



Frutas conservadas por métodos combinados

M.E. González-Miguel *, A. López-Malo

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Fundación Universidad de las Américas Puebla. Ex Hacienda Sta. Catarina Mártir, Cholula, Puebla. C.P.72810. México.

Resumen

Esta revisión bibliográfica presenta una breve descripción del mecanismo de acción de algunos factores de estrés microbiano, que al aplicarlos de manera combinada, dan lugar a la llamada conservación por métodos combinados o tecnología de obstáculos. La estabilidad microbiana y la seguridad de muchos alimentos se basan en la combinación de varios factores (obstáculos). El concepto obstáculo explica el hecho de que las interacciones complejas entre factores de estrés microbiano tales como aw, pH, temperatura y adición de antimicrobianos, son significativas para la estabilidad microbiana de los alimentos. Se toma como ejemplo de aplicación de esta tecnología a las frutas, que por su naturaleza ácida y dulce, permite de manera relativamente sencilla y económica, la aplicación combinada de factores para conservarlas. Así mismo, se incluyen resultados de algunas investigaciones en la aplicación de la tecnología de obstáculos en la conservación de frutas por periodos prolongados.

Palabras clave: métodos combinados, pH, actividad de agua, agentes antimicrobianos, bacterias, mohos.

Abstract

This review presents a brief description of the mechanism of action of some microbial stress factors which when applied in combination offer the so-called preservation by combined methods or hurdle technology. Microbial stability and safety of many foods are based on a combination of several factors (hurdles). The hurdle concept explains the complex interactions between microbial stress factors such as aw, pH, temperature, and addition of antimicrobials which are significant to the microbial stability of foods. A good example of the application of this technology is in fruits, which result in a simple and economic application of combined methods due to its acid and sweet nature. This review also includes research results on the application of hurdle technology in the preservation of fruits for extended periods.

Keywords: combined methods, pH, water activity, antimicrobial agents, bacteria, molds.

Introducción

Las frutas forman un grupo muy variado de alimentos y son una fuente importante de nutrientes para los seres humanos. La mayoría de las frutas se pueden consumir en su estado fresco; y con algunas excepciones

su vida útil o de aquella es relativamente corta. En algunos casos el almacenamiento refrigerado puede prolongar la vida útil de las frutas frescas. Sin embargo, para aprovechar las frutas por períodos prolongados es necesario transformarlas en productos menos perecederos mediante el

empleo de diversas técnicas o metodologías de conservación. Estas metodologías se basan en eliminar todos aquellos microorganismos patógenos y disminuir y controlar la proliferación de la flora deteriorativa, así como en la inactivación de todas las reacciones bioquímicas, producto de la actividad enzimática, que pueden deteriorar el producto (Vergara y López-Malo, 2004).

Una forma simple y de bajo costo para la conservación de frutas es la tecnología de los obstáculos o métodos combinados, la cual se basa en la aplicación simultánea de varios factores de conservación, que por sí mismos aplicados de forma individual no son suficientes para conservar el alimento. Estos factores se aplican en forma leve, de tal manera que cada uno de ellos es un obstáculo para el crecimiento de los microorganismos, pero causa un daño mínimo a la calidad del producto (Fernández y Sluka, 2005).

El fundamento de la aplicación de métodos combinados es exponer a las células vegetativas de los microorganismos simultáneamente a varios factores adversos, de manera que los mecanismos homeostáticos que poseen los microorganismos y que son altamente consumidores de energía, trabajen de más al tratar de ajustarse al medio. De este modo, los microorganismos no tendrán energía disponible para el crecimiento y reproducción por lo que quedarán en un estado latente o morirán (Yáñez y Reyes, 2006).

La importancia práctica de la tecnología de obstáculos es reconocida por la industria alimentaria y es ampliamente empleada en el diseño de nuevos productos, en el cual se busca desarrollar productos de alta calidad que cubran necesidades específicas. Los obstáculos que se elijan deben mantener la

seguridad, una calidad parecida a la de los productos frescos, y aumentar la vida de almacenamiento del producto (Wiley, 1994).

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión de estudios, en los que se haya evaluado la aplicación de métodos combinados en frutas para su conservación.

Revisión bibliográfica

1. Frutas

Las frutas son un conjunto de alimentos vegetales que proceden del fruto de determinadas plantas, ya sean hierbas como la melonera o árboles como el manzano y poseen un sabor y un aroma característico. Aun después de cosechadas, las células de las frutas no mueren inmediatamente. Sin embargo, para no morir y seguir siendo comestibles, las células vegetales requieren energía. Ésta la obtienen de la oxidación de nutrientes ricos en energía, principalmente carbohidratos, almacenados en las células. Comúnmente se utiliza oxígeno y se elimina bióxido de carbono a medida que estos constituyentes almacenados son empleados como fuente de energía. Este proceso que es llamado respiración, entre más lento sea, las células pueden vivir más tiempo. El almacenamiento a bajas temperaturas es la técnica que más se utiliza para disminuir la respiración y prolongar el periodo de almacenamiento durante el cual las frutas tienen una calidad aceptable. La regulación de la concentración de oxígeno y de bióxido de carbono en la atmósfera del ambiente para controlar la respiración, se emplea en la actualidad a fin de prolongar la vida de almacenamiento de ciertas frutas (Vargas *et al.*, 2000).

La gran variedad de texturas que se pueden encontrar entre las frutas se debe en

muchos casos a componentes celulares específicos y a su relación con la gran cantidad de agua presente. (Vergara y López-Malo, 2004).

Durante la maduración de las frutas ocurren cambios importantes en el contenido de sustancias pécticas, celulosas y hemicelulosas lo que contribuye al ablandamiento. Los procesos de envejecimiento de las frutas, después de alcanzar la maduración, en general se acompañan de un ablandamiento de los tejidos, muchas veces atribuido a la acción de las enzimas naturalmente presentes las frutas. Las enzimas hidrolizan a la pectina en un punto donde se pierde su acción como gelificante. La enzima responsable de esto es conocida como pectinmetilesterasa o pectinesterasa (Vergara y López-Malo, 2004).

Los tejidos de las frutas dañados expuestos al aire sufren un oscurecimiento rápido debido a la acción de las enzimas peroxidasa y polifenoloxidasa, las que catalizan la oxidación de compuestos fenólicos incoloros a o-quinonas que producen pigmentos marrones u oscuros por polimerización o reaccionan con las antocianinas (Badui, 2006).

La composición proximal en general de las frutas es de un 85% de agua, 13% de carbohidratos, 0.9% proteína, 0.5% de grasa y 0.5% de cenizas; el contenido de vitaminas y otros compuestos orgánicos difiere según la especie. Este contenido de nutrientes favorece el crecimiento de bacterias, levaduras y mohos. Sin embargo, el pH de las frutas es inferior al nivel que generalmente favorece el crecimiento bacteriano, lo que explica la ausencia de las bacterias en el deterioro de frutas. El intervalo de pH al cual crecen las levaduras y los mohos es inferior a 4.0, de ahí que estos microorganismos son considerados

como los principales causantes del deterioro de frutas (Jay *et al.*, 2006).

2. Factores de estrés microbiano

2.1 Actividad de agua

El término contenido de humedad se emplea para referirse a la cantidad de agua presente en un alimento (Welti-Chanes y Vergara, 1997). La actividad de agua (a_w) puede ser considerada como una medida indirecta del agua que está disponible en un producto para participar en diferentes reacciones deteriorativas y en el crecimiento microbiano (Fennema, 2000). Por lo tanto, hay una relación estrecha entre la estabilidad de un producto y su actividad de agua.

Christian (2000) menciona que la a_w óptima para el crecimiento de la mayor parte de los microorganismos está en el intervalo 0.99-0.98. Cuando un microorganismo se coloca en una solución acuosa concentrada de un soluto de a_w reducida, el agua es extraída del citoplasma de la célula y se pierde la presión de turgor. Gould (1998) señala que la homeostasis (o equilibrio interno) se perturba y el organismo no se multiplica pero permanece en fase lag hasta que se restablezca el equilibrio. El microorganismo reacciona para recuperar el agua perdida acumulando en el citoplasma los llamados solutos compatibles hasta que la osmolaridad interna sea ligeramente mayor a la de la solución y así el agua vuelve a entrar en la célula. Se restablece la presión de turgencia (estado de rigidez de la célula) y el microorganismo continúa creciendo. Los solutos compatibles no interfieren con las actividades normales de la célula y pueden ser sintetizados dentro de la misma o transportados desde el medio. En cualquiera de los dos casos, el proceso consume energía y, por lo tanto, la energía disponible para el crecimiento disminuye. Si la reducción en la a_w es extrema, la célula

microbiana es incapaz de reparar la homeostasis y no puede ya proliferar e incluso puede morir. La capacidad osmo-regulatoria, y en consecuencia los límites de a_w que permiten el crecimiento, difieren entre los microorganismos.

En general, las bacterias de deterioro comunes se inhiben a a_w aproximadamente 0.97; los clostridios patógenos a a_w 0.94, y la mayoría de los *Bacillus* a a_w 0.93. *Staphylococcus aureus* es el patógeno que posee mayor tolerancia a la a_w y puede crecer en aerobiosis a a_w de 0.86. Muchos mohos y levaduras son capaces de proliferar a a_w debajo de 0.86; algunas levaduras osmofílicas y hongos xerófilos pueden crecer en forma lenta a a_w ligeramente mayor a 0.60. En consecuencia, para conservar un alimento utilizando como factor de estrés sólo la reducción de a_w , ésta debiera disminuirse a 0.60. Los alimentos totalmente deshidratados, por ejemplo, tienen valores de a_w aproximadamente iguales a 0.30 para controlar no sólo el crecimiento microbiano sino también otras reacciones de deterioro (Leistner, 2000).

2.2 Potencial de hidrógeno (pH)

Booth y Stratford (2003) mencionan que el pH es uno de los obstáculos más importantes en la conservación de frutas de alta humedad mínimamente procesadas, debido a que juega el principal papel en la determinación del tipo de microorganismos que pueden crecer, el índice de crecimiento, su resistencia térmica y la actividad de los agentes antimicrobianos. Hocking y Pitt (2009) realizó estudios en los que identificó que los mohos y las levaduras son los microorganismos más ácido-tolerantes encontrados en los alimentos. Son capaces de crecer y causar deterioro en alimentos con pH por debajo de 4. En alimentos conservados mediante acidificación por adición de ácido, su velocidad de

crecimiento y su índice de producción de metabolitos como productos finales, puede exceder a los de las bacterias contaminantes. El deterioro causado por levaduras, regularmente limita la vida de anaquel de los productos de frutas. El crecimiento microbiano durante el almacenamiento puede alterar el pH . El metabolismo de los carbohidratos por los microorganismos puede generar ácidos débiles, especialmente bajo condiciones anaerobias, los cuales pueden disminuir el pH . Por el contrario, cuando el pH aumenta es signo de que las fuentes fermentables de carbohidratos en el alimento se han agotado y el metabolismo de compuestos nitrogenados ha comenzado. Para controlar el crecimiento microbiano totalmente, el pH requerido en ausencia de otros factores de conservación sería tan bajo que causaría el rechazo de los productos por sus características sensoriales (Argaiz *et al.*, 1995).

2.3 Agentes antimicrobianos

Son compuestos que se utilizan para controlar el crecimiento microbiano; algunos tienen un alto grado de especificidad contra cierto tipo de microorganismos, mientras que otros presentan un espectro de acción muy amplio y pueden inhibir una gran variedad de ellos. La efectividad de los antimicrobianos depende de varios factores intrínsecos del propio alimento, como son su composición, pH , el nivel inicial de contaminación microbiana y la forma en que se maneje y distribuya el producto terminado. Entre los más comunes están los agentes antimicrobianos clasificados como ácidos orgánicos débiles, como el ácido benzoico y el ácido sóblico y sus respectivas sales como el benzoato de sodio y sorbato de potasio (Sofos, 1989).

La actividad antimicrobiana del benzoato está relacionada con el pH , siendo su mayor actividad a valores de pH bajos. A través de

la forma no disociada tiene su acción antimicrobiana, ya que puede penetrar al interior de la célula y disociarse, lo que da como resultado un decremento del valor de pH afectando la respuesta de crecimiento de microorganismos. El pK del benzoato es 4.20; A pH de 4.0 el 60% lo constituye la forma no-disociada mientras que a pH de 6.0 la forma no-disociada representa tan sólo el 1.5%. El benzoato actúa mejor en su forma no disociada porque facilita la pérdida de protones en la célula y, por lo tanto, aumenta la necesidad de energía para mantener el pH habitual. El sorbato tiene un pK de 4.8; a pH de 4.0 la fracción no disociada es aproximadamente del 80% y a pH de 6.0 sólo se encuentra no-disociado un 6% (Jay *et al.*, 2006).

El crecimiento microbiano en presencia de agentes antimicrobianos se impide al inhibir el consumo por la célula de moléculas de sustrato, tales como aminoácidos, fosfatos, ácidos orgánicos y similares. La inhibición de los mohos por el sorbato de potasio se debe a la inactivación de los sistemas enzimáticos tales como la deshidrogenasa (Sofos, 1989). El benzoato y sorbato son metabolizados en el cuerpo a CO₂ y H₂O, de la misma manera que los ácidos grasos de los alimentos (Jay *et al.*, 2006).

2.4 Temperatura

La temperatura es un factor ambiental que influye de manera importante en la velocidad de crecimiento, la actividad metabólica, los requerimientos nutricionales, la composición química y la velocidad de captación de sustratos de los microorganismos. De esta manera, durante el tratamiento térmico se aplican temperaturas mayores a las que el microorganismo puede crecer, provocando, de acuerdo a su severidad y tiempo de aplicación, inactivación o lesión subletal de los microorganismos. El calor causa

múltiples efectos en los componentes celulares de los materiales biológicos. Sin embargo, se han identificado cuatro blancos principales relacionados al daño térmico letal y no letal: el ADN, el ARN, los ribosomas, las membranas citoplasmáticas y enzimas específicas (Brock y Madigan, 1993).

Por otro lado, la refrigeración provoca la inhibición o inactivación de algunas células vegetativas, inhibición del crecimiento de mesófilos y termófilos, así como disminución de la velocidad de crecimiento de los microorganismos psicrótrofos (Alzamora *et al.*, 1995).

2.4.1. Escaldado

Es una operación relacionada con la transmisión de calor, pero no es un proceso de esterilización ni de conservación. La finalidad del escaldado es la inactivación de enzimas presentes en ciertos alimentos que posteriormente van a ser enlatados, congelados o deshidratados. De no proceder de esta forma, la actividad enzimática residual de estos alimentos podría dar lugar a la aparición de colores, sabores y olores indeseables. Además el escaldado presenta una serie de ventajas importantes, ya que al realizarse con agua, es un sistema eficaz de lavado y limpieza de los alimentos al tiempo que los reblandece mejorando su textura. Asimismo, el aumento de la temperatura provoca el desprendimiento de los gases ocluidos en el alimento (Seoáñez, 2003). Estos gases son parte del metabolismo celular, ya que la eliminación de los gases en los espacios intercelulares permite que se genere un vacío relativo (Sanchez-Pineda, 2003) y esta desgasificación favorece las operaciones posteriores. Los métodos de escaldado más utilizados son la inmersión en agua caliente y el tratamiento con vapor de agua y el menos usual es la radiación por microondas (Seoáñez, 2003). También el

escaldado contribuye a fijar el color y retener el sabor (Sanchez-Pineda, 2003).

2.4.2. Refrigeración

El enfriamiento de un producto frena el crecimiento microbiológico y la alteración bioquímica, lo que trae como consecuencia el aumento en la vida útil del producto. El almacenamiento a bajas temperaturas reduce el nivel de respiración y de maduración de las frutas. También es importante el efecto de la temperatura sobre el tiempo de germinación de las esporas fúngicas; en la medida que se cuenta con condiciones de almacenamiento a temperaturas bajas, el grado de expansión del micelio se reduce (Ulloa, 2007).

3. *Métodos combinados*

Las técnicas de conservación se aplican para controlar el deterioro de la calidad de los alimentos. Este deterioro puede ser causado por microorganismos y/o por una variedad de reacciones fisico-químicas que ocurren después de la cosecha. Sin embargo, la prioridad de cualquier proceso de conservación es minimizar la probabilidad de ocurrencia y crecimiento de microorganismos deteriorativos y patógenos. Desde el punto de vista microbiológico, la conservación de alimentos consiste en exponer a los microorganismos a un medio hostil para prevenir o retardar su crecimiento, disminuir su supervivencia o causar su muerte. Leistner y Gould (2002) mencionan que factores como la acidez, la limitación del agua disponible para el crecimiento, la presencia de conservadores, las temperaturas bajas, la limitación de nutrientes, entre otros, contribuyen a la creación de un medio adverso para el crecimiento microbiano.

Para las células vegetativas, en las que la homeostasis depende de la energía, el

objetivo es reducir la disponibilidad de energía, lo cual puede lograrse removiendo oxígeno, limitando los nutrientes o reduciendo la temperatura, o bien, incrementar la demanda de energía, reduciendo la actividad de agua o el pH. En el caso de las esporas, en los que la homeostasis depende de la estructura del microorganismo y no de la energía disponible, el objetivo es dañar las estructuras clave o bien, hacer germinar las esporas (con el uso de altas presiones) y posteriormente tratarlas como células vegetativas (Alzamora *et al.*, 1995).

La tecnología de obstáculos (también llamada métodos combinados, procesos combinados, conservación por combinación, técnicas combinadas) conserva los alimentos mediante la aplicación de factores de estrés microbiano en combinación (Leistner y Gorris, 1995).

En los países industrializados, con disponibilidad de energía e infraestructura y con amplio uso de la refrigeración, el concepto de obstáculo se ha aplicado principalmente a desarrollar una gran variedad de alimentos con procesamiento térmico leve, distribuidos en forma refrigerada o congelada. Por el contrario, en muchos países en desarrollo, la refrigeración es cara y no está siempre disponible. De la misma forma, los procesos de enlatado y los procesos asépticos requieren una inversión importante y la demanda energética es muy alta. Por tanto, el énfasis del enfoque combinado se ha puesto en el desarrollo de alimentos estables a temperatura ambiente, con requerimientos energéticos, de equipamiento y de infraestructura mínimos, tanto para el procesamiento como para la distribución y el almacenamiento (Leistner y Gould, 2002).

3.2. Aplicaciones

Las aplicaciones más comunes de los métodos combinados, comprenden alimentos con a_w reducida (por ejemplo por deshidratación parcial o por agregado de sales o azúcares), usualmente combinada con acidificación y adición de antimicrobianos; alimentos fermentados; alimentos con pH reducido y antimicrobianos naturales (tales como hierbas y especias y sus extractos) o sintéticos; y alimentos envasados con exclusión del oxígeno (por ejemplo alimentos envasados al vacío o alimentos cubiertos con una capa de aceite) (Leistner y Gould, 2002).

Argaiz (2004) propuso un método para la conservación de frutas por medio de la tecnología de obstáculos, aplicando el procedimiento de lavar el producto, pelar, cortar, escaldar y estabilizar osmóticamente con un jarabe adecuado de composición tal que en el equilibrio se tengan los niveles deseados de a_w , pH y concentración de antimicrobianos. Una vez alcanzado el equilibrio (100-120 horas) la fruta se reempaca con la mínima cantidad de jarabe.

La Tabla I muestra las condiciones de tratamiento para la conservación de frutas por métodos combinados. En todos los casos se encontró que la vida de anaquel a temperatura ambiente fue superior a 6 meses (Argaiz, 2004).

López-Malo *et al.* (1994) preservaron papaya mínimamente procesada logrando una estabilidad microbiológica y sensorial de 5 meses a 25°C, por medio de la tecnología de métodos combinados, reduciendo la a_w y el pH, y adicionando sorbato de potasio y bisulfito de sodio. Estos autores encontraron que no hubo diferencias significativas entre los productos almacenados a 5°C y 25°C, mostrando una buena aceptabilidad.

Argaiz *et al.* (1994) evaluaron la estabilidad durante el almacenamiento a 5°C y 35°C de trozos de papaya conservados por factores combinados aplicando concentración osmótica y un secado superficial final. La papaya estabilizada y deshidratada alcanzó una a_w de 0.97 y un pH de 3.9. Para ambas temperaturas los conteos microbianos demostraron que el producto es estable durante 2 meses. Los resultados de los análisis sensoriales indicaron que los productos fueron iguales durante las primeras seis semanas y fueron diferentes pero igualmente preferidos el resto de los dos meses de almacenamiento.

En duraznos se realizó una sustitución parcial de sacarosa por glucosa como depresor de la actividad de agua y ácido cítrico por ácido fosfórico como acidulante obteniendo buena aceptación, utilizando como antimicrobianos sorbato de potasio y bisulfito de sodio (Argaiz *et al.*, 1993).

Entre los productos que representan la aplicación racional del enfoque combinado y que pueden ser almacenados a temperatura ambiente pueden citarse las frutas de alta humedad similares a las frescas conservadas por la interacción de reducción de la a_w - tratamiento térmico suave - reducción del pH- antimicrobianos (Alzamora *et al.*, 1995).

Las frutas mínimamente procesadas (FMP) por métodos combinados, también llamadas frutas de alta humedad, son la respuesta al creciente énfasis de los consumidores en su demanda por los productos similares al fresco con una alta calidad sensorial y nutritiva; que les garanticen seguridad a su salud, y que además ofrezcan ventajas de facilidad y comodidad. Esta tecnología fue desarrollada con el objeto principal de obtener un producto con características de frescura (sensorialmente similar al producto fresco),

Tabla I. Condiciones de tratamiento para la conservación de frutas por métodos combinados.

Producto	a_w	Agente depresor de a_w	Otros factores de conservación
Cereza	0.95 - 0.96	Sacarosa, 70% jarabe de maíz-sacarosa-agua (5/3/1)	AA=1%, EV pH= 3.6 P=75°C, 30'
	0.92 - 0.96	Sacarosa, glucosa	E= 100°C, 5' pH= 3.3 - 3.9 S= 420-560 ppm SK = 0.1 - 0.22%
Durazno	0.94	Glucosa 51%	E= 100°C, 2' pH= 3.5 S= 150 ppm SK = 0.1 %
			E= 93°C, 2' pH= 3.7 S= 150 - 440 ppm SK = 0.1 %
Manzana	0.98	Sacarosa 37.5%	E= 93°C, 2' pH= 3.8 S= 150 ppm SK = 0.1 %
	0.97	Sacarosa 37.5% Glucosa 40%	E= 100°C, 2' pH= 3.1 S= 150 ppm
Piña	0.98	Sacarosa 37.5%	SK = 0.1 % E= 93°C, 2' pH= 3.7 S= 150 ppm SK = 0.1 %

AA = ácido ascórbico, EV = empacado al vacío, P = pasterización, E = escaldado, SK = sorbato de potasio y S = sulfitos.

*Adaptada de Argaiz (2004)

con la vida de anaquel extendida (aún bajo condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente), utilizando una tecnología simple y energéticamente eficiente. Esto conduce a concluir que la tecnología de métodos combinados aplicada a frutas mínimamente procesadas, ofrece una alternativa interesante para el procesamiento

de frutas con relación a los métodos convencionales de conservación (Alzamora *et al.*, 1995).

Conclusiones

Las investigaciones científicas realizadas hasta ahora han demostrado que el daño que

sufren los alimentos por contaminación microbiana se puede prevenir y controlar mediante la aplicación de la tecnología de métodos combinados, utilizando para ello la reducción de la actividad de agua y el pH, la adición de agentes antimicrobianos, el almacenamiento en refrigeración, entre otros. Por lo anterior, las frutas procesadas y preservadas por métodos combinados cumplen con las demandas y expectativas actuales de los consumidores, respecto a la existencia de alimentos con características similares a los productos frescos, con una vida útil satisfactoria y atributos sensoriales aceptables.

Agradecimientos

M.E. González-Miguel agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento de sus estudios de maestría.

Referencias

- Alzamora, S.M., Cerrutti, P., Guerrero, S. y López-Malo, A. 1995. Minimally processed fruits by combined methods. En J. Welti-Chanes y G. Barbosa-Cánovas (Eds). *Food preservation by moisture control fundamentals and applications*. Technomic, Lancaster, EE.UU. pp. 463-492.
- Argaiz, A. 2004. Frutas tropicales, alternativas para su procesamiento o transformación. En: *Conservación de productos de frutas*. Sociedad Solidaridad Social Yancuitzin Tonatzin. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Americas Puebla Mexico. 120 p.
- Argaiz, A., López- Malo, A y Welti-Chanes, J. 1995. Cinética de primer cambio en el sabor, desarrollo de sabor a cocido e inactivación de pectinesterasa en néctares y purés de mango y papaya. *Rev. Esp. Cienc. Tecol. Aliment.* 35 (1):55-58.
- Argaiz, A., Palou, E. y López-Malo, A. 1994. Estabilidad durante el almacenamiento de papaya conservada por factores combinados aplicando concentración osmótica y secado. *Boletín de divulgación de los grupos mexicanos*. CYTED. 4: 9-17.
- Argaiz, A., Welti-Chanes, J. y López-Malo, A. 1993. Durazno Conservado por factores combinados. *Boletín Internacional de Divulgación*. CYTED. 1: 22-30.
- Badui, D.S. 2006. *Química de los alimentos*. Cuarta edición. Pearson Educación, México. 716 p.
- Booth, I.R y Stratford, M. 2003. Acidulants and low pH. En: N.J. Russell y G.W. Gould (Eds) *Food Preservatives*. Segunda edición, Springer, Inglaterra. 320 p.
- Brock, T.D. y Madigan, M.T. 1993. *Microbiología*. Sexta edición. Prentice Hall, México. 956 p.
- Christian, J. H. 2000. Drying and reduction of water activity. En: B. M. Lund, T. C. Baird-Parker y G. W. Gould (Eds). *The Microbiological Safety and Quality of Food. Vol.1*. Aspen Publishers, Inc. EE.UU. 2080 p.
- Fennema, O.R. 2000. *Química de los alimentos*. Segunda edición. Acribia. Barcelona, España. 1258 p.
- Fernández, R.E., y Sluka, E.E. 2005. Conservation technologies applying combined methods in pepper, bean and eggplant. *Rev. FCA UNCuyo*. Tomo XXXVII. N° 2. 73-81.
- Gould, G. W. 1998. Interference with homeostasis food. En: R. Whittenbury, G. W. Gould, J. G. Banks y R. G. Board (Eds). *Homeostatic Mechanisms in Micro-organisms*. Bath University Press. Inc. EE.UU. 281 p.
- Hocking, A. D. y Pitt, J.I. 2009. *Fungi and food spolage*. Tercera edición. Springer. Australia. 519 p.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., y Golden, D.A. 2006. *Modern Food Microbiology*. Seventh edition. Springer. New Dheli, India. 790 p.
- Leistner, L. y Gorris, L. G. 1995. Food preservation by hurdle technology. *Trends in Food Science Technology*. 6:41-46.
- Leistner, L. y Gould, G. W. 2002. *Hurdle Technologies: Combination Treatments for Food Stability, Safety and Quality*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, Nueva York, EE.UU. 194 p.

- Leistner, L. 2000. Hurdle technology in the design of minimally processed foods. En: S. M. Alzamora, M. S. Tapia y A. López-Malo (Eds). *Minimally Processed Fruits and Vegetables. Fundamentals Aspects and Applications*. Springer. India. pp. 13-27.
- López-Malo, A., Palou, E. y Welti-Chanes, J. 1994. Shelf-stable high moisture papaya minimally processed by combined methods. *Food Res. Int.* 27: 545-55.
- Sánchez-Pineda, M.T. 2003. *Procesos de elaboración de alimentos y Bebidas*. Primera edición. Mundi Prensa. Madrid, España. 518 p.
- Seoánes, C.M. 2003. *Manual de tratamiento reciclado, aprovechamiento y gestión de las aguas residuales de las industrias agroalimentarias*. Primera edición. Mundi Prensa, Madrid, España. 465 p.
- Sofos, J.N. 1989. *Sorbate Food Preservatives*. CRC Press. EE.UU. 231 p.
- Ulloa, J.A. 2007. *Frutas auto estabilizadas en envases por la tecnología de obstáculos*. Primera edición. Universidad Autónoma de Nayarit. Mexico. 158 p.
- Vargas, O.W., Cepeda, O.R. y Barriga, O.R. 2000. *Tecnología de manejo de postcosecha de frutas y hortalizas*. Quinta edición. Instituto interamericano de cooperación para la agricultura. Colombia. 245 p.
- Vergara, B. F. y López-Malo A. 2004. *Conservación de productos de frutas*. Sociedad Solidaridad Social Yancuitzin Tonatlzin. Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas Puebla Mexico. 72-73p.
- Welti-Chanes, J. y Vergara, F. 1997. Actividad de agua. Conceptos y aplicación en alimentos con alto contenido de humedad. En: Aguilera, J.M. *Temas en la tecnología de alimentos*. Vol. 1 CYTED. Instituto Politécnico Nacional. Mexico. 481 p.
- Wiley, R.C. 1994. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*. Primera edición. Chapman & Hall. Nueva York, EE.UU. 368 p.
- Yañez, F.J. y Reyes, C.R. 2006. Estabilización de pulpa de mamey por métodos combinados. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 16(3):121-125.