin, Xiufang Bi, Liang Zhao, Yongtao Wang & Xiaojun L. (2016). Comparison of high hydrostatic pressure, high-pressure carbon dioxide and high-temperature short-time processing on quality of mulberry juice. *Food Bioprocess Technology*, 9, 217-231.
- Hogan, E., Kelly, A. & Sun, D. (2005). Chapter 1: High pressure processing of foods: An overview. *Emerging Technologies for Food Processing*. Italy: Elsevier Academy Press, 3-31.
- Houška, M., Strohalm, J., Kocurová, K., Totušek, J., Lefnerová, D., Třiska, J., Vrchotová, N., Fiedlerová, V., Holasova, M., Gabrovská, D. & Paulíčková, I. (2006). High pressure and foods-fruits/vegetable juices. *Journal of Food Engineering* 77, 386-398.
- Hsu, K. C. (2008). Evaluation of processing qualities of tomato juice induced by thermal and pressure processing. *LWT*, 41, 450-459.
- Huang, H., Lung, H., Yang, B. & Wang, C. (2013). Responses of microorganisms to high hydrostatic pressure processing. *Food Control* 40, 250-259.
- Jayachandran, L. E., Chakraborty, S. & Srinivasa Rao P. (2015). Effect of high pressure processing on physicochemical properties and bioactive compounds in litchi based mixed fruit beverage. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 28, 1-9.
- Juárez-Enriquez, E., Salmeron-Ochoa, I., Gutierrez-Mendez, N., Ramaswamy, H.S. & Ortega-Rivas, E. (2015). Shelf life studies on apple juice pasteurized by ultrahigh hydrostatic pressure. *LTW-Food Science and Technology* 62, 915-919.
- Keenan, D.F., Rößle, C., Gormley, R., Butler, R. & Brunton, N. (2012). Effect of high hydrostatic pressure and thermal processing on the nutritional quality and enzyme activity of fruit smoothies. *LWT – Food science and Technology* 45, 50-57.
- Knorr, D. (1999). Novel approaches in food-processing technology: new technologies for preserving foods and modifying function. *Current Opinion in Biotechnology* 10, 485-491.

- Koubaier, H., Snoussi, A., Essaidi, I., Chaabouni, M., Thonart, P. & Bouzouita, N. (2014). Betalain and phenolic compositions, antioxidant activity of Tunisian Red Beet (*Beta vulgaris L. conditiva*) roots and stems extracts. *International Journal of Food Properties* 17(9), 1934-1945.
- Ma, F., Bell, A. & Davis, F. (2015). Effects of high hydrostatic pressure and pH treatments on the emulsification properties of gum arabic. *Food Chemistry* 184, (114-121).
- Marañón-Ruiz, V.F., Rizo, L. & Chiu-Zarate, R. (2011). Caracterización de las propiedades ópticas de Betacianinas y Betaxantinas por espectroscopia UV-Visible y barrido en Z. *Superficies y Vacío* 24(4), 113-120.
- Matser, A., Krebbers, B., Van der Berg, R. & Bartels, P. (2004). Advantages of high pressure sterilization on quality of food products. *Trends in Food Science Technology* 15, 79-85.
- Medina-Meza, I.G., Barnaba, C. & Barbosa-Cánovas, G.V. (2014). Effects of high pressure processing on lipid oxidation: A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 22, 1-10.
- Michael, M. & Autio K. (2001). Capítulo 7: Effects of high pressure on protein- and polysaccharide-based structures. En: Hendrickx, M. y Knorr, D. eds. *Ultra-High Pressure Treatments of Foods*. EUA: Springer, 189-214.
- Ninfali, P. & Angelino, D. (2013). Nutritional and functional potential of Beta vulgaris cicla and rubra. *Fitoterapia* 89, 188-199.
- NMX-F-102-S-1978. Determinación de la acidez titulable en productos elaborados a partir de frutas y hortalizas. NORMA MEXICANA. DIRECCIÓN GENERAL DE NORMAS.
- Norma Oficial Mexicana NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias.
- Patterson, M., McKay, A., Connolly, M. & Linton, M. (2012). The effect of high hydrostatic pressure on the microbiological quality and safety of carrot juice during refrigerated storage. *Food Microbiology* 30, 205-212.
- Picouet, A., Sárraga, C., Cofán, S., & Belletti, N. (2015). Effects of thermal and high-pressure treatments on the carotene content, microbiological safety and sensory properties of acidified and non-acidified carrot juice. *LWT – Food science and Technology* 62, 920-926.



- Queirós, R.P., Rainho, D., Santos, M.D., Fidalgo, L., Delgadillo, I. & Saraiva, J. (2015). High pressure and thermal pasteurization effects on sweet cherry juice microbiological stability and physicochemical properties. *High Pressure Research: An International Journal* 35(1), 69-77.
- Rover, M. & Brown R. (2013). Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin – Ciocalteu method. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 104, 366-371.
- Sahu, J. (2014). *Introduction to Advanced Food Process Engineering*. 1ª ed. EUA: CRC Press, 152-177.
- Sánchez Basurto G., B. E. (2012). Aplicación de altas presiones isoestáticas para la conservación de cortes de carne de vacuno. Tesis Doctoral, Facultad de Química, UNAM.
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., De Ancos, B. & Cano, M. (2003). Vitamin C, provitamin A carotenoids and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 647-653.
- San Martín, M., Barbosa-Cánovas, G. & Swanson, B. (2002). Food processing by high hydrostatic pressure. *Food Science and Nutrition* 42, 627-645.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (SAGARPA). 2014. *Monografías* [En línea]. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/betabel/> [Último acceso el 15 de junio de 2015].
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, (SAGARPA). 2017. *Cierre de la producción agrícola* [En línea]. Disponible en: [http://nube.siap.gob.mx/cierre\\_agricola/](http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/) [Último acceso el 14 de julio de 2017].
- Segura Morales, E. (2015). Evaluación fisicoquímica en vinos blancos elaborados con adición de aminoácidos, enzimas y maceración de cítricos. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM.
- Sokolowska, B., Wozniak, L., Skapska, S., Porebska, I., Nasilowska, J. & Rzoska, S. (2017). Evaluation of quality changes of beetroot juice after high hydrostatic pressure processing. *High Pressure Research* 37, 214-222.
- Téllez, L., Ramírez, J., Pérez, L., Vázquez, M. & Simal, G. (2001). Aplicación de la alta presión hidrostática en la conservación de los alimentos. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 3(2), 66-80.

- Tesoriere, L., Butera, D., D'Arpa, D., Di Gaudio, F., Allegra, M., Gentile, C. & Livrea, M.A. (2003). Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low-density lipoproteins. *Free Radical Research* 37(6), 689-696.
- Uckoo, R., Jayaprakasha, G., Somerville, J., Balasubramanian, V. & Pinarte, M. (2013). High pressure processing controls microbial growth and minimally alters the levels of health promoting compounds in grapefruit (*Citrus paradise* Macfad) juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 18, 7-14.
- United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. 2017. *National Nutrient Database for Standard Reference Release*. [En línea]. (Actualizado a mayo de 2016). Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods> [Último acceso el 14 de julio de 2017].
- Vega-Gálvez, A., López, J., Torres-Ossandón, M., Galotto, M., Puente-Díaz, L., Quispe-Fuentes, I. & Di Scala, K. (2014). High hydrostatic pressure effect on chemical composition, color, phenolic acids and antioxidant capacity of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana* L.). *Food Science and Technology* 58, 519-526.
- Vulić, J., Čanadanović, J., Četković, G., Tumbas, V., Djilas, S., Četojević, D., & Čanadanović, V. (2012). Antioxidant and cell growth activities of beet root pomace extracts. *Journal of Functional Foods* 4, 670-678.
- Wootton-Beard, P., Moran, A. & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International* 44, 217-224.
- Wruss, J., Waldenberger, G., Huemer, S., Uygun, P., Lanzerstorfer, P., Müller, U., Höglinger, O. & Weghuber, J. (2015). Compositional characteristics of commercial beetroot products and beetroot juice prepared from seven beetroot varieties grown in Upper Austria. *Journal of Food Composition and Analysis* 42, 46-55.
- Yang, B., Jiang, Y., Wang, R., Zhao, M. & Sun, J. (2009). Ultra-high pressure treatment effects on polysaccharides and lignins of longan fruit pericarp. *Food Chemistry* 112, 428-431
- Yang, T., Sun, D., Górecki, A., Blaszczyk, W., Lamparski, G., Amarowicz, R., Fornal, J. & Jelinski, T. (2012). Effects of high hydrostatic pressure processing on the physicochemical

- and sensorial properties of a red wine. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 16, 409-416.
- Yen, G. & Lin, H. (1999). Changes in volatile flavor components of guava juice with high-pressure treatment and heat processing and during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 2082-2087.
- Yizhong, C., Sun, M., Schliemann, W. & Corke, H. (2001). Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigments from *Celosia argentea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 4429-4435.
- Yoon, K., Woodams, E. & Hang, Y. (2005). Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *LWT – Food science and Technology* 38, 73-75.
- Zhang, C., Trierweiler, B., Li, W., Butz, P., Xu, Y., Rufer, C., Ma, Y. & Zhao, X. (2011). Comparison of thermal, ultraviolet-c and high-pressure treatments on quality parameters of watermelon juice. *Food Chemistry* 126, 254-260.
- Zhao, L., Wang, Y., Wang, S., Li, H., Huang, W. & Liao, X. (2014). Inactivation of naturally occurring microbiota in cucumber juice by pressure treatment. *International Journal of Food Microbiology* 174, 12-18.

## Anexo

### Análisis Estadístico

Para determinar si estadísticamente el efecto del tratamiento térmico y de la Alta Presión Hidrostática aplicada a jugo de betabel y el tiempo de almacenamiento afecta los parámetros fisicoquímicos se realizó un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia de 0.05.

#### Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática no presentan cambio en el parámetro fisicoquímico después del tratamiento.

H<sub>1</sub>: Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática presentan cambio en el parámetro fisicoquímico después del tratamiento.

#### *Análisis de varianza – APH – pH.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.014289	2	0.00714444	33.84211	0.00054	5.143253
Dentro de los grupos	0.001267	6	0.00021111			
Total	0.015556	8				

#### *Análisis de varianza – APH – Acidez total.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.00021	2	0.00010518	5.777778	0.039922	5.143253
Dentro de los grupos	0.000109	6	1.8204E-05			
Total	0.00032	8				

#### *Diferencia mínima significativa - APH – pH.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST vs. Día 0 APH 10 min	0.0967	0.029	H <sub>1</sub>
Día 0 APH 10 min vs. Día 0 APH 5 min	0.0600	0.029	H <sub>1</sub>
Día 0 ST vs. Día 0 APH 5 min	0.0367	0.029	H <sub>1</sub>

#### *Diferencia mínima significativa - APH – Acidez total.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST vs. Día 0 APH 5 min	0.0114	0.009	H <sub>1</sub>
Día 0 APH 10 min vs. Día 0 APH 5 min	0.0085	0.009	H <sub>0</sub>
Día 0 ST vs. Día 0 APH 10 min	0.0028	0.009	H <sub>0</sub>

APH = Alta Presión Hidrostática ST = Sin tratamiento por APH

*Análisis de varianza – APH – °Brix.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.0088889	2	0.004444444	0.3333333	0.729	5.143253
Dentro de los grupos	0.08	6	0.013333333			
Total	0.0888889	8				

*Análisis de varianza – APH – Contenido de betalaina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	4423.502	2	2211.75084	4.693757	0.0592855	5.143253
Dentro de los grupos	2827.267	6	471.211165			
Total	7250.769	8				

*Análisis de varianza – APH – Contenido de betacianina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1116.0714	2	558.0357143	0.3442623	0.7218763	5.143253
Dentro de los grupos	9725.7653	6	1620.960884			
Total	10841.837	8				

*Análisis de varianza – APH – Contenido de betaxantina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	9071.8276	2	4535.913789	5.8776978	0.0385889	5.143253
Dentro de los grupos	4630.2963	6	771.7160547			
Total	13702.124	8				

*Análisis de varianza – APH – Contenido de polifenoles.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	198.177	2	99.0884916	5.576111	0.035611	4.737414
Dentro de los grupos	124.3913	7	17.77018			
Total	322.5682	9				

*Diferencia mínima significativa - APH*

*Contenido de betaxantina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST vs. Día 0 APH 10 min	75.4	55.5	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST vs. Día 0 APH 5 min	54.2	55.5	<b>H<sub>0</sub></b>
Día 0 APH 10 min vs. Día 0 APH 5 min	21.2	55.5	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - APH*

*Contenido de polifenoles.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST vs. Día 0 APH 10 min	10.04902	7.614	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST vs. Día 0 APH 5 min	7.761438	7.614	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 10 min vs. Día 0 APH 5 min	2.287582	8.140	<b>H<sub>0</sub></b>

APH = Alta Presión Hidrostática ST = Sin tratamiento por APH

De acuerdo al análisis realizado, se acepta la hipótesis nula para el siguiente caso:

Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática no presentan cambio en °Bx, el contenido de betalaina y de betacianina después del tratamiento.

Se acepta la hipótesis alternativa en el siguiente caso:

Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática presentan cambio en pH después del tratamiento.

Así mismo, después del tratamiento por APH – 5 min, hay cambio significativo en el contenido de polifenoles y en la acidez total.

Posterior al tratamiento APH – 10 min, hay cambio significativo en el contenido de betaxantina y el contenido de polifenoles.

## Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: Las muestras de jugo sometidas a tratamiento térmico no presentan cambio en el parámetro fisicoquímico después del tratamiento.

H<sub>1</sub>: Las muestras de jugo sometidas a tratamiento térmico presentan cambio en el parámetro fisicoquímico después del tratamiento.

*Análisis de varianza – TT – pH.*

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.004752	2	0.00237576	40.72727	6.4E-05	4.45897
Dentro de los grupos	0.000467	8	5.8333E-05			
Total	0.005218	10				

*Diferencia mínima significativa - TT – pH.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 CT	<b>0.0467</b>	<b>0.013</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Bolsa vs. Día 0 CT	<b>0.0467</b>	<b>0.013</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 ST Bolsa	<b>0.0</b>	<b>0.012</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

TT = Tratamiento térmico ST = Sin tratamiento térmico CT = Con tratamiento térmico

*Análisis de varianza – TT – Acidez total.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2.48E-06	2	1.2412E-06	0.363636	0.706067	4.45897
Dentro de los grupos	2.73E-05	8	3.4133E-06			
Total	2.98E-05	10				

*Análisis de varianza – TT – °Brix.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.002424	2	0.00121212	0.090909	0.91403	4.45897
Dentro de los grupos	0.106667	8	0.01333333			
Total	0.109091	10				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de betalaína.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	46835.12	2	23417.5615	331.0033	7.25E-07	5.143253
Dentro de los grupos	424.4833	6	70.7472			
Total	47259.61	8				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de betacianina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	20479.02	2	10239.5125	17.25373	0.00325	5.143253
Dentro de los grupos	3560.799	6	593.4666			
Total	24039.82	8				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de betaxantina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5374.253	2	2687.12641	7.446154	0.023686	5.143253
Dentro de los grupos	2165.246	6	360.87441			
Total	7539.499	8				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de polifenoles.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	502.3709	2	251.185441	13.04854	0.00219	4.256495
Dentro de los grupos	173.2507	9	19.250075			
Total	675.6216	11				

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Contenido de betacianina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 CT	<b>101.1905</b>	<b>48.673</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Bolsa vs. Día 0 CT	<b>101.1905</b>	<b>48.673</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 ST Bolsa	<b>0.0</b>	<b>48.673</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Contenido de betaxantina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 CT	<b>51.8375</b>	<b>37.955</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Bolsa vs. Día 0 CT	<b>51.8375</b>	<b>37.955</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 ST Bolsa	<b>0.0</b>	<b>37.955</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

TT = Tratamiento térmico    ST = Sin tratamiento térmico    CT = Con tratamiento térmico

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Contenido de betalaina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 CT	<b>153.028</b>	<b>16.805</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Bolsa vs. Día 0 CT	<b>153.028</b>	<b>16.805</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 ST Bolsa	<b>0.0</b>	<b>16.805</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa – TT*

*Contenido de polifenoles.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 CT	<b>13.7255</b>	<b>7.018</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Bolsa vs. Día 0 CT	<b>13.7255</b>	<b>7.018</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 ST Frasco vs. Día 0 ST Bolsa	<b>0.0</b>	<b>7.018</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

TT = Tratamiento térmico    ST = Sin tratamiento térmico    CT = Con tratamiento térmico

*De acuerdo al análisis realizado, se acepta la hipótesis nula para el siguiente caso:*

*Las muestras de jugo sometidas a tratamiento térmico no presentan cambio en la acidez total y °Bx después del tratamiento.*

*Se acepta la hipótesis alternativa en el siguiente caso:*

*Las muestras de jugo sometidas a tratamiento térmico presentan cambio en el pH, el contenido de polifenoles y en el contenido de pigmento (betaxantina, betacianina y betalaina) después del tratamiento.*



## Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática no presentan cambio en el parámetro fisicoquímico durante el almacenamiento.

H<sub>1</sub>: Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática presentan cambio en el parámetro fisicoquímico durante el almacenamiento.

### *Análisis de varianza – APH – 5 min – pH.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6.67E-05	2	3.33E-05	0.176471	0.842421	5.143253
Dentro de los grupos	0.001133	6	0.000189			
Total	0.0012	8				

### *Análisis de varianza – APH – 5 min – Acidez total.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6.47E-05	2	3.24E-05	2.666667	0.148382	5.143253
Dentro de los grupos	7.28E-05	6	1.21E-05			
Total	0.000138	8				

### *Análisis de varianza – APH – 5 min – °Brix.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1.388E-17	2	6.939E-18	5.204E-16	1	5.143253
Dentro de los grupos	0.08	6	0.0133333			
Total	0.08	8				

### *Análisis de varianza – APH – 5 min – Contenido de betalaina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2125485.34	2	1062742.67	2245.55998	2.3749E-09	5.143253
Dentro de los grupos	2839.58	6	473.26			
Total	2128324.93	8				

*Análisis de varianza – APH – 5 min – Contenido de betacianina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	850676.729	2	425338.365	381.10318	4.7645E-07	5.143253
Dentro de los grupos	66696.428	6	1116.0714			
Total	857373.158	8				

*Análisis de varianza – APH – 5 min – Contenido de betaxantina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	296838.637	2	148419.319	334.1625	7.0444E-07	5.143253
Dentro de los grupos	2664.91875	6	444.153125			
Total	299503.556	8				

*Análisis de varianza – APH – 5 min – Contenido de polifenoles.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	457.73	2	228.865	19.8426	0.002265	5.143253
Dentro de los grupos	69.204	6	11.534			
Total	526.934	8				

*Diferencia mínima significativa - APH - 5 min*

*Contenido de betalaina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 APH 5 min vs. Día 14	1104.31	43.47	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 APH 5 min vs. Día 14	937.02	43.47	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 5 min vs. Día 7	167.29	43.47	<b>H<sub>1</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - APH - 5 min*

*Contenido de betacianina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 APH 5 min vs. Día 14	720.24	66.75	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 APH 5 min vs. Día 14	550.59	66.75	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 5 min vs. Día 7	169.64	66.75	<b>H<sub>1</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - APH - 5 min*

*Contenido de betaxantina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 7 APH 5 min vs. Día 14	386.43	42.11	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 5 min vs. Día 14	384.07	42.11	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 5 min vs. Día 7	2.36	42.11	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - APH - 5 min*

*Contenido de polifenoles.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 APH 5 min vs. Día 14	16.013	6.785	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 5 min vs. Día 7	14.052	6.785	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 APH 5 min vs. Día 14	1.961	6.785	<b>H<sub>0</sub></b>

APH = Alta Presión Hidrostática

De acuerdo al análisis realizado, se acepta la hipótesis nula para el siguiente caso:

Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática no presentan cambio en pH, °Bx y acidez total durante el almacenamiento.

Se acepta la hipótesis alternativa en el siguiente caso:

Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática presentan cambio en el contenido de betalaína y betacianina durante el almacenamiento.

Así mismo, el contenido de betaxantina cambia significativamente después del día 7 del almacenamiento. Y el contenido de polifenoles cambia significativamente durante el almacenamiento, sin embargo después del día 7 ya no es significativo.

*Análisis de varianza – APH – 10 min – pH.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Probabilidad</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Entre grupos	0.000356	2	0.000178	4	0.078717	5.143253
Dentro de los grupos	0.000267	6	4.44E-05			
Total	0.000622	8				

*Análisis de varianza – APH – 10 min – Acidez total.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Probabilidad</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Entre grupos	1.92E-05	2	9.61E-06	2.111111	0.20222	5.143253
Dentro de los grupos	2.73E-05	6	4.55E-06			
Total	4.65E-05	8				

*Análisis de varianza – APH – 10 min – °Brix.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Probabilidad</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Entre grupos	0.0088889	2	0.0044444	0.3333333	0.729	5.143253
Dentro de los grupos	0.08	6	0.0133333			
Total	0.0888889	8				

*Análisis de varianza – APH – 10 min – Contenido de betalaína.*

<b>Origen de las variaciones</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>F</b>	<b>Probabilidad</b>	<b>Valor crítico para F</b>
Entre grupos	948049.51	2	474024.75	1419.4674	9.3807E-09	5.143253
Dentro de los grupos	2003.67	6	333.945			
Total	950053.18	8				

*Análisis de varianza – APH – 10 min – Contenido de betacianina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	410554.847	2	205277.423	198.077	3.3211E-06	5.143253
Dentro de los grupos	6218.112	6	1036.352			
Total	416772.959	8				

*Análisis de varianza – APH – 10 min – Contenido de betaxantina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	117156.49	2	58578.245	90.9569	3.2552E-05	5.143253
Dentro de los grupos	3864.13	6	644.022			
Total	121020.62	8				

*Análisis de varianza – APH – 10 min – Contenido de polifenoles.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	369.30	2	184.65	20.105	0.002189	5.143253
Dentro de los grupos	55.11	6	9.18			
Total	424.41	8				

*Diferencia mínima significativa - APH - 10 min*

*Contenido de betalaina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 APH 10 min vs. Día 14	714.92	36.51	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 APH 10 min vs. Día 14	658.62	36.51	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 10 min vs. Día 7	56.29	36.51	<b>H<sub>1</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - APH - 10 min*

*Contenido de betacianina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 APH 10 min vs. Día 14	491.07	64.32	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 APH 10 min vs. Día 14	401.78	64.32	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 10 min vs. Día 7	89.28	64.32	<b>H<sub>1</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - APH - 10 min*

*Contenido de betaxantina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 7 APH 10 min vs. Día 14	256.83	50.70	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 10 min vs. Día 14	223.84	50.70	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 10 min vs. Día 7	32.98	50.70	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - APH - 10 min*

*Contenido de polifenoles.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 APH 10 min vs. Día 14	15.36	6.06	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 APH 10 min vs. Día 7	10.46	6.06	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 APH 10 min vs. Día 14	4.90	6.06	<b>H<sub>0</sub></b>

APH = Alta Presión Hidrostática

De acuerdo al análisis realizado, se acepta la hipótesis nula para el siguiente caso:

Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática no presentan cambio en pH, °Bx y acidez total durante el almacenamiento.

Se acepta la hipótesis alternativa en el siguiente caso:

Las muestras de jugo sometidas a alta presión hidrostática presentan cambio en el contenido de betalaína y betacianina durante el almacenamiento.

Así mismo, el contenido de betaxantina cambia significativamente después del día 7 del almacenamiento. Y el contenido de polifenoles cambia significativamente durante el almacenamiento, sin embargo después del día 7 ya no es significativo.

## Planteamiento de hipótesis

H<sub>0</sub>: Las muestras de jugo sometidas a tratamiento térmico no presentan cambio en el parámetro fisicoquímico durante el almacenamiento.

H<sub>1</sub>: Las muestras de jugo sometidas a tratamiento térmico presentan cambio en el parámetro fisicoquímico durante el almacenamiento.

### Análisis de varianza – TT – pH.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.05706	2	0.02853	129.538	2.95E-06	4.7374
Dentro de los grupos	0.00154	7	0.00022			
Total	0.0586	9				

### Análisis de varianza – TT – Acidez total.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.00012	2	6.11E-05	25.6136	0.000602	4.7374
Dentro de los grupos	1.67E-05	7	2.38E-06			
Total	0.000139	9				

### Análisis de varianza – TT – °Brix.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.109697	2	0.054848	5.06294	0.03795	4.45897
Dentro de los grupos	0.086667	8	0.010833			
Total	0.196364	10				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de betalaina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	19442.99	2	9721.493	73.2777	6.08E-05	5.143253
Dentro de los grupos	795.99	6	132.6664			
Total	20239.98	8				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de betacianina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	7068.452	2	3534.226	11.4	0.00904	5.143253
Dentro de los grupos	1860.119	6	310.02			
Total	8928.571	8				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de betaxantina.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	3075.76	2	1537.88	7.91429	0.020767	5.143253
Dentro de los grupos	1165.902	6	194.317			
Total	4241.662	8				

*Análisis de varianza – TT – Contenido de polifenoles.*

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1061.435	2	530.7174	64.3291	3.12E-05	4.737414
Dentro de los grupos	57.750	7	8.25003			
Total	1119.185	9				

*Diferencia mínima significativa - TT – pH.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 TT vs. Día 14	<b>0.1558</b>	<b>0.027</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 TT vs. Día 14	<b>0.1525</b>	<b>0.027</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 TT vs. Día 7	<b>0.0033</b>	<b>0.028</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

TT = Tratamiento térmico

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Acidez total*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 TT vs. Día 14	<b>0.0075</b>	<b>0.0028</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 TT vs. Día 14	<b>0.0068</b>	<b>0.0028</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 TT vs. Día 7	<b>0.0007</b>	<b>0.0029</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - TT*

*°Brix.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 TT vs. Día 14	<b>0.2167</b>	<b>0.1833</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 TT vs. Día 14	<b>0.20</b>	<b>0.1697</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 TT vs. Día 7	<b>0.0167</b>	<b>0.1833</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Contenido de betacianina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 TT vs. Día 14	<b>68.452</b>	<b>35.179</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 TT vs. Día 14	<b>38.690</b>	<b>35.179</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 TT vs. Día 7	<b>29.762</b>	<b>35.179</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Contenido de betaxantina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 TT vs. Día 14	<b>44.769</b>	<b>27.851</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 TT vs. Día 14	<b>28.275</b>	<b>27.851</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 TT vs. Día 7	<b>16.494</b>	<b>27.851</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Contenido de betalaina.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 TT vs. Día 14	<b>113.221</b>	<b>23.013</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 TT vs. Día 14	<b>66.965</b>	<b>23.013</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 TT vs. Día 7	<b>46.256</b>	<b>23.013</b>	<b>H<sub>1</sub></b>

*Diferencia mínima significativa - TT*

*Contenido de polifenoles.*

Medias	Diferencia	DMS	
Día 0 TT vs. Día 14	<b>23.121</b>	<b>5.188</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 0 TT vs. Día 7	<b>18.219</b>	<b>5.188</b>	<b>H<sub>1</sub></b>
Día 7 TT vs. Día 14	<b>4.902</b>	<b>5.546</b>	<b>H<sub>0</sub></b>

TT = Tratamiento térmico

*De acuerdo al análisis realizado, se acepta la hipótesis alternativa para el siguiente caso:*

*Las muestras de jugo sometidas a tratamiento térmico presentan cambio en el contenido de betalaina.*

*Así mismo, el pH, la acidez total, °Brix, el contenido de betacianina y de betaxantina, cambian significativamente después del día 7 del almacenamiento. Y el contenido de polifenoles cambia significativamente durante el almacenamiento, sin embargo después del día 7 ya no es significativo.*