



# NUTRER

## Matriz

Calle 4 No.25-C  
Fracc. Ind. Alce Blanco, 53370  
Naucalpan, Estado de México  
Tel.: 1083.4500 Fax: 5358.9420  
Lada sin costo: 01800.022.2004

## Sucursal Monterrey

Av. Adolfo López Mateos  
No. 1099-A Bodega 3  
Col. Margarita Salazar, 64610  
San Nicolas de los Garza,  
Nuevo León, Monterrey  
Tel. / Fax: (0181) 8007.8000 al 05

## Sucursal Guadalajara

Volcán Vesubio No. 5387  
Col. El Colli, Urbano, 45070  
Zapopan, Jalisco  
Tel. / Fax: (0133) 1057.6770 al 75

Especialista en aditivos  
para la industria de alimentos

[www.nutrer.com.mx](http://www.nutrer.com.mx)



# Inactivación de *Escherichia coli* en

## Leche y Jugos de Durazno y Naranja con Presión Hidrostática Ultra Alta

C. Dogan<sup>1</sup> y O. Erkmen<sup>2,\*</sup>

La alta presión hidrostática es uno de los exponentes destacados entre los nuevos métodos de conservación. Cuenta con aplicaciones comerciales que lo colocan entre las tecnologías más promotoras. Este estudio refleja su potencial de aplicación en alimentos líquidos.



### Introducción

La tecnología de presión hidrostática ultra alta (UHHP) (200-1000MPa) es de gran interés para el procesamiento de alimentos porque permite la inactivación microbiana a temperaturas bajas o moderadas. El tratamiento con presión hidrostática alta tiene un costo energético bajo, es un proceso no térmico que inactiva los microorganismos dañinos en alimentos, mejora la seguridad alimentaria y la vida de anaquel de alimentos perecederos (Hoover et al., 1989; Hoover, 1993; Knorr, 1993; Ledward 1995; Patterson et al., 1995).

Las células bacterianas, hongos y levaduras son sensibles a la presurización debajo de 700MPa sin embargo, las esporas bacterianas, especialmente las especies de *Clostridium* son relativamente resistentes a ella. (Sale et al., 1970; Hoover et al., 1989; Knorr, 1993). Se sabe que la resistencia de los patógenos de alimentos varía con la cepa de las especies (Styles et al., 1991; Patterson et al., 1995; Hauben

et al., 1997; Alpas et al., 1999; Benito et al., 1999). Se ha demostrado que la aplicación de procesos a presión alta en jugos de frutas y purés son comercialmente viables (Freeman et al., 1995).

En este estudio, se expuso *Escherichia coli* en caldo a UHHP para determinar muerte y efectos dañinos. Se estudió también la supervivencia de bacterias aeróbicas y *E. coli* sujetas a tratamiento UHHP en leche cruda, jugo de manzana y jugo de durazno.

### Materiales y Métodos

#### Microorganismos y Muestras

#### Medios y Cultivos

Se obtuvo *Escherichia coli* KUEN 1504 del Microorganisms Culture Collection Research and Applied Center, Facultad de Medicina, Universidad de Estambul, Turquía. Esta cepa se cultivó en un caldo de infusión de cerebro corazón (BHIB; Difco, Detroit, MI, USA) a 37°C durante 18 horas y se transfirió a un caldo fresco cada 48 horas para su uso. La cepa se mantuvo en agar de infusión cerebro corazón (BHIA; Difco, Detroit, MI, USA) a -27°C.

<sup>1</sup> Departamento de Ingeniería Mecánica, <sup>2</sup> Departamento de Ingeniería de Alimentos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Gaziantep, 27310 Gaziantep, Turquía.



### Preparación y Crecimiento de Suspensiones Celulares para Presurización

Se inoculó un volumen de 0.1ml de un cultivo de *E. coli* en BHIB (pH = 6.80) por duplicado y se incubó a 37°C durante 18 horas (cultivo joven). El cultivo viejo de *E. coli* se obtuvo incubando *E. coli* en BHIB a 37°C durante 5 días. Los cultivos jóvenes y viejos se diluyeron usando BHIB estéril para obtener una concentración celular de aproximadamente  $5.62 \times 10^7$  (ufc/ml) para utilizarlos en tratamientos de presión.

Se preparó la siguiente reserva de cultivo y se utilizó para la inoculación en alimentos: 100ml de cultivo *E. coli* BHIB 18h (cultivo joven) se centrifugo a 4000 x g durante 30 min bajo condiciones asépticas. Las células se suspendieron en 10 ml de una solución fisiológica salina estéril (PS; 0.85 NaCl; pH = 6.80) y se centrifugo, después se volvió a suspender en 10 ml de PS. Aproximadamente se añadió 1% (v/v) de cultivo celular en PS a 100 ml de leche cruda (pH = 6.64), jugo de durazno fresco (pH = 5.21) y jugo de naranja fresco (pH = 3.55). El número final de *E. coli* generalmente estuvo en el rango de  $1.4 \times 10^6$  hasta  $9.7 \times 10^6$  unidades formadoras de colonias (ufc) por ml. La leche cruda sin inoculación de *E. coli* (con  $7.82 \times 10^4$  ufc por ml de flora natural) se utilizó como control.

Los cultivos utilizados en todos los experimentos se prepararon en fresco con el mismo procedimiento.

### Tratamiento a Presión Hidrostática Alta

#### Equipo

Un recipiente de presión hidrostática (diámetro interno 4 cm; largo 12 cm; máxima tolerancia de presión 1500 MPa) con un volumen interno de 150 cm<sup>3</sup> y una unidad hidráulica (Kon-hidroliksan; presión hidráulica e industria manufacturera, Inc., Konya Turkía).



## Purificadores de agua por medio de luz ultravioleta

Calidad, Confianza, Garantía y Servicio

Equipos desde 4 hasta 1500 litros por minuto, además contamos con:

- Portacartuchos
  - Cartuchos Filtrantes
  - Lámparas Germicida
  - Filtros Multicapa
  - Filtros Carbón Activado
  - Suavizadores
  - Desmineralizadores
  - Osmosis Inversa
  - Generadores de Ozono
  - Plantas Embotelladoras y mucho más...
- Somos Fabricantes**

Tel: (777) 380-0791

Fax sin costo: 01800-202-3845

e-mail: info@instapura.com.mx

Subida a Chalma 2044, Lomas Tetela

62158, Cuernavaca, Mor. México

[www.instapura.com.mx](http://www.instapura.com.mx)



Estas son algunas compañías que han confiado la calidad de su agua en nuestros equipos:



Las razones sociales que aparecen son marcas registradas o nombres comerciales de sus respectivas compañías.



Crédito de Foto ARS-USDA

#### Tratamiento a Presión Hidrostática Ultra Alta

Se colocaron diez mililitros de cada muestra en una bolsa de polietileno estéril (esterilizadas con  $H_2O_2$  al 0.1%; 5.5 x 4.0 cm). Las bolsas se sellaron después de eliminar el aire de adentro y se colocaron en un recipiente a presión hidrostática en un equipo de alta presión. Se generaron niveles de UHHP utilizando agua desionizada presurizada con una bomba. Las muestras se presurizaron de 200 a 700 MPa a 25°C a tiempos diferentes. Los rangos de incremento de presión y de depresurización fueron de aproximadamente 100 a 200 MPa/s, respectivamente.

El tiempo de presurización reportados en este estudio no incluyen los tiempos de presión y depresurización. La presión se midió con un registrador instalado en el equipo.

Inmediatamente después de la presurización, los frascos se sacaron, enfriaron en un baño de hielo y se utilizaron para enumerar (dentro de aproximadamente 3 min después de la presurización) las células viables (ufc/ml).

#### Cuenta Microbiana

Las bolsas con suspensiones celulares control y las presurizadas se diluyeron en serie en agua peptonada 0.1%

(Difco, Detroit, MI, USA). Se utilizó el medio agar no selectivo BHIA en la cuenta de las células viables de *E. coli* en BHIB tratado a presión. El medio agar selectivo de bilis rojo violeta (VRBA; Difco, Detroit, MI, USA) también se usó para contar células de *E. coli* viables a 300 MPa.

BHIA y VRBA también se usaron para contar las bacterias aeróbicas viables y *E. coli*, respectivamente, de leche, jugo de durazno y jugo de naranja (Erkmen, 2000). Cada experimento se realizó tres veces con bolsas por duplicado, en días por separado, los resultados son el promedio de estos valores. La diferencia entre las cuentas viables (a 300 MPa) en BHIA y VRBA se usaron para estimar el daño celular (Erckmen, 2000). La diferencia entre las cuentas viables en BHIA de células viejas (5 días de cultivo) y células jóvenes (18 h de cultivo) se utilizaron para comparar la resistencia de las células dependiendo de la edad.

#### Análisis Estadístico

El análisis de la varianza se realizó con los datos obtenidos a diferentes estados del tratamiento UHHP con el software Statgraphics 2.0 (Stsc., Inc., Rockville, Md).

#### Resultados y Discusión

La reducción en la población de *E. coli* en BHIB a 200 MPa fue de aproximadamente 0.2 unidades log después de 1 min de presurización, mientras que fue de 0.65, 0.97, 1.52, 2.32 y 2.86 unidades log a 300, 400, 500, 600 y 700 MPa respectivamente (Figura 1).

**Tabla 1.** Inactivación de células jóvenes y viejas de *E. coli* (log ufc) y daño celular después del tratamiento UHHP a 300 MPa.

Tiempo (min)	NSC (Células Jóvenes)	SC	Daño <sup>a</sup> (%)	Células Viejas(%)	Resistencia <sup>b</sup>
1	7.12	7.08	8.8	7.27	29.2
3	6.7	6.04	78.1	6.89	35.6
5	6.0	4.32	97.9	6.45	64.5
10	4.9	3.54	95.6	5.58	79.1
15	4.24	2.45	98.3	4.67	62.8
20	3.8	1.92	99.9	4.0	36.9
30	2.36	0.98	95.8	3.12	82.6
45	1.21	NG	100	2.12	87.7
50	0.56	NG	100	1.56	90.0
60				0.67	100
<b>70</b>					

<sup>a</sup> Número inicial de *E. coli* en el rango de  $2.6 \times 10^7$  hasta  $7.2 \times 10^7$ ; NSC = cuenta no seleccionada; SC = Cuenta Seleccionada. <sup>b</sup> Porcentaje de resistencia de células viejas después de sustraerlas de células jóvenes sobrevivientes.



## Brinde salud a sus alimentos de manera natural

Fibregum, es una fibra vegetal con propiedades bifidogénicas. Resultado del exudado natural del árbol de acacia y purificada por medios físicos,

Fibregum es un arabinogalactosacárido y contiene más del 80% de fibra soluble (Método AOAC). Su alta capacidad bifidogénica y su excelente tolerancia gastrointestinal, han sido evaluados tanto en estudios *in Vitro* como *in Vivo*

Fibregum puede ser empleada en un gran número de aplicaciones, con numerosas propiedades y ventajas tecnológicas,

Fibregum es la mejor selección de fibra bifidogénica natural, para el desarrollo de productos saludables.



Magdalena 20 Col. Del Valle  
México, D.F. C.P. 03100  
Tels. 5687 5828, 5687 4879  
5536 8383, 5148 3098  
5148 3099 Fax: 5543 4145

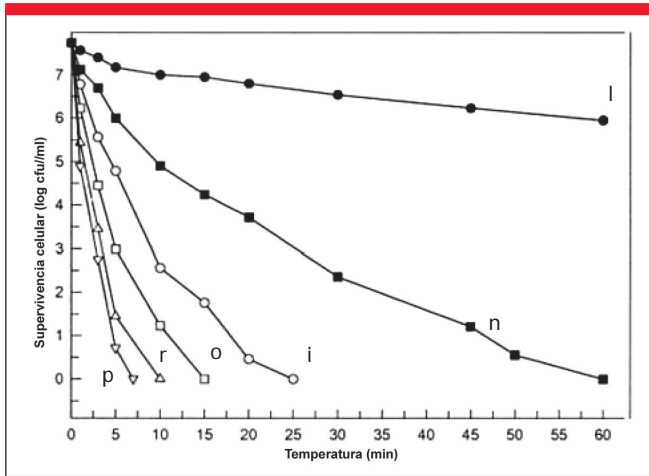


Av. Pompéia 2289 CEP 05023-  
001 São Paulo SP Brasil  
Tel./Fax: (55) (11) 3862 2028

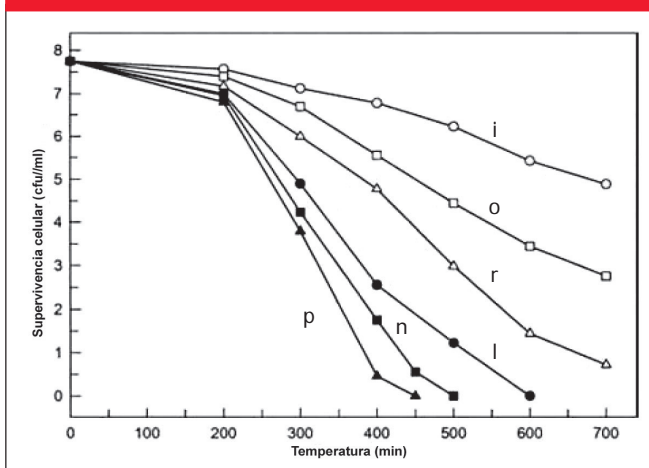
El BHIB se esterilizó después de 10 minutos de presurización a 600 MPa (p. ej., no hubo células sobrevivientes en la placa con 1 ml de muestra tratada no diluida) sin embargo, aproximadamente 2.56 y 1.23 unidades log sobrevivieron a 400 y 500 MPa. Al aumentar la presión disminuyó el tiempo requerido para inactivar el mismo número de células.

Al aumentar el tiempo de presurización de 1 a 10 min se redujo la población a menos de 0.75 unidades log a 300 MPa. Pero el aumento de presión de 300 a 700 MPa disminuyó cerca de 2.86 unidades log en 1 minuto. Los resultados mostraron que a un rango de presión moderada, el tiempo de presurización no aumenta en gran medida la muerte celular (Préstamo et al., 1999; Alpas et al., 2000).

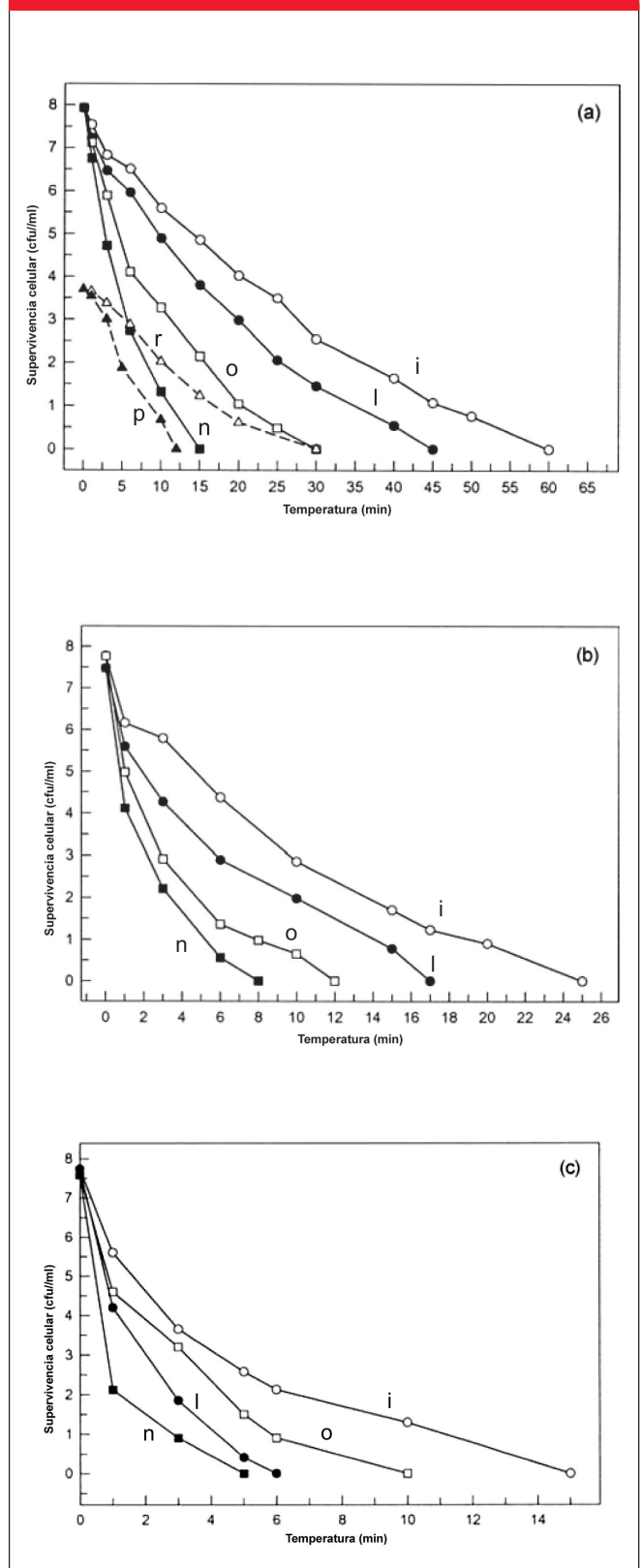
**Figura 1.** Efecto de presión hidrostática alta de 200 a 700 MPa en *E. coli* en BHIB vs tiempo. (l) 200 MPa, (n) 300 MPa, (j) 400 MPa, (o) 500 MPa, (r) 600 MPa, (p) 700 MPa.



**Figura 2.** Inactivación de *E. coli* en BHIB como función de la presión a diferentes tiempos: (j) 1 min; (o) 3 min; (r) 5 min; (l) 10 min; (n) 15 min; (p) 20 min.



**Figura 3.** Efecto de presión hidrostática alta a 400 y 600 MPa en bacterias aeróbicas y *E. coli* a diferentes tiempos. (a) Leche cruda; (b) jugo de durazno fresco; (c) jugo de naranja fresco; (j) 400 MPa (APC); (l) 400 MPa (*E. coli*); (o) 600 MPa (APC); (n) 600 MPa (*E. coli*); (r) 400 MPa (flora de leche natural); (p) 600 MPa (flora de leche natural).





## INGREDIENTES FUNCIONALES DE MEXICO, S.A. DE C.V

ALTA TECNOLOGIA EN PRODUCTOS ESPECIALIZADOS QUE IMPULSAN SOLUCIONES INTEGRALES PARA APLICACIONES Y DESARROLLOS DE LACTEOS, GRASAS, CONFITERIA, CHOCOLATE, PANIFICACION, PASTELERIA, CARNICOS, JUGOS, BEBIDAS Y MUCHO MAS EN LA INDUSTRIA DE ALIMENTOS

### REPRESENTANTES DE:

- PALSGAARD® *Con experiencia y liderazgo en la producción y desarrollo de emulsificantes, estabilizantes y sistemas integrados*
- PROLIANT *Como respaldo de calidad en proteínas de suero, lactosa, plasma, proteínas funcionales de cerdo, células rojas y extractos de pollo, cerdo y res*
- KEMIRA *Con dióxido de titanio grado FDA*
- GUMIX *Con calidad garantizada en gomas como: GUAR, XANTAN, TRAGACANTO Y ARABIGA*
- BELL FLAVORS AND FRAGRANCES, INC. *Que desarrolla y produce tecnología de vanguardia en sabores*
- BIOCOLOR *La mejor tecnología en colores naturales*
- PRODUCTOS NATURALES COMO: *Deshidratados, fibras, conservadores y antioxidantes*

*¡ compromiso de confianza !*



MEDELLIN No. 281 P.B. COL. ROMA •06700 MEXICO, D.F.  
TEL/FAX: 5564-0593•5574-6463•5584-6643  
ATENCION A CLIENTES TEL: 5264-0743  
E-mail: ifmex@prodigy.net.mx



Parece ser que la presurización durante mayor tiempo a un rango menor de presión puede no ser una gran ventaja para la inactivación microbiana.

Los efectos de UHHP a 300 MPa en células viejas (cultivadas 5 días) y células jóvenes (cultivadas 18h) de *E. coli*, y el daño celular (Tabla 1, pág 8) mostraron que cerca de 3.75 y 4.03 unidades log de células viejas y jóvenes, respectivamente se inactivaron después de 20 min de tratamiento bajo presión. Hubo diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre la sensibilidad de células viejas y jóvenes a la presión. La presurización induce daño celular, como se ve al comparar las cuentas de células viables en un medio no selectivo y un medio selectivo. Los resultados indicaron la presencia de células dañadas las cuales fueron capaces de crecer en 18 h en un medio no selectivo después del tratamiento con presión, pero no en un medio selectivo.

Hubo diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) en la inactivación de *E. coli* durante los tratamientos con presión (Figura 2, pág. 10). La sensibilidad de *E. coli* al aumentar la presión fue mayor que el aumento de tiempo de exposición. Sin embargo, no hubo una relación proporcional entre el aumento en presión y la reducción de la población bacteriana (Figura 1, pág. 10). El tratamiento a baja presión no fue muy eficiente pero sobre 600 MPa cambió significativamente.

La Leche cruda, jugo de durazno y jugo de naranja se sometieron a tratamientos de presión de 400 y 600 MPa (Figura 3, pág. 10). Después de 10 min a 400 MPa, sobrevivieron cerca de 5.27 y 4.89 unidades log de bacterias aeróbicas y *E. coli*, respectivamente en leche cruda, mientras que aproximadamente 3.27 y 1.32 unidades log de bacterias aeróbicas y *E. coli* sobrevivieron a 600 MPa.

La leche se esterilizó después de 60 y 45 min a 400 y 600 MPa, respectivamente. El jugo de naranja se esterilizó después de 15 y 10 min a 400 y 600 MPa respectivamente mientras que el jugo de durazno se esterilizó después de 25 y 12 min, respectivamente. El efecto de inactivación de UHHP en bacterias aeróbicas y *E. coli* fue mayor en jugo de naranja que en jugo de durazno y leche, debido a un efecto sinérgico con el pH (3.55) en tratamientos bajo presión. Mackey *et al.*, (1995) determinaron que la reducción de pH en el medio causó un aumento progresivo en la sensibilidad de las células a la presión.

La resistencia de la bacteria a tratamientos bajo presión fue mayor en leche, siguiéndole el jugo de durazno y el jugo de naranja, debido ésta a la composición de la leche. La composición química de los alimentos afectan significativamente ( $P < 0.01$ ) la respuesta de la bacteria a la presión (Figura 1 y 3 (a)-(c)).

Algunos compuestos de los alimentos como las proteínas, carbohidratos, lípidos, aminoácidos y vitaminas, ejercen un efecto protector en la inactivación microbiana (Patterson *et al.*, 1995). Por esto es importante evaluar las condiciones de proceso en los alimentos de interés en lugar de extrapolar datos de otros sustratos.

La presurización no afectó de manera importante la morfología celular (Wuytack *et al.*, 2000). No obstante, ocurrieron algunos daños físicos, como se reflejó en la aparición de brotes en la superficie celular, la integridad de la membrana se perdió en la mayor parte de la población celular y disminuyó en el potencial de la membrana (Pagan y Mackey, 2000; Ritz *et al.*, 2002; Wuytack *et al.*, 2002).

## Referencias

- Alpas H., Kalchayanand N., Bozoglu F. and Ray B. (2000). Interactions of high hydrostatic pressure, pressurization temperature and pH on death and injury of pressure-resistant and pressure-sensitive strains of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology* 60: 33–42.
- Alpas H., Kalchayanand N., Bozoglu F., Sikes A., Dunne C.P. and Ray B. (1999). Variation in resistance to hydrostatic pressure among strains of food-borne pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 65(9): 4248–4251.
- Benito A., Ventoura G., Casadei M., Robinson T. And Mackey B. (1999). Variation in resistance of natural isolates of *Escherichia coli* O157 to high hydrostatic pressure, mild heat and other stresses. *Applied and Environmental Microbiology* 65(4): 1564–1569.
- Erkmen O. (2000). *Basic Methods for the Microbiological Analysis of Foods*. Gaziantep: University of Gaziantep Press.
- Freeman M. A. and Freeman A.J. (1995). Laboratory scale high pressure food processors. In: Ledward D.A., Johnston D.E. and Earnshaw R.G (eds), *High Pressure Processing of Foods*. Nottingham: Nottingham University Press. pp. 155–165.
- Hauben K.J.A., Bartlett D.H., Soontjens C.C.F., Cornelis K., Wuytack E.Y. and Michiels C.W. (1997). *Escherichia coli* mutants resistance to inactivation by high hydrostatic pressure. *Applied and Environmental Microbiology* 63(3): 945–950.
- Hoover D.G. (1993). Pressure effects on biological systems. *Food Technology* 47(6): 150–155.
- Hoover D.G., Metrick C., Papineau A.M., Farkas D.F. and Knorr D. (1989). Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technology* 43(3): 99–107.



Knorr D. (1993) Effects of high hydrostatic pressure processes on food safety and quality. *Food Technology* 47(6): 156–161.

Ledward D.A. (1995). High pressure processing the potential. In: Ledward D.A., Johnston D.E. and Earnshaw R.G. (eds.), *High Pressure Processing of Foods*. Nottingham: Nottingham University Press. pp. 1–5.

Mackey B.M., Forestiera K. and Isaacs N. (1995). Factors affecting the resistance of *Listeria monocytogenes* to high hydrostatic pressure. *Food Biotechnology* 9(1/2): 1–11.

Pagan R. and Mackey B. (2000). Relationship between membrane damage and cell death in pressure-treated *Escherichia coli* cells: difference between exponential- and stationary phase cells and variation among strains. *Applied Environmental Microbiology* 66: 2829–2834.

Patterson M.F., Quinn M., Simpson R. and Gilmour A. (1995). Sensitivity of vegetative pathogens to high hydrostatic pressure treatment in phosphate-buffered saline and foods. *Journal of Food Protection* 61(4): 432–436.

Pre´stamo G., Sanz P.D., Fonberg-Broczek M. and Arroyo G. (1999). High pressure response of fruit jams contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Letter in Applied Microbiology* 28(4): 313–316.

Ritz M., Tholozan J.L., Federighi M. and Pilet M.F. (2002). Physiological damages of *Listeria monocytogenes* treated by high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology* 79: 47–53.

Sale A.J., Gould G.W. and Hamilton W.A. (1970). Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure. *Journal of General Microbiology* 60: 323–334.

Styles M.F., Hoover D.G. and Farkas D.F. (1991). Response of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* to high hydrostatic pressure. *Journal of Food Science* 56: 1404–1407.

Wuytack E.Y., Diels A.M.J. and Michiels C.W. (2002). Bacterial inactivation by high-pressure homogenisation and high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology* 77: 205–212.

Wuytack E.Y., Soons J., Poschet F. and Michiels C. W. (2000). Comparative study of pressure- and nutrient-induced germination of *Bacillus subtilis* spores. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 257–261.

---

**Fuente:**

Food Sci Tech Int.  
EUA, 2003.

---

Traducción: I.A. Violeta Morales V.



**MAQUINARIA JERSA**

## Soluciones a la Medida para el Proceso de Alimentos

En Maquinaria Jersa desarrollamos soluciones de maquinaria para la industria alimenticia, desde equipos hechos a la medida, hasta líneas completas de proceso para conservas, empaque fresco, congelado, hidrotatamiento y deshidratación. Contamos con la más alta tecnología para diseñar y fabricar maquinaria de acuerdo a sus necesidades de automatización, capacidad de producción, tipo de proceso, envase, espacio disponible y presupuesto, así como de sus requerimientos de higiene y seguridad.

Entre nuestros principales equipos se encuentran: **lavadoras, clasificadoras, marmitas, escaldadoras, mezcladoras, rajadoras, despulpadores, deshidratadores, orientadoras, agregadoras, llenadoras, autoclaves, cocedores, pasteurizadores, esterilizadores, transportadores, elevadores, etc.**

Ofrecemos servicios de instalación, capacitación y mantenimiento en sitio y en su propio idioma. Más de 30 años de experiencia y 15,000 equipos fabricados y entregados nos respaldan.

**JERSA**

Emiliano Zapata 51, Col. San José Buenavista  
Cuauhtlán Izcalli, Edo. de México, C.P. 54710  
Tel.: (52) 55-5889-0006, Fax: (52) 55-5889-0234  
ventas@jersa.com.mx, www.jersa.com.mx