

# Efecto de la aplicación de altas presiones hidrostáticas sobre la inactivación de *Escherichia coli* O157:H7 y el perfil volátil de jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*)

Effect of high hydrostatic pressure application on the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and the volatile profile of passion fruit (*Passiflora edulis*) juice

Montserrat Calderón-Santoyo<sup>1</sup>, Jorge Alberto Ramos-Hernández<sup>2</sup>, Julio César Barros-Castillo<sup>1</sup>, Gonzalo Velázquez-de la Cruz<sup>3</sup>, José Alberto Ramírez-de-León<sup>4</sup>, Juan Arturo Ragazzo-Sánchez<sup>1\*</sup>✉

<sup>1</sup> Laboratorio Integral de Investigación en Alimentos, Instituto Tecnológico de Tepic. Av. Tecnológico No. 2595, Col. Lagos del Country, Tepic, Nayarit C.P. 63175, México.

<sup>2</sup> Universidad Politécnica de la Región Laguna, Calle sin nombre sin número, San Pedro de las Colonias, Coahuila C.P. 27942, México.

<sup>3</sup> Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, Unidad Querétaro, Instituto Politécnico Nacional. Cerro Blanco 141 Col. Colinas del Cimatarío, Querétaro, Querétaro C.P. 76090, México.

<sup>4</sup> Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, UAM Reynosa Aztlán, Universidad Autónoma de Tamaulipas. Reynosa, Tamaulipas, México.

## RESUMEN

Se determinó el efecto del tratamiento del jugo de maracuyá (*Passiflora edulis*) con altas presiones hidrostáticas (APH) en la inactivación de *Escherichia coli* O157:H7 y algunas características fisicoquímicas y aromáticas del jugo. Se empleó un diseño 3<sup>3</sup> considerando como factores la presión, temperatura y tiempo de tratamiento (150, 200, 250 MPa; 25, 35, 45 °C; 0, 10, 20 min). Se aplicó un modelo cuadrático para la optimización de las condiciones de proceso empleando la metodología de superficie de respuesta. Se determinó *E. coli* en jugo almacenado (72 h, 4 °C). El perfil volátil se analizó empleando la técnica de microextracción en fase sólida de espacio de cabeza (HS-SPME) y GC-MS. Se observó que a partir 150 MPa y 35 °C se inactiva totalmente *E. coli*. Los tratamientos no tienen efecto sobre los sólidos solubles totales (SST) del jugo, lo que sugiere aceptabilidad por los consumidores. Respecto al perfil volátil, los alcoholes y ésteres responsables del aroma característicos de maracuyá disminuyeron su concentración (16 %) a 45 °C. Las condiciones óptimas para obtener un jugo de maracuyá microbiológicamente seguro, conservando su composición aromática, SST y pH fueron 200 MPa, 35 °C y 10 min.

**Palabras Clave:** Altas presiones hidrostáticas; *Escherichia coli* O157:H7; maracuyá, perfil aromático, jugo de frutas.

## ABSTRACT

The effect of passion fruit (*Passiflora edulis*) juice treatment with high hydrostatic pressures (HHP) on the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and some physicochemical and aromatic characteristics of the juice was determined. A 3<sup>3</sup> design was used considering pressure, temperature and treatment time (150, 200, 250 MPa; 25, 35, 45 °C; 0, 10, 20 min) as factors. A quadratic model was applied for the optimization of the process conditions using the response surface methodology. *Escherichia coli* in stored juice was estimated (72 h, 4 °C). The

volatile profile was analyzed using the headspace solid phase microextraction (HS-SPME) technique and GC-MS. *E. coli* was inactivated from 150 MPa and 35 °C. The treatments had no effect on the total soluble solids (TSS) of the juice, suggesting acceptability by consumers. Regarding the volatile profile, the alcohols and esters responsible for the characteristic aroma of passion fruit decreased (16 %) at 45 °C. The optimal conditions to obtain a microbiologically safe passion fruit juice, preserving its aromatic composition, TSS and pH were 200 MPa, 35 °C and 10 min.

**Keywords:** High hydrostatic pressures; *Escherichia coli* O157:H7; passion fruit, aromatic profile, fruit juice.

## INTRODUCCIÓN

Maracuyá (*Passiflora edulis*) es una planta trepadora del orden de las *Violales*, familia *Passifloraceae* del género *Passiflora*. Su fruta es sumamente apreciada por su aroma con notas florales, que le da una característica de fruto tropical exótico (Cazarin *et al.*, 2015). Recientemente, los consumidores han tomado conciencia de la relación entre alimentación y salud, demandando productos que preserven las características nutricionales y sensoriales de los productos frescos de origen. Así, la industria alimentaria enfocada en satisfacer la demanda de productos frutícolas procesados con características similares a las de jugos de frutas frescos, de alta calidad, con pocos aditivos y microbiológicamente seguros, ha crecido considerablemente (Augusto *et al.*, 2018). En este contexto, el mercado mundial de jugo de maracuyá y concentrado del mismo, ha incrementado debido a un mayor interés de los países desarrollados por productos frutícolas de origen tropical. Sin embargo, la industria de bebidas no fermentadas, ante la exigencia de productos similares a los frescos, se enfrenta a los inconvenientes de inocuidad alimentaria al implementar tecnologías de mínimo proceso. Por otro lado, la producción frutícola de jugos utilizando procesos térmicos

\*Autor para correspondencia: Juan Arturo Ragazzo Sánchez  
Correo-el: arturoragazzo@hotmail.com

Recibido: 28 de agosto de 2024

Aceptado: 27 de noviembre de 2024

Publicado: 22 de enero de 2025

convencionales modifica las propiedades sensoriales. En este sentido, las altas presiones hidrostáticas (APH) surgen como una tecnología innovadora para la conservación de alimentos y el procesamiento de jugos, debido a su capacidad de inhibir microorganismos, esporas y enzimas en los alimentos sin el uso de calor, ni conservadores, incrementando la vida de anaquel del producto (Moussa-Ayoub *et al.*, 2017; Manassero *et al.*, 2019). Adicionalmente, el procesamiento por APH minimiza el efecto negativo de las tecnologías convencionales en las características sensoriales y nutricionales de los alimentos frescos y ha mostrado efectos positivos en la aceptación de los consumidores (de Souza *et al.*, 2020).

Las APH han permitido el control e inactivación de diferentes tipos de microorganismos transmitidos por alimentos, tales como hongos y mohos en jugo de nopal (Moussa-Ayoub *et al.*, 2017), *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos (Hereu *et al.*, 2014), *E. coli* O157:H7 en néctar de mango (Calderón-Santoyo *et al.*, 2019), *E. coli* O157:H7 y *L. monocytogenes* EGD-e en jugo de manzana y naranja (Espina *et al.*, 2013), *Listeria innocua* y *Saccharomyces cerevisiae* en jugo de pitaya (Quiroz-González *et al.*, 2018), *E. coli* en jugo de zanahoria (Buzrul, 2019), *E. coli* K12 en jugo de naranja (Bulut y Karatzas, 2021) y *L. innocua* (ATCC 51742) en jugo de naranja y zanahoria mezclado (Pokhrel *et al.*, 2022). Los alimentos tratados con APH por debajo de 400 MPa tienen propiedades sensoriales y nutricionales similares a las del producto fresco (Augusto *et al.*, 2018), tal como se ha reportado en jugo de aronia (Błaszczka *et al.*, 2017), manzana (Porębska *et al.*, 2017) y granada (Benjamin y Gamrasni, 2020) tratados con presiones de entre 200 y 600 MPa. En el presente trabajo, el objetivo fue determinar el efecto de la aplicación de altas presiones hidrostáticas sobre la inactivación de *E. coli* O157:H7 y algunas características fisicoquímicas y aromáticas del jugo de maracuyá.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material biológico

Frutos de maracuyá en su punto óptimo de madurez de consumo, fueron obtenidos del poblado El Venado, perteneciente al municipio de Ruiz en el estado de Nayarit, México (22° 10' y 21° 52'). Se emplearon 15 kg del fruto para el estudio seleccionados con similar coloración y tamaño.

### Reactivos químicos

Hipoclorito de sodio (NaClO), agar soya triptícas, rifampicina, estándares de referencia; de linalool, 1-octanol, 1-hexanol,  $\alpha$ -terpineol fueron adquiridos de Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO). Hexanoato de etilo, butanoato de hexilo y hexanoato de hexilo fueron adquiridos de Bedoukian Research, Inc. (Danbury, CT).

### Obtención de jugo de maracuyá

Los frutos fueron lavados y desinfectados por inmersión durante 2 min en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 0.02%. La pulpa fue separada de las semillas utilizando un tamiz flexible, posteriormente se centrifugó a 3380 g durante

5 min (Centrifuga HermLe, Z326K, Wehingen, Alemania), el sobrenadante fue recuperado y almacenado en recipientes estériles.

### Inoculación del jugo

Las muestras fueron inoculadas con *E. coli* O157:H7 código ATCC 25922, previamente desarrollada en agar de soya triptícas adicionado con rifampicina (0.05  $\mu$ g/mL) antibiótico al que resistente esta bacteria y así inhibir el crecimiento de otras bacterias. Posteriormente, fue suspendida en solución salina isotónica de acuerdo a Castro-Rosas *et al.* (2012) con algunas modificaciones. Antes de la inoculación se realizaron diluciones con agua destilada y conteos en cámara de Neubauer hasta ajustar la concentración a  $1 \times 10^6$  UFC/mL. Las muestras de 30 mL inoculadas con *E. coli* O157:H7 a  $1 \times 10^6$  UFC/mL se sometieron al tratamiento de altas presiones, por triplicado, empleando la prensa isostática fría modelo CIP 42260 (Avure Autoclave Systems, Columbus, OH, USA) equipada con una cámara de presurización de 101.6 mm de diámetro interno y 584.2 mm de profundidad. Se utilizó una mezcla de 5:1 agua:lubricante antiabrasivo (Hydrolubric 120-B, Houghton International Inc., Valley Forge, PA, USA) como fluido presurizante.

### Caracterización fisicoquímica

#### Sólidos solubles totales (SST)

Los SST se determinaron con un refractómetro de líquidos de Abbe (ATAGO, NAR-2T, USA) a 25 °C con 0.5 mL de muestra. Los resultados se expresaron como °Brix (°Bx).

#### Medición de pH

El pH se determinó a 25 °C empleando un potenciómetro multiparamétrico (Hanna, HI 2550, RI, USA). El equipo se calibró previamente a su uso. Se introdujo el electrodo en el jugo y se registró el pH al obtener una lectura estable.

### Análisis de compuestos volátiles por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)

El estudio del perfil volátil se llevó a cabo empleando la técnica de microextracción en fase sólida de espacio de cabeza (HS-SPME) y cromatografía de gases (GC 7890A, Agilent Technologies; Palo Alto, CA, USA) acoplada a espectrometría de masas (MS 240 Ion Trap, Agilent Technologies; Palo Alto, CA, USA). En un vial de 20 mL se colocaron 10 mL de jugo, 30  $\mu$ L de 2-nonanol (0.03288 mg/mL en etanol) como estándar interno y se adicionó 1 g de NaCl como promotor de la volatilidad. El vial se selló herméticamente con una septa de silicón-PTFE (politetrafluoroetileno) y se incubó (40 °C, 30 min, 700 rpm) para la pre-extracción y concentración de los compuestos volátiles (CV) en el espacio de cabeza del vial. Posteriormente se introdujo una fibra recubierta con Divinilbenceno/Carboxeno/Polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS, 50/30  $\mu$ m, Supelco, Bellefonte, PA, USA) y se expuso en el espacio de cabeza del vial a 1 cm por encima de la superficie del jugo para la extracción de los CV (40 °C, 20 min, 700 rpm). Finalmente se retrajo la fibra y retiró del vial. La desorción

térmica de los volátiles de la fibra se realizó exponiéndola durante 4 min en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases. La separación de los compuestos se realizó con una columna capilar Agilent J&W VF-5ms (30 m, 0.25 mm d.i., 0.25  $\mu$ m) y helio como gas acarreador (1 mL/min). La temperatura del inyector fue de 230 °C en modo splitless. El horno se programó inicialmente a 40 °C (3 min) hasta 240 °C a 5 °C/min. Los parámetros del MS fueron: energía de ionización (70 eV), temperatura de trampa (150 °C), acarreador (80 °C) y línea de transferencia (130 °C). El rango de adquisición de masas fue de 35 a 350 m/z. La identificación y cuantificación de los compuestos volátiles se realizó comparando los índices de retención lineal calculados con una mezcla de *n*-alcanos (C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>) de los estándares de referencia de los compuestos y el espectro de masas en bases de datos NIST.

### Análisis de *E. coli* O157:H7 en jugo de maracuyá

Se realizó el recuento de microorganismos de todas las muestras antes y después del tratamiento con altas presiones, así como durante 72 h de almacenamiento; mediante la técnica de vertido en placa empleando agar soya tripticasa adicionado con rifampicina en una concentración de 0.05  $\mu$ g/mL, incubado por 48 h a 38 °C.

### Análisis estadístico

El estudio se llevó a cabo mediante un diseño factorial 3<sup>3</sup> completamente aleatorizado evaluando temperatura (25, 35, 45 °C), presión (150, 200, 250 MPa) y tiempo (0, 10, 20 min) como factores. Los tratamientos y extracciones se realizaron por triplicado. Un ANOVA se empleó para analizar los datos y la comparación de medias mediante la técnica de diferencias mínimas significativas de Fisher, con el software SAS System 9.0. La optimización de las condiciones de operación se realizó empleando un modelo cuadrático con el software Statgraphics Centurión versión XV.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cambios en propiedades fisicoquímicas después del tratamiento con APH

El pH y SST del jugo de maracuyá fresco y su comportamiento posterior al tratamiento de APH no presentaron diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre los tratamientos ni respecto al control (Figura 1). En ese sentido, los resultados concuerdan con lo reportado en jugo de zanahoria con naranja tratados con APH entre 200 y 400 MPa sin afectaciones de los valores de pH durante 1 a 5 min, los cuales fueron adecuados para garantizar la estabilidad del jugo sin afectar su composición fisicoquímica ni su calidad sensorial (Pokhrel *et al.*, 2022). Además, los valores obtenidos de STT (Figura 1) están de acuerdo a lo reportado por Pokhrel *et al.* (2022), al no presentar variaciones significativas en esta variable ( $p > 0.05$ ) durante la aplicación de la APH y el almacenamiento (> 28 días) de las muestras presurizadas. De forma similar, al aplicar 600 MPa durante 6 min, no se reportaron cambios en pH y SST en jugo de caña de azúcar (Mukhtar *et al.*, 2022). Este comportamiento pudiera atribuirse a que las APH no afectan

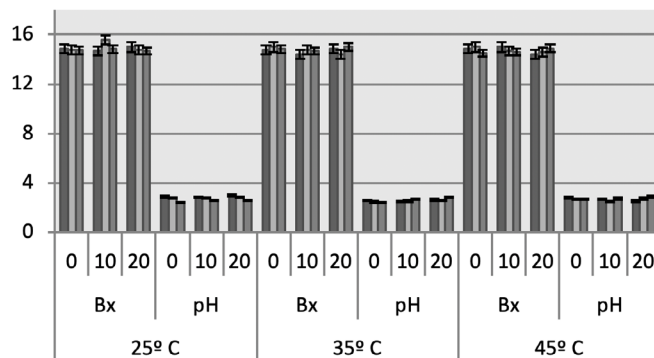


Figura 1. Efecto de las APH ( 150, 200 y 250 MPa) sobre SST y pH del jugo de maracuyá tratado.

Figure 1. Effect of HHP ( 150, 200 and 250 MPa) on TSS and pH of treated passion fruit juice.

los enlaces covalentes moleculares (Sangronis *et al.*, 1997) presentes en los carbohidratos simples y disacáridos, manteniendo sin cambios el contenido de sólidos solubles en el jugo.

### Efecto sobre la calidad aromática

El estudio del efecto de las APH sobre la calidad aromática se enfocó en 7 compuestos de aroma (CA) (Tabla 1), los cuales han sido reportados como los principales en maracuyá. Jordan *et al.* (2000) reportaron que los compuestos más abundantes en el fruto son algunos alcoholes alifáticos insaturados tales como linalool, caracterizado por contribuir a las notas floral, cítrica y de limón en el fruto; 1-octanol, aporta la nota cítrica y verde; 1-hexanol con nota herbácea y dulce y  $\alpha$ -terpineol con nota floral. Recientemente se identificaron los compuestos mayoritarios en maracuyá como butanoato de metilo, butanoato de etilo, hexenoato de metilo y hexenoato de etilo (Mamede *et al.*, 2017).

El análisis de varianza para los principales compuestos aromáticos, muestra que no hubo efecto significativo de la presión ni del tiempo de tratamiento sobre la concentración de los compuestos aromáticos analizados ( $P > 0.05$ ); sin embargo, la temperatura mostró un efecto estadísticamente significativo ( $P = 0.001$ ) sobre la concentración de los principales CA presentes en el jugo de fruto de maracuyá

Tabla 1. Concentración de los principales compuestos de aroma del jugo de maracuyá amarillo sin tratamiento.

Table 1. Concentration of major aroma compounds of yellow passion fruit juice without treatment.

Compuesto	Tiempo de retención (min)	Concentración (mg/kg)	% en la muestra
<b>Alcoholes</b>			
1-Hexanol	7.85	58.86	6.28
1-Octanol	22.62	2.21	0.41
Linalool	26.26	33.29	3.46
$\alpha$ -Terpineol	36.32	28.46	3.15
<b>Ésteres</b>			
Hexanoato de etilo	24.70	116.01	15.76
Butanoato de hexilo	37.11	24.82	3.15
Hexanoato de hexilo	51.66	357.93	39.40

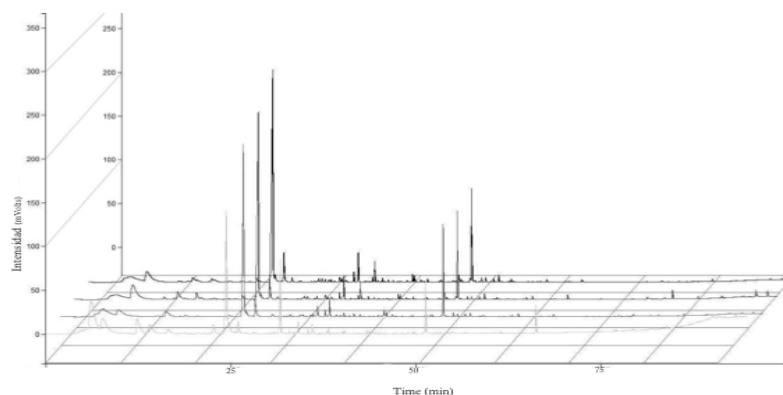
sometido al tratamiento con APH. Este efecto sobre el jugo de maracuyá se manifiesta en la Figura 2, donde se observa la disminución de la concentración de la mayoría de los compuestos aromáticos conforme la temperatura aumenta. Es importante mencionar que a pesar de la disminución observada en la concentración a 25 y 35 °C, esta diferencia no fue estadísticamente significativa de acuerdo a la comparación de medias (LDS, resultados no mostrados). Estos resultados coinciden con lo reportado por Calderón-Santoyo *et al.* (2019) quienes estudiaron el efecto de las altas presiones sobre los componentes volátiles en néctar de mango, concluyendo una disminución de etanol y  $\alpha$ -pineno a 250 MPa, 25 °C y 10 min, sin embargo, no se presentó un efecto significativamente negativo sobre el perfil aromático de la mayoría de los compuestos del néctar de mango.

Es ampliamente conocido que la temperatura afecta la concentración de componentes volátiles en la calidad aromática de los jugos, debido, entre otros factores, a que el aumento de la temperatura disminuye la capacidad de retención de las sustancias volátiles en una matriz o sustrato, así mismo, puede promover interacciones con otros componentes, principalmente el oxígeno, provocando la formación de derivados de los CA originales. La no alteración del sabor del alimento puede explicarse considerando que las altas presiones no modifican los enlaces covalentes en los compuestos del sabor (Lomelí-Martín *et al.*, 2021).

Diversos estudios han realizado análisis químicos y sensoriales en algunos alimentos como manzana (Porębska *et al.*, 2017), granada (Benjamin y Gamrasni, 2020) y jugo de aronia (Błaszczka *et al.*, 2017), mismos que han sido tratados a presiones que varían desde 200 hasta 600 MPa a temperatura ambiente, sin reportar alteraciones significativas en la calidad aromática.

### Efecto sobre la supervivencia de *E. coli* O157:H7

Las altas presiones inducen cambios de tipo morfológico y bioquímico que tienen lugar en la membrana y la pared celular de los microorganismos. Además, provocan cambios en el funcionamiento de enzimas esenciales para el crecimiento y reproducción de los microorganismos (Gohrbandt *et al.*, 2022). Los resultados mostrados en la Tabla 2 sugieren que algunos de estos cambios influyeron en el efecto letal de las altas presiones a partir de 150 MPa y 35 °C o bien a 200 MPa y 25 °C. Estos resultados están de acuerdo a lo reportado en cepas de *E. coli* O157:H7 tratadas con APH a partir de los 150 MPa hasta los 550 MPa, por lo tanto, se puede mejorar la seguridad alimentaria sin comprometer la calidad del producto (Yang *et al.*, 2023). En ese sentido, algunos estudios demuestran que las bacterias son más resistentes a la presión a 20 y 30 °C, pero se vuelven extremadamente sensibles a partir de temperaturas de 35 °C a causa de los cambios de fase de los lípidos de la membrana (Gohrbandt *et al.*, 2022), manifestando un efecto de la presión y la temperatura sobre la viabilidad de las bacterias. Es importante mencionar que bajo las condiciones menos severas empleadas en este estudio (150 MPa y 25 °C), no se encontró una total inhibición de *E. coli* logrando sólo reducciones que van de 2.56 hasta 4.36  $\log_{10}$  UFC/mL al momento de la aplicación del proceso y el efecto incrementó durante el almacenamiento. Lo anterior indica que la viabilidad de *E. coli* O157:H7 fue sensiblemente afectada conforme incrementó la severidad de los tratamientos, así también, se puede aseverar, a partir de los datos de viabilidad de *E. coli*, que conforme transcurren los días de almacenamiento el daño ocasionado a la bacteria por el proceso de presurización es irreversible y le impide sobrevivir en el jugo de maracuyá. Prieto-Calvo *et al.* (2014) utilizando presiones entre 50 - 900 MPa encontraron daños irreversi-



**Figura 2.** Cromatograma de jugo de maracuyá sin tratar (■) y tratado a 200 MPa, 10 min y diferentes temperaturas (■25, ■35 y ■45 °C).

**Figure 2.** Chromatographs of passion fruit juice without treatment (■) and treated at 200 MPa, 10 min and different temperatures (■25, ■35 and ■45 °C).

**Tabla 2.** Efecto de las altas presiones hidrostáticas sobre el crecimiento microbiano ( $\log_{10}$  UFC/mL) de *E. coli* O157:H7 durante 3 días después de aplicado el tratamiento.

**Table 2.** Effect of HHP on growth ( $\log_{10}$  CFU mL<sup>-1</sup>) of *E. coli* O157:H7 during 3 days after treatment application.

Presión (MPa)	Tiempo (h)		Temperatura (°C)								
			25			35			45		
			0 min	10 min	20 min	0 min	10 min	20 min	0 min	10 min	20 min
150	0	UFCmL <sup>-1</sup>	273	156.6	26.6	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	3.57	3.81	4.58	6	6	6	6	6	6
150	24	UFCmL <sup>-1</sup>	156.6	123.3	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	3.81	3.91	6	6	6	6	6	6	6
150	48	UFCmL <sup>-1</sup>	80	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	4.1	6	6	6	6	6	6	6	6
150	72	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
200	0	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
200	24	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
200	48	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
200	72	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
250	0	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
250	24	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
250	48	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6
250	72	UFCmL <sup>-1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		red log <sub>10</sub>	6	6	6	6	6	6	6	6	6

bles en la membrana celular en *E. coli* produciendo pérdida de viabilidad. Adicionalmente, la aplicación de presión en tiempos cortos, genera significativamente daños en la estructura e integridad de membrana en *E. coli* de acuerdo a lo observado en SEM en donde se identifica una mayor pérdida de componentes intracelulares por el daño a la membrana (Yang *et al.*, 2023).

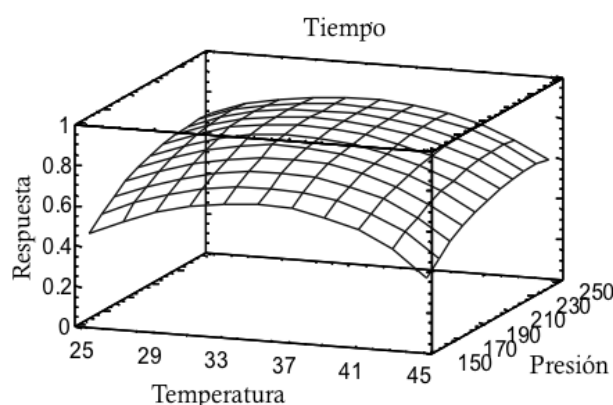
Así mismo, Carvalho *et al.* (2018) encontraron una reducción en la viabilidad de *E. coli* O157:H7 931 de 5 log<sub>10</sub> aplicando una presión de 300 MPa durante 15 min en jugo de guayaba y 4.2 log<sub>10</sub> en jugo de mango. Por otro lado, se puede apreciar un comportamiento similar aplicando 200 MPa durante 15 min en jugo de aronia para la inhibición de levaduras y mohos después de presurizar en comparación con muestras sin tratamiento (Błaszczak *et al.*, 2017).

Por lo tanto, las APH resultan ser una tecnología eficaz en la inhibición de patógenos en bebidas como jugos. En ese sentido Kim *et al.* (2024), afirman que la pérdida de viabilidad de microorganismos patógenos a los alimentos, tales como

*E. coli* O157:H7, se ve incrementada a valores de pH < 4 debido a la presencia de ácidos orgánicos como el ácido cítrico; con este estudio se hace evidente que las altas presiones hidrostáticas en combinación con temperatura moderada y un medio acidificado, puede ser un método efectivo para inhibir microorganismos tanto resistentes como sensibles a la presión, así como los patógenos reconocidos en alimentos. En el caso del jugo de maracuyá, empleado en este estudio, su pH natural es de 3.4 lo que explica el efecto favorable de la APH sobre la inactivación de *E. coli* O157:H7. La variabilidad de estos resultados se debe a la combinación de diversos factores incluyendo la composición propia de las muestras. Se ha demostrado que un pH bajo, aumenta la inactivación de microorganismos significativamente de *Listeria monocytogenes* en 2 min a 500 MPa a pH de 4.5. Además, al incrementar el tiempo con un pH mayor a 5 la inactivación es más lenta (Jung *et al.*, 2013). Por lo tanto, para inhibir microorganismos en matrices a pH bajos, se requiere menor tiempo.

### Optimización del proceso

En la Figura 3 se muestra la gráfica de superficie de respuesta obtenida en base a las concentraciones de los principales compuestos aromáticos y la disminución de viabilidad de *E. coli* O157:H7 y la interacción de los tres como variable de respuesta en el análisis del diseño experimental. Se puede observar claramente, que la mayor deseabilidad se obtiene a valores de presión elevados y temperaturas bajas en cortos periodos de proceso. Las condiciones óptimas de operación para este proceso resultaron ser 200 MPa, 35 °C y 10 min, con las que de acuerdo al análisis de superficie de respuesta se obtendrían un jugo libre de *E. coli* O157:H7 y sin cambios significativos en su composición aromática (Tabla 3). Resultados similares de optimización se obtuvieron en néctar de mango para la inhibición de *E. coli* O157:H7 con 250 MPa, 36.15 °C y 14.08 min manteniendo los compuestos aromáticos e incluso manteniendo el sabor y olor (Calderón-Santoyo *et al.*, 2019).



**Figura 3.** Gráfico de superficie de respuesta para los principales compuestos aromáticos y reducción logarítmica en el jugo de maracuyá tratado por APH.  
**Figure 3.** Response surface plot for the main aroma compounds and log reduction in the passion fruit juice treated by HHP.

**Tabla 3.** Valores máximos alcanzables de concentración de aromas y reducción de carga microbiana en base a la optimización del proceso.

**Table 3.** Maximum values of aroma concentration and microbial growth reduction on the basis of process optimization.

Factor	Testigo	Respuesta Máxima
Red Log <sub>10</sub> (UFC/mL)	0.0	6.23
Hexanoato de hexilo	357.93 <sup>a</sup>	337.58 <sup>a</sup>
Butanoato de hexilo	24.82 <sup>a</sup>	20.02 <sup>a</sup>
Hexanoato de etilo	116.01 <sup>a</sup>	105.73 <sup>a</sup>
1-Octanol	2.21 <sup>a</sup>	3.58 <sup>b</sup>
1-Hexanol	58.86 <sup>a</sup>	48.86 <sup>a</sup>
Linalool	33.29 <sup>a</sup>	32.50 <sup>a</sup>
α-Terpineol	28.46 <sup>a</sup>	31.39 <sup>a</sup>

Letras iguales no muestran diferencia significativa a  $\alpha = 0.05$  (LSD).

### CONCLUSIONES

Las altas presiones hidrostáticas son una tecnología efectiva para garantizar la estabilidad microbiológica y sensorial del jugo de maracuyá fresco. Se logró la inactivación de *E. coli* O157:H7 sin afectar el contenido de SST, pH ni sus características aromáticas. Se observó que existe una relación

directamente proporcional entre las condiciones de tiempo, temperatura y presión de los tratamientos, respecto a la pérdida de viabilidad de *E. coli* O157:H7, siendo más notoria en las dos últimas. En lo que respecta a la temperatura, la concentración de los principales compuestos aromáticos que constituyen el perfil aromático, se ve disminuida en los tratamientos aplicados a 45 °C. El estudio de optimización permite sugerir las condiciones para un tratamiento óptimo del jugo e inhibir *E. coli* O157:H7 conservando los principales compuestos aromáticos de maracuyá a 200 MPa, 35 °C y 10 min.

### AGRADECIMIENTOS

Se agradece a CONAHCYT.

### REFERENCIAS

- Augusto, P.E.D., Tribst, A.A.L. y Cristianini, M. 2018. High hydrostatic pressure and high-pressure homogenization processing of fruit juices. *Fruit Juices*. 393-421.
- Benjamin, O. y Gamrasni, D. 2020. Microbial, nutritional, and organoleptic quality of pomegranate juice following high-pressure homogenization and low-temperature pasteurization. *Journal of food science*. 85(3): 592-599.
- Błaszczak, W., Amarowicz, R. y Górecki, A.R. 2017. Antioxidant capacity, phenolic composition and microbial stability of aronia juice subjected to high hydrostatic pressure processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 39: 141-147.
- Bulut, S. y Karatas, K.A.G. 2021. Inactivation of *Escherichia coli* K12 in phosphate buffer saline and orange juice by high hydrostatic pressure processing combined with freezing. *Lwt*. 136: 110313.
- Buzrul, S. 2019. High hydrostatic pressure inactivation of microorganisms: A probabilistic model for target log-reductions. *International Journal of Food Microbiology*. 309: 108330.
- Calderón-Santoyo, M., López-Quintana, G.D., Ramírez-de-León, J.A., Jiménez-Sánchez, D.E. y Ragazzo-Sánchez, J.A. 2019. Effect of the high hydrostatic pressure on aromatic profiles and inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in mango nectar. *Revista Bio Ciencias*. 6: 709.
- Carvalho, F., George, J., Sheikh, H.M.A. y Selvin, R. 2018. Advances in screening, detection and enumeration of *Escherichia coli* using nanotechnology-based methods: A review. *Journal of Biomedical Nanotechnology*. 14(5): 829-846.
- Castro-Rosas, J., Cerna-Cortés, J.F., Méndez-Reyes, E., Lopez-Hernandez, D., Gómez-Aldapa, C.A. y Estrada-García, T. 2012. Presence of faecal coliforms, *Escherichia coli* and diarrheagenic *E. coli* pathotypes in ready-to-eat salads, from an area where crops are irrigated with untreated sewage water. *International journal of food micro-biology*. 156(2): 176-180.
- Cazarin, C.B.B., da Silva, J.K., Colomeu, T.C., Batista, Á.G., Meletti, L.M.M., Paschoal, J.A.R., Bogusz Junior, S., Braga, P.A. de C., Reyes, F.G.R., Augusto, F., de Meirelles, L.R., Zollner, R. de L. y Maróstica Júnior, M.R. 2015. Intake of *Passiflora edulis* leaf extract improves antioxidant and anti-inflammatory status in rats with 2,4,6-trinitrobenzenesulphonic acid induced colitis. *Journal of Functional Foods*. 17: 575-586.

- de Souza, V.R., Popović, V., Bissonnette, S., Ros, I., Mats, L., Duizer, L., Warriner, K. y Koutchma, T. 2020. Quality changes in cold pressed juices after processing by high hydrostatic pressure, ultraviolet-c light and thermal treatment at commercial regimes. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 64: 102398.
- Espina, L., García-Gonzalo, D., Laglaoui, A., Mackey, B.M., y Pagán, R. 2013. Synergistic combinations of high hydrostatic pressure and essential oils or their constituents and their use in preservation of fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*. 161(1): 23-30.
- Gohrbandt, M., Lipski, A., Grimshaw, J.W., Buttress, J.A., Baig, Z., Herkenhoff, B., Walter, S., Kurre, R., Deckers-Hebestreit, G. y Strahl, H. 2022. Low membrane fluidity triggers lipid phase separation and protein segregation in living bacteria. *The EMBO journal*. 41(5): 109800.
- Hereu, A., Dalgaard, P., Garriga, M., Aymerich, T. y Bover-Cid, S. 2014. Analysing and modelling the growth behaviour of *Listeria monocytogenes* on RTE cooked meat products after a high pressure treatment at 400 MPa. *International Journal of Food Microbiology*. 186: 84-94.
- Jordan, M.J., Goodner, K.L. y Shaw, P.E. 2000. Volatile components in tropical fruit essences: yellow passion fruit (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degner) and banana (*Musa sapientum* L.). *Proceedings of Florida State Horticultural Society*. 113: 284-286.
- Jung, L.S., Lee, H.Y., Lee, S.H., Kim, S. y Ahn, J. 2013. Assessment of pressure-induced inactivation of *Listeria monocytogenes* exposed to low pHs. *Food Science and Biotechnology*. 22: 99-105.
- Kim, M.J., Lee, J.I., y Park, S.H. 2024. Enhancing Bactericidal Efficacy of High-Pressure Processing (HPP) Against Foodborne Pathogens: The Role of pH and Mechanistic Insights. *Food and Bioprocess Technology*. 1-13.
- Lomelí-Martín, A., Martínez, L.M., Welti-Chanes, J. y Escobedo-Avellaneda, Z. 2021. Induced changes in aroma compounds of foods treated with high hydrostatic pressure: A review. *Foods*. 10(4): 878.
- Mamede, A.M., Soares, A.G., Oliveira, E.J. y Farah, A. 2017. Volatile composition of sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis). *Journal of Chemistry*. 2017(1): 3497216.
- Manassero, C.A., Speroni, F. y Vaudagna, S.R. 2019. High hydrostatic pressure treatment improves physicochemical properties of calcium- and soybean protein-added peach juice. *Lwt*. 101: 54-60.
- Moussa-Ayoub, T.E., Jäger, H., Knorr, D., El-Samahy, S.K., Kroh, L.W. y Rohn, S. 2017. Impact of pulsed electric fields, high hydrostatic pressure, and thermal pasteurization on selected characteristics of *Opuntia dillenii* cactus juice. *LWT-Food Science and Technology*. 79: 534-542.
- Mukhtar, K., Nabi, B.G., Arshad, R.N., Roobab, U., Yaseen, B., Ranjha, M.M.A.N., Aadil, R.M. y Ibrahim, S.A. 2022. Potential impact of ultrasound, pulsed electric field, high-pressure processing and microfluidization against thermal treatments preservation regarding sugarcane juice (*Saccharum officinarum*). *Ultrasonics Sonochemistry*. 90: 106194.
- Pokhrel, P.R., Boulet, C., Yildiz, S., Sablani, S., Tang, J. y Barbosa-Cánovas, G.V. 2022. Effect of high hydrostatic pressure on microbial inactivation and quality changes in carrot-orange juice blends at varying pH. *LWT*. 159: 113219.
- Porębska, I., Sokołowska, B., Skąpska, S. y Rzoska, S.J. 2017. Treatment with high hydrostatic pressure and supercritical carbon dioxide to control *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. *Food Control*. 73: 24-30.
- Prieto-Calvo, M., Prieto, M., López, M. y Alvarez-Ordóñez, A. 2014. Effects of high hydrostatic pressure on *Escherichia coli* ultrastructure, membrane integrity and molecular composition as assessed by FTIR spectroscopy and microscopic imaging techniques. *Molecules*. 19(12): 21310-21323.
- Quiroz-González, B., Rodríguez-Martínez, V., García-Mateos, M. del R., Torres, J.A. y Welti-Chanes, J. 2018. High hydrostatic pressure inactivation and recovery study of *Listeria innocua* and *Saccharomyces cerevisiae* in pitaya (*Stenocereus pruinosus*) juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 50: 169-173.
- Sangronis, E., Pothakamury, U., Ramos, A.M., Ibarz, A., Barbosa-Cánovas, G.V. y Swanson, B.G. 1997. La alta presión hidrostática: una alternativa en el procesamiento no térmico de alimentos. *Alimentaria*. 283: 33-43.
- Yang, D., Li, R., Dong, P., Rao, L., Wang, Y. y Liao, X. 2023. Influence of pressurization rate and mode on cell damage of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* by high hydrostatic pressure. *Frontiers in Microbiology*. 14: 1108194.