



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL
CENTRO DE LA REPÚBLICA (PROPAC)**

**“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE AGUA ELECTROLIZADA
NEUTRA EN LA INOCUIDAD Y FRESCURA DE ALIMENTOS
SELECCIONADOS”**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

PRESENTA:

IBQ. ABRIL SELENE REYES ZÚÑIGA

DIRIGIDA POR:

DRA. SOFÍA MARÍA ARVIZU MEDRANO

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Julio, 2017



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“EFECTO DE LA APLICACIÓN DE AGUA ELECTROLIZADA NEUTRA EN LA
INOCUIDAD Y FRESCURA DE ALIMENTOS SELECCIONADOS”

TESIS

que como parte de los requisitos para obtener el grado de:
Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

IBQ. Abril Selene Reyes Zúñiga

Dirigido por:

Dra. Sofía María Arvizu Medrano

SINODALES

Dra. Sofía María Arvizu Medrano
Presidente

Firma

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga
Secretario

Firma

Dra. Minerva Ramos Gómez
Vocal

Firma

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Suplente

Firma

Dr. Eduardo Castaño Tostado
Suplente

Firma

M.S.P. Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Julio, 2017

RESUMEN

El agua electrolizada neutra (AEN) ha mostrado gran capacidad para la inactivación de microorganismos relevantes en alimentos. En este proyecto se evaluó la eficiencia del AEN para inactivar *Salmonella* y alargar la vida útil del queso Oaxaca y la jícama cortada; así como su efecto sobre los principales componentes de los alimentos con la posible formación de compuestos tóxicos. Con la exposición a AEN (56 ppm), *Salmonella* inoculada en la superficie del queso Oaxaca y trozos de jícama se redujo 0.85 y 1.25 Log UFC/porción, respectivamente. En las bacterias lácticas (BAL) naturalmente presentes en jícama se logró una inactivación de ~ 0.8 Log UFC/porción empleando AEN a 35 y 56 ppm; mientras que en queso Oaxaca se obtuvo una reducción máxima de 0.3 Log UFC/ml cuando se aplicó AEN a 35 ppm. Alargar el tiempo de exposición de 5 a 10 minutos, no mejoró el efecto antimicrobiano sobre *Salmonella*, ni sobre las BAL. El efecto antimicrobiano del AEN fue similar en todos los casos a una solución de hipoclorito en concentración equivalente, pero el AEN muestra mayor capacidad para conservar su actividad en presencia de materia orgánica. En jícama expuesta a AEN por 5 y 10 minutos no se detectó la formación de hidroperóxidos, mientras que en queso sumergido por 10 min se generaron estos compuestos en 0.4 ppm; en todos los casos la concentración de hidroperóxidos fue menor que en el alimento expuesto a cloro. Cambios en el perfil electroforético de las proteínas solubles del queso sólo se observaron cuando el queso se expuso a AEN por 10 min. La aplicación de AEN (6 y 35 ppm) no marcó una diferencia en las características de color del queso, ni en el comportamiento de las BAL durante el almacenamiento tanto a 30, como a 4°C; sin embargo, se observó un efecto de inhibición de la producción de hidroperóxidos en ambas temperaturas. La aplicación de AEN (6 y 35 ppm) sobre jícama cortada retrasó el deterioro aproximadamente 4 días en el almacenamiento a 4°C, sin cambios en la textura del alimento. La aplicación de AEN a queso y jícama muestra potencial para ser usada como una estrategia complementaria a las prácticas sanitarias en el control de la inocuidad y la vida útil de estos alimentos.

Palabras clave: agua electrolizada neutra, *Salmonella*, queso, jícama, vida útil.

ABSTRACT

Neutral electrolyzed water (NEW) has shown good capacity for the inactivation of relevant microorganisms in food. In this project, the efficiency of NEW to inactivate *Salmonella* and to extend shelflife of Oaxaca cheese and cut jicama was evaluated; as well as its effect on toxic products formation due to interaction with main compounds. With NEW exposition (56ppm), *Salmonella* on the surface of the Oaxaca cheese and jicama pieces was reduced 0.84 and 1.25 Log CFU/portion, respectively. A reduction of ~ 0.8 Log CFU/portion in lactic acid bacteria (LAB) naturally present in jicama was achieved employing NEW at 35 and 56 ppm; while only a maximum reduction of 0.3 Log CFU/ml was obtained when NEW at 35 ppm was applied. Extending exposure time from 5 to 10 min did not improve the antimicrobial effect. The antimicrobial effect of NEW was similar to a solution of a chloride solution at equivalent concentration in all cases, but NEW showed better capacity to preserve its activity in the presence of organic matter. Hydroperoxides formation was not detected in jicama exposed to NEW for 5 and 10 minutes, while these compounds were generated at 0.4 ppm in cheese immersed for 10 minutes; but in all cases, it was less than hidroperoxide concentration in food exposed to chloride solution. Changes in the electrophoretic profile of soluble proteins of cheese were only observed when the food was exposed to NEW for 10 minutes. NEW application (6 and 35 ppm) did not make a difference in the color characteristics of the cheese, nor in the behavior of the BAL during storage both at 30 and 4 °C; nevertheless, an inhibition effect was observed in the production of hydroperoxides in both temperatures. The application of NEW (6 and 35 ppm) on cut jicama slowed the spoilage for approximately 4 days at 4°C storage, without changes in food texture. The application of NEW on cheese and jicama shows potential to be used as a complementary strategy to sanitarian practices within food safety control system and its shelflife.

Keywords: Neutral electrolyzed water, *Salmonella*, cheese, jicama, shelflife.

DEDICATORIAS

A ti mi Dios, por amarme y bendecirme tanto durante este tiempo. Muchas gracias mi Señor.

A mi preciosa hijita Jose, por llegar a bendecir nuestra vida, TE AMO.

A mi esposo Misael, por amarme tanto y apoyarme siempre.

A mis padres, María Luisa y Enrique, y mi hermana Cristina, por su gran amor y apoyo incondicional.

A mi Dra. Sofí, por confiar en mí y compartirme su gran conocimiento.

A nuestros amigos, Marta y Gelacio, por su gran amistad y recibirme siempre con tanta amabilidad.

AGRADECIMIENTOS

A mi Dra. Sofía María Arvizu Medrano, por todo su apoyo, comprensión y por su dirección en este proyecto.

A mis amigas, Reyna y Sam, por su amistad y por todo el apoyo que me brindaron.

A mis compañeros de laboratorio, Dalia, Carmen, Pablo, Juan Carlos, Lalo, Omar, Alex y a la Sra. Marta.

A mis sinodales, Dra. Montserrat Hernández Iturriaga, Dra. Minerva Ramos Gómez, Dra. Silvia Lorena Amaya Llano y Dr. Eduardo Castaño Tostado, por sus aportaciones para la mejora de este trabajo.

A la Universidad Autónoma de Querétaro y al Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República, por todo el apoyo brindado durante la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico otorgado durante el programa de maestría.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
TABLA DE CONTENIDO.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE CUADROS	XI
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
2.1 Agua electrolizada neutra.....	3
2.1.1 Definición y origen	3
2.1.2 Acción sobre microorganismos	5
2.1.2.1 Microorganismos	5
2.1.2.2 Mecanismo de inactivación	5
2.1.3 Aplicaciones del agua electrolizada en alimentos	7
2.1.4 Ventajas y desventajas del uso del agua electrolizada	14
2.2 <i>Salmonella</i>	16
2.2.1 Características	16
2.2.1.1 Identidad y taxonomía	16
2.2.1.3 Hábitat	17
2.2.2 Salmonelosis	18
2.2.3 Asociación con los alimentos	18
2.2.4 Frecuencia de casos y brotes.....	19
2.3 Queso Oaxaca	20
2.3.1 Definición y consumo	20
2.3.2 Características físicas y químicas	21

2.3.3	Proceso de elaboración.....	22
2.3.4	Brotos de enfermedad asociados a consumo de queso.....	24
2.3.5	Control de microorganismos en queso	27
2.3.5.1	Nisina	28
2.3.5.2	Natamicina	28
2.3.5.3	Ácido peracético	28
2.4	Jícama.....	29
2.4.1	Definición y origen	29
2.4.2	Características sensoriales y químicas	29
2.4.3	Producción y consumo	30
2.4.4	Jícama como producto mínimamente procesado.....	30
2.4.4.1	Procesamiento.....	31
2.4.4.2	Deterioro y vida útil.....	32
2.4.5	Problemas de inocuidad asociados al PMP	33
2.4.6	Brotos en productos mínimamente procesados	33
2.4.7	Control de microorganismos en PMP	35
2.4.7.1	Cloro.....	35
2.4.7.2	Cloruro de sodio acidificado (ASC).....	35
2.4.7.3	Agua ozonizada	35
2.4.7.4	El cloruro cetylpiridio (CPC)	35
IV.	OBJETIVOS.....	36
4.1	Objetivo general	36
4.2	Objetivos específicos	36
V.	METODOLOGÍA	37
5.1	Materiales.....	37

5.1.1 Equipo	37
5.1.2 Medios de Cultivo	37
5.1.3 Reactivos.....	38
5.1.4 Agua electrolizada neutra.....	38
5.1.5 Material Biológico	39
5.2 Métodos.....	39
5.2.1 Procedimientos generales	39
5.2.1.1 Caracterización del AEN	39
5.2.1.2 Activación de cepas y preparación del inóculo.....	39
5.2.1.3 Inoculación de los alimentos	40
5.2.1.4 Aplicación de tratamientos con AEN	40
5.2.2 Evaluación del efecto antimicrobiano de AEN sobre células libres y la interacción con los alimentos.....	40
5.2.3 Efecto del tiempo de exposición y la concentración de AEN sobre la inactivación de <i>Salmonella</i> en queso y jícama.	41
5.2.5 Evaluación del efecto de la aplicación de AEN sobre lípidos	42
5.2.6 Efecto en el perfil electroforético en las principales proteínas totales y solubles en agua del queso Oaxaca.	43
5.2.6.1 Cuantificación de proteínas	44
5.2.7 Efecto de la aplicación de AEN en la vida útil de Queso Oaxaca y jícama.....	44
5.2.7.2 Determinación de textura	45
5.2.7.3 Determinación de pH y acidez titulable	45
5.2.7.4 Análisis estadístico	46
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
6.1 Evaluación del efecto del AEN sobre células libres de <i>Salmonella</i> y la interacción con los alimentos	47

6.2 Efecto de la concentración de AEN y tiempo de exposición sobre la inactivación de <i>Salmonella</i> y BAL en queso Oaxaca y jícama.	49
6.2.1 Efecto sobre <i>Salmonella</i>	49
6.2.2 Efecto sobre BAL.....	53
6.2 Evaluación del efecto de la aplicación de AEN sobre los lípidos del alimento.....	57
6.3 Evaluación del efecto de la aplicación de AEN sobre las proteínas de queso	59
6.4 Efecto de la aplicación de AEN sobre la vida útil de queso Oaxaca y jícama.....	64
6.4.1 Queso almacenado a 4 °C.....	64
6.4.2 Queso almacenado a 30 °C.....	69
6.4.3 Jícama almacenada a 4 °C.....	73
VII. CONCLUSIONES	76
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
ANEXO 1.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

1. Proceso de obtención de agua electrolizada y los componentes producidos (adaptado de Huang <i>et al.</i> , 2008).	4
2. Reducción logarítmica de células de <i>Salmonella</i> Enteritidis después del tratamiento de 5 min en AEN (56 ppm Cl) y cloro comercial (CC; 56 ppm) con y sin adición de materia orgánica queso entero (QE); queso homogeneizado (QH); jícama entera (JE) y jícama homogeneizada (JH).	48
3. Efecto del tiempo de contacto en la reducción de <i>Salmonella</i> spp. inoculada en queso Oaxaca después del tratamiento con AEN (56 ppm Cl), agua destilada estéril (AD) y cloro comercial (CC; 56 ppm) como controles.	49
4. Efecto de la concentración del desinfectante en la reducción de <i>Salmonella</i> spp. inoculada en queso Oaxaca después del tratamiento con AEN (0.1 a 56 ppm Cl).	50
5. Reducción de <i>Salmonella</i> spp. inoculada en jícama después del tratamiento con AEN (12, 35 y 56 ppm Cl), agua destilada estéril (ADE) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm), durante 5 min.	52
6. Reducción de <i>Salmonella</i> spp. inoculada en jícama después del tratamiento con AEN (56 ppm Cl), agua destilada estéril (AD) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm), durante 5 y 10 min.	52
7. Reducción de BAL después del tratamiento con AEN (6, 12, 35 y 56 ppm Cl), agua destilada estéril (ADE) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm), durante 5 min.	54
8. Reducción de BAL en jícama después del tratamiento con AEN (12, 35 y 56 ppm Cl), agua destilada estéril (ADE) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm) durante de 5 min.	54
10. Contenido de hidroperóxidos en queso Oaxaca (Q) expuesto a agua (control), AEN y cloro comercial (CC), ambos a 56 ppm, por 5 y 10 min.	58
11. Contenido de hidroperóxidos en jícama expuesta a agua (control), AEN y cloro (ambos a 56ppm) por 5 y 10 min.	59
12. Perfil proteico del extracto acuoso de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 5 min.	60
13. Perfil proteico del extracto acuoso de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 10 min.	61

14. Perfil proteico de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 5 min.	62
15. Perfil proteico de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 10 min.	63
Figura 16. Comportamiento de BAL en queso Oaxaca expuesto a agua electrolizada (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.	65
17. Cambios en el pH del queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.	65
18. Concentración de ácido láctico en queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.	66
19. Concentración de hidroperóxidos en queso Oaxaca expuesto a agua electrolizada (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.	67
20. Evolución de los parámetros (L,a, b, c, H) asociados al color de queso Oaxaca almacenado a 4 °C y previamente expuesto a agua (Control) y agua electrolizada (6 y 35 ppm).	68
21. Comportamiento de BAL en queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.	69
22. Cambios en el pH del queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.	70
23. Concentración de ácido láctico en queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.	70
24. Concentración de hidroperóxidos en queso Oaxaca expuesto a agua electrolizada (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.	71
25. Evolución de los parámetros (L,a, b, c, H) asociados al color de queso Oaxaca almacenado a 30 °C y previamente expuesto a agua (Control) y agua electrolizada (6 y 35 ppm).	72
26. Comportamiento de BAL en jícama cortada expuesta a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C. Las flechas negras indican los días en los que comenzó el deterioro (~ 7 Log UFC) para los tratamientos y el control	73

27. Cambios en el pH de la jícama expuesta a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C. 74
28. Concentración de ácido láctico en jícama expuesta a AEN (6 y 35 ppm) agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C. 74
29. Cambios en la dureza de la jícama expuesta a AEN (6 y 35 ppm) agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4°C.

ÍNDICE DE CUADROS

1. Aplicación de agua electrolizada en hortalizas enteras.	6
2. Aplicación de agua electrolizada en hortalizas mínimamente procesadas.	9
3. Aplicación de agua electrolizada en frutas enteras.	11
4. Aplicación de agua electrolizada en frutas mínimamente procesadas.	12
5. Aplicación de agua electrolizada en carnes y embutidos.	13
6. Aplicación de agua electrolizada en pescados y mariscos	14
7. Características bioquímicas de <i>Salmonella</i> .	17
8. Parámetros físicos, químicos y de textura del queso Oaxaca (García, 2006).	21
9. Etapas de elaboración del queso Oaxaca (Adaptado de Villegas de Gante, 2004).	23
10. Algunos de los brotes registrados por consumo de queso (Adaptado de Koutsa <i>et al.</i> 2010).	25
11. Aditivos con efecto antimicrobiano permitidos en quesos frescos y procesados por la NOM-243-SSA1-2010.	29
12. Tratamientos de AEN con materia orgánica.	41
13. Características químicas de agua y soluciones de AEN e hipoclorito de sodio antes y después de ser aplicadas a queso Oaxaca por 5 y 10 min.	56
14. Características químicas de agua y soluciones de AEN e hipoclorito de sodio antes y después de ser aplicadas a jícama por 5 y 10 min.	56

I. INTRODUCCIÓN

El agua electrolizada ha mostrado gran capacidad para la inactivación de diversos microorganismos relevantes en alimentos (Kim *et al.*, 2000). Su uso se ha dado principalmente en la aplicación a superficies inertes, pero su gran efectividad ha llevado a introducirla a la aplicación sobre alimentos, especialmente en frutas y hortalizas (Tomás-Callejas *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2013).

Los productos listos para el consumo son alimentos de gran demanda en los últimos años en todo el mundo. Sin embargo, se han reportado importantes brotes (CDC, 2016) por consumo de este tipo de alimentos. Las frutas y hortalizas mínimamente procesadas podrían contener microorganismos patógenos o deterioradores que comprometan la inocuidad del producto o su vida útil (Artés *et al.*, 2007). Generalmente, la estrategia que se aplica a estos productos para inactivar patógenos y minimizar poblaciones de deterioradores, es la desinfección sobre la fruta íntegra y después del cortado de la porción comestible previo al empacado (Aguayo *et al.*, 2014).

Por otro lado, los quesos frescos también se consideran alimentos listos para consumo, dado que no requieren ningún tratamiento por parte del consumidor previo a su ingesta y con frecuencia se han reportado como vehículos de patógenos, principalmente *Salmonella* (Gould *et al.*, 2014). Durante su elaboración y comercialización se pueden presentar oportunidades para el ingreso y desarrollo de microorganismos patógenos y deteriorados tanto en el interior como en la superficie del alimento.

La aplicación de AEN se ha empezado a explorar sobre alimentos cada vez más complejos y ricos en nutrientes, como carne de cerdo, pollo y pescado (Feliciano, 2010; Ding, 2010; Rahman, 2013; Hawkins, 2016). La actividad antimicrobiana del AEN está relacionada con su potencial oxidante, el cual podría afectar a compuestos propios de los alimentos a los que se aplique, como es el caso de las proteínas y los lípidos. La oxidación de estos compuestos puede disminuir la calidad nutricional del alimento y propiciar la generación de compuestos tóxicos.

En este trabajo se investigó si la aplicación del AEN es capaz de inactivar *Salmonella* y prolongar la vida útil de queso Oaxaca y jícama cortada, así como su efecto sobre proteínas y lípidos de estos alimentos.

II. ANTECEDENTES

2.1 Agua electrolizada neutra

2.1.1 Definición y origen

El agua electrolizada (AE) es una solución producida a partir de la electrólisis de una solución salina mediante la aplicación de un alto voltaje (Huang *et al.*, 2008).

La electrólisis de agua se usó por primera vez en Japón alrededor de 1900, en la industria de los refrescos, incluyéndola en la producción de hipoclorito de sodio (JSIA, 1982). En 1980, esta tecnología fue introducida dentro del mercado como un sanitizante por la supervisión de una tienda de dispensadores automáticos de agua (Iseki *et al.*, 2002).

Actualmente, el AE es producida pasando una solución de sal diluida a través de una celda electrolítica, que contiene un ánodo y un cátodo separados por una membrana. Mediante los electrodos se hace pasar un voltaje de corriente directa, los iones cargados negativamente como de cloro e hidróxido se mueven en la solución diluida hacia el ánodo para dar oxígeno gaseoso, cloro gaseoso, ion hipoclorito, ácido hipocloroso, ácido hidroclicórico; mientras que, los iones cargados positivamente, como hidrógeno y el sodio, se moverán hacia el cátodo para tomar los electrones y convertirlos en hidrógeno gaseoso e hidróxido de sodio. En este proceso se producen dos tipos de agua simultáneamente (Hsu, 2005).

El agua electrolizada ácida (AEA) tiene un nivel de pH bajo (2.3-2.7), alto potencial de óxido reducción (>1000 mV), alto contenido de oxígeno disolvente y está libre de contenido de cloro (las concentraciones dependen de la máquina utilizada) y se produce en la parte del ánodo (Hsu, 2005).

El agua electrolizada reducida (AER) con alto pH (10.0-11.5), alta cantidad de hidrogeno disolvente y bajo potencial de óxido reducción (-800 a -900 mV), es producida en el lado del cátodo (Hsu, 2005). El AER tiene fuerte potencial de reducción y puede ser usado para remover suciedad y grasa de superficies de tablas para picar y otros utensilios de la cocina.

Además del AEA y AER, se puede obtener un tercer tipo, el agua electrolizada neutra, que se obtendrá de la combinación de agua electrolizada ácida y la básica que se formen en la celda.

El principio de producción del agua electrolizada se muestra en la Figura 1, obteniendo las siguientes moléculas dependiendo del polo (positivo o negativo):

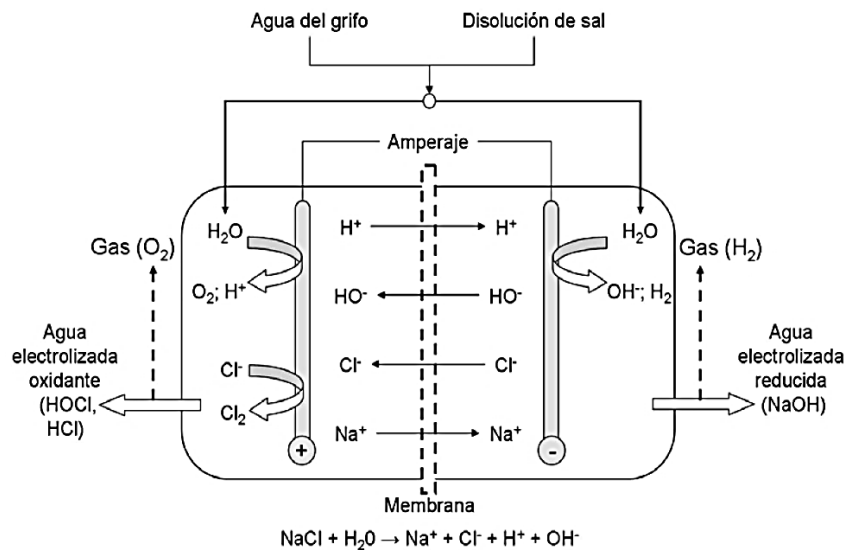
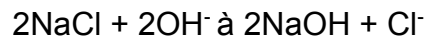
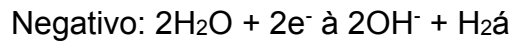
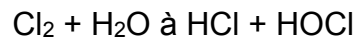
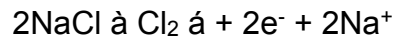
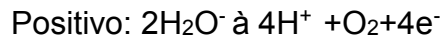


Figura 1. Proceso de obtención de agua electrolizada y los componentes producidos (adaptado de Huang *et al.*, 2008).

Con ventajas y miniaturización de los equipos para la generación, la tecnología de la electrólisis del agua ha sido implementada en varios campos y ahora se está probando como una propuesta de tratamiento no térmico para el control de los microorganismos (Yoshida, 2003).

2.1.2 Acción sobre microorganismos

2.1.2.1 Microorganismos

Estudios (Cuadros 1 al 6) han mostrado que el agua electrolizada tiene efecto antimicrobiano sobre los siguientes microorganismos:

Patógenos y deterioradores: *Cronobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Pseudomona putida*, *Pseudomona aureginosa*, *Enterobacter aerogenes*.

Hongos: *Botryoshaeria berengeneria*, *Monilinia fructicola*, *Botrytis cinérea*, *Penicillium expansum*.

Microorganismos indicadores: bacterias mesófilas aerobias (BMA), coliformes, hongos y levaduras y bacterias ácido lácticas.

2.1.2.2 Mecanismo de inactivación

Existen varias teorías acerca del mecanismo de inactivación que tiene el agua electrolizada sobre microorganismos.

McPherson (1993) señala por un lado que, el alto potencial de óxido reducción que tiene el agua electrolizada ácida causa modificaciones tanto en la producción de ATP como en los fluidos metabólicos debido al cambio en el flujo de electrones de las células microbianas. Por otro lado, menciona que el bajo pH podría sensibilizar la membrana externa de la célula y esto permitiría la entrada del ácido hipocloroso (HOCl), el cual es conocido por su efecto bactericida.

Como se mencionó el HOCl es el compuesto más activo de los derivados del cloro, aparentemente lo que hace es matar a las células microbianas inhibiendo la oxidación de la glucosa ya que el cloro oxida los grupos sulfidrilos de enzimas importantes en este metabolismo. Marriott y Gravani en el 2006 también describieron otras de las formas por las que el cloro actúa sobre las bacterias que son las siguientes: 1.- Mediante la interrupción de la síntesis de proteínas; 2.- Descarboxilación oxidativa de aminoácidos a nitritos y aldehídos; 3.- Por reacción

con ácidos nucleicos, purinas y pirimidinas; 4.- Por alteración del metabolismo por la destrucción de enzimas clave; 5.- Induciendo daño en el ADN que va acompañado de la pérdida de la habilidad que tiene el ADN de transformarse; 6.- Evitando la absorción de oxígeno y la fosforilación oxidativa; 7.- Formación de derivados tóxicos entre el cloro y la citosina y la formación de aberraciones cromosomales. Otra de las teorías de inactivación bacteriana fue descrita por Liao *et al.* (2007) donde resaltan que el efecto bactericida se debe al alto potencial de oxidación que presenta el agua electrolizada sobre las bacterias, señalando que el proceso de oxidación ocurre cuando el oxígeno entra en contacto con otros compuestos causando la pérdida de electrones.

Las células tratadas con agua electrolizada ácida presentaban la pared celular arrugada con poros redondos que permitían la salida de estructuras citoplasmáticas (Osafune *et al.*, 2006).

Otro estudio señala que las concentraciones de cloro acuoso molecular, HOCl, ion hipoclorito y cloro gaseoso son los factores que explican el potencial bactericida del agua electrolizada (Len *et al.*, 2000).

2.1.3 Aplicaciones del agua electrolizada en alimentos

Hortalizas enteras

En diversos estudios (Cuadro 1) se reporta el uso de agua electrolizada ácida (ej. lechuga (Koseki, 2001)) y neutra (Rico, 2008; Izumi, 2000). Las concentraciones que se manejan en la mayoría de los vegetales mencionados son desde 0 hasta 200 ppm de Cl. El método de aplicación en la mayoría es por inmersión a excepción de un estudio en el que se aplica por aspersion ultrasónica en espinaca (Hsu, 2012), los tiempos de aplicación en general son 3, 5 y 10 min. Respecto al efecto que se estudia, en la mayoría, es antimicrobiano (ej. *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, BMA etc.) aunque hay algunos que son sensoriales como en el caso de brócoli (Hung, 2010), papa (Park, 2007) y otros como en champiñones donde se estudia la parte microbiológica y sensorial (Jeong, 2000). Los mejores resultados, es decir, las mayores reducciones microbianas o aumento de días en la vida de anaquel son a concentraciones de 50 ppm de Cl en espinaca (Izumi, 2000) y 60 ppm de Cl (Rico, 2008).

Hortalizas mínimamente procesadas

En hortalizas mínimamente procesadas (Cuadro 2) se han aplicado los tres tipos de agua electrolizada (neutra, ácida y alcalina) a concentraciones desde 40 a 60 ppm de Cl. Los microorganismos que se estudian son principalmente *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., bacterias, levaduras y hongos, algunos de estos estudios reportan también un análisis sensorial como en la col rallada (Gómez-López, 2002). En general, los mejores resultados se obtienen al aplicar cortos tiempos de exposición, como en el caso de la zanahoria rallada donde el mejor tiempo fue de 3 min.

Cuadro 1. Aplicación de agua electrolizada en hortalizas enteras.

Alimento	Agua electrolizada		Aplicación		Evaluación	Reducción (Log UFC)	Referencia
	pH	Cl (ppm)	Modo	Tiempo (min)			
Lechuga	6.5	12,20 y 120	Inmersión	1	Bacterias mesófilas aerobias	2.2-2.4	Rico, 2008
Col	2.5	40.3	Inmersión	1	Bacterias mesófilas aerobias, coliformes, <i>Bacillus cereus</i> , psicrótrofos	1.7, 1.6, 1.0, 1.1 respectivamente	Koseki, 2000
Espinaca	6.8	15, 20, 30 y 50	Inmersión	3	Bacterias mesófilas aerobias	0.5 (15 y 30 ppm), 2.3 (20 ppm) y 2.9 (50 ppm)	Izumi, 2000
Nabo	7	40, 70 y 100	Inmersión	2	Bacterias mesófilas aerobias, enterobacterias y psicrótrofos	0.6 (40 ppm) y 1-1.3 (70 y 100 ppm)	Tomás-Callejas, 2011
Cilantro	2.4	16.8	Inmersión	5	Bacterias mesófilas aerobias y enterobacterias	1 y 0.66 respectivamente	Wang, 2004
Papa	2.5 y 8.7	91-105	Inmersión	3-5 días	Cuenta total viable, hongos y levaduras, coliformes	0.15, 0.7 y 4.5 respectivamente	Park, 2007
Camote	2.5 y 8.5	100 y 200	Inmersión	30	Coliformes, hongos y levaduras	1.65 y 2 respectivamente	Lee, 2007
Champiñón	Ácida	10-18	Inmersión	5	Coliformes	3	Jong, 2000
Jitomate	7.2	89	Inmersión	30 y 60 s	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> y <i>Escherichia coli</i>	3.6 a 4.7 en promedio	Deza, 2003

Cuadro 2. Aplicación de agua electrolizada en hortalizas mínimamente procesadas.

Alimento	Agua electrolizada		Aplicación		Evaluación	Reducción (Log UFC)	Referencia
	pH	Cl (ppm)	Modo	Tiempo (min)			
Zanahoria rallada	11 + ác. cítrico (1%)	50-60	Inmersión	1, 3 y 5	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> , hongos y levaduras	2.7 patógenos y 4 hongos y levaduras	Rahman, 2011
Col rallado	8.3	40	Inmersión	5	Psicrótrofos, bacterias mesófilas aerobias y levaduras	0.3 en promedio	Gómez-López, 2007
Brócoli	7	100	Inmersión	5	Bacterias mesófilas aerobias, psicófilos, enterobacterias, hongos y levaduras,	1.7, 1.3, 3.6 y 1.8 respectivamente	Rico-Navarro, 2014
Pimiento	5	28-30	Inmersión	1, 3 y 5	<i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> Typhi	Lm: 0.5 (1), 1.2 (3), 1.6 (5) y ST: 0.5 (1), 1.1 (3) y 1.6 (5)	Luo, 2015
Lechuga	8.6	50	Inmersión	1, 3 y 5	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Erwinia carotovora</i>	1-2 en promedio	Abadías, 2008
Jícama	2.5	80-100	Inmersión	5	<i>Salmonella</i> , bacterias mesófilas aerobias y hongos y levaduras	2.9, 1.15 y 1.02 respectivamente	Tan, 2015

Frutas enteras

En las frutas enteras (Cuadro 3) se ha utilizado agua electrolizada tanto ácida como neutra, el intervalo de concentración de cloro es más amplio (40-200 ppm Cl), el modo de aplicación es por inmersión y los tiempos de exposición van desde 5 hasta 30 min. En las frutas los estudios están dirigidos, en la parte microbiológica, no sólo a bacterias u hongos en general si no que profundizan en analizar el efecto antimicrobiano en diferentes especies de hongos como: *Penicillium expansum*, *Monilinia furticola*, *Botrytis cynerea* etc) ya que son también uno de los principales problemas por el daño que causan a los frutos, no al consumidor. También se estudian aspectos como el color en las frutas, apariencia, textura entre otros. Los resultados que se obtienen son favorables a concentraciones altas para aquellos frutos con cutícula externa (ej. 200 ppm Cl en pera (Al-Haq, 2002)), en el caso de frutas como la fresa, 68 ppm de Cl y 5 min de exposición son suficientes para obtener reducciones microbianas significativas.

Cuadro 3. Aplicación de agua electrolizada en frutas enteras.

Alimento	Agua electrolizada		Aplicación		Evaluación	Reducción (Log UFC)	Referencia
	pH	Cl (ppm)	Modo	Tiempo (min)			
Manzana	2.9 y 7.5	41-60	Inmersión	2 y 5	<i>Penicillium expansum</i>	2.7- 4.1	Okull, 2004
Uva	6.3-6.5	200	Inmersión + aspersión	10	<i>Monilinia fructicola</i> y <i>Botrytis cinerea</i>		Guentzel, 2010
Fresa	2.6	39.2 y 68	Inmersión + agitación	1, 5 y 10	<i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Escherichia coli</i>	2.1 - 2.7 y 2.3 respectivamente en promedio	Udompijitkul, 2007
Mandarina	Ácida	102	Inmersión	4, 8 y 10	<i>Penicillium digitatum</i> (% de infección)	al día 18: 8.3% (8 min) y 16.7 % (4 min) de enfermedad, control (83% de enfermedad)	Wangchai, 2010
Pera	2.6-5.7	150, 200, 250	Inmersión	10	<i>Bothryosphaeria berengeneria</i>	53% - de incidencia (150 ppm), 42%- (200 ppm) y reducción de 11 mm de diámetro con 250 ppm	Al-Haq, 2002
Mango	2.7	55	Inmersión	10	Respiración, firmeza, ácido ascórbico, fenoles y capacidad antioxidante	20 días de anaquel (maduro) y 30 días verde	Shivashankara, 2004
Durazno	6.3	200	Inmersión + aspersión	10	<i>Botrytis cinerea</i> y <i>Monilinia fructicola</i> (% de infección)	No diferencias en el % de infección respecto al control (p>0.05)	Guentzel, 2010

Frutas mínimamente procesadas

Cuadro 4. Aplicación de agua electrolizada en frutas mínimamente procesadas.

Alimento	Agua electrolizada		Aplicación		Evaluación	Reducción (Log UFC)	Referencia
	pH	Cl (ppm)	Modo	Tiempo (min)			
Manzana	8.3-8.4	50 y 100	Inmersión	5	<i>E. coli</i> , <i>Listeria innocua</i> y <i>Salmonella choleraesui</i>	<i>E. coli</i> : 1.4 (50 ppm) y 1.7 (100); <i>Listeria innocua</i> : 1.5 (50 ppm) y 1.8 (100 ppm); <i>Salmonella Choleraesuis</i> : 1.4 (50 ppm) y 1.6 (100 ppm).	Graca, 2011
Pera	2.8 y 8.1	100	Inmersión	5	<i>Cronobacter sakazakii</i>	1.3 (ácida) y 1.2 (neutra)	Santo, 2016
Melón	2.8 y 8.1	100	Inmersión	5	<i>Cronobacter sakazakii</i>	1.7 (ácida) y 1.2 (neutra)	Santo, 2016

Carnes y embutidos

En carnes (Cuadro 5) en general, se usa agua electrolizada neutra y ácida, a concentraciones que van desde 10 hasta 66 ppm, los principales métodos de aplicación son por inmersión y aspersion. Los principales tiempos de exposición se encuentran entre 5 s y 15 min. *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* Thyphi y *S. Thyphimurium* son los principales patógenos estudiados, junto con hongos y levaduras. Los principales tiempos de exposición, en los cuales ya hay reducciones significativas de los microorganismos están entre 3 y 5 min. En estudios de vida de anaquel, como en el caso de cerdo (Rahman, 2013) 5 min es suficiente para lograr un aumento de 6 días de anaquel cuando se utiliza agua

electrolizada neutra en combinación con lactato de calcio, además que en estudios como este ya se analizan otros aspectos importantes como la oxidación de lípidos.

Cuadro 5. Aplicación de agua electrolizada en carnes y embutidos.

Alimento	Agua electrolizada		Aplicación		Evaluación	Reducción (Log UFC)	Referencia
	pH	Cl (ppm)	Modo	Tiempo (min)			
Res	6.2	5	Inmersión	0.5, 1, 3, 5 y 10	<i>E. coli</i>	1.64 en promedio	Ding, 2010
Pollo	6.2	10	Aspersión	15, 30, 45 y 60 s	<i>Salmonella enterica</i>	0.44 a 0.56	Hawkins, 2016
Cerdo	6.8	10	Inmersión	1, 3, 5, 7 y 10	Cuenta total viable, hongos y levaduras, <i>E. coli</i> y <i>L. monocytogenes</i>	1.28, 1.01, 1.73 y 1.82 respectivamente	Rahman, 2013
Salchicha y jamón	2.3	45	Inmersión + aspersión	1, 5, 10, 15 y 30	<i>L. monocytogenes</i>	1.5 inmersión y 0.5 aspersión	Fabrizio, 2015

Pescados y mariscos

En estos estudios (Cuadro 6) es común encontrar el uso de agua electrolizada tanto ácida como neutra en combinación con otros compuestos antimicrobianos, como aceites esenciales (Mahmoud, 2004), quitosan (Zhou, 2011). El intervalo en las concentraciones es amplio (10-150 ppm Cl), el principal método de aplicación es por inmersión, aunque también se utiliza el hielo como en tilapia y paparda (Feliciano, 2010; Kim, 2006). Los tiempos de aplicación van desde 5 min hasta días cuando se utiliza el hielo por ejemplo. Los estudios están enfocados al estudio de patógenos, BMA, aspecto sensorial pero también, y muy importante, a analizar efectos en parámetros químicos como la oxidación de lípidos y proteínas. Otros estudios también han evaluado la aplicación de agua electrolizada en salmón (Pubasate, 2010); carpa (Mahmoud, 2004); pez globo (Zhou, 2011); paparda

(Kim, 2006) y trucha (Al-Holy, 2015).

En mariscos (Cuadro 6) se ha aplicado agua electrolizada ácida y alcalina, con concentraciones entre 40 y 60 ppm de Cl, el método de aplicación es inmersión con cortos tiempos de exposición (2 y 5 min), estudiando el aspecto microbiológico y sensorial. Hay algunos productos como en el caso de camarón que se analizó tanto cocido como crudo, para comparar cambios sensoriales por la aplicación de diferentes soluciones (agua electrolizada, agua de la llave y cloro) y no hay diferencia significativa entre éstas (Loi-Braden, 2005). También existen estudios de aplicación de agua electrolizada en almejas (Al-Quadiri, 2016); mejillones (Al-Quadiri, 2016) y ostiones (Kim, 2004).

Cuadro 6. Aplicación de agua electrolizada en pescados y mariscos.

Alimento	Agua electrolizada		Aplicación		Evaluación	Reducción (Log UFC)	Referencia
	pH	Cl (ppm)	Modo	Tiempo (min)			
Camarón	2.6	10	Inmersión	2 y 5	<i>E. coli</i> y <i>Salmonella</i>	0.7 (2 y 5 min); 0.87 (2 min) y 0.7 (5min)	Loi-Braden, 2005
Tilapia	6.8	150	Inmersión	3d	<i>E. coli</i> y <i>L. innocua</i>	< 1 en promedio	Feliciano, 2016
Atún	2.2	10, 50 y 100	Inmersión	5	Bacterias mesófilas aerobias	0.5 (10 ppm), 0.8 (50 ppm) y 1.1 (100 ppm)	Huang, 2006

2.1.4 Ventajas y desventajas del uso del agua electrolizada

La principal ventaja que presenta el usar agua electrolizada oxidante, como también se le conoce, frente a otros desinfectantes químicos es su seguridad, tanto ambiental como en su manejo (Huang, 2007). Respecto a su manejo tiene grandes ventajas en comparación con desinfectantes tan comunes como el hipoclorito de sodio, del que se ha demostrado su toxicidad (Mori *et al.*, 1997), ya que el AE no es corrosiva con la piel, mucosas, membranas o materiales

orgánicos. En cuanto al aspecto ambiental, el agua electrolizada representa un riesgo mucho menor, ya que una vez que se ha utilizado puede convertirse en agua común por contacto con materia orgánica o al diluirse con agua del grifo (Huang, 2007).

Por otro lado, el uso de agua electrolizada ácida reduce los tiempos de limpieza o aplicación, es de fácil manejo para quien la aplica, ya que no requiere equipo especial de quién la maneja y como se mencionó causa muy pocos efectos adversos (según la concentración de cloro o pH que presente) (Tanaka *et al.*, 1999). En los últimos años se han implementado con gran éxito en la industria alimentaria para el lavado y desinfección de equipos y superficies de acero inoxidable, ya que no representa ningún riesgo para los alimentos que están en contacto con estas superficies (Huang, 2007).

Finalmente, el uso de agua electrolizada (ácida o neutra) es relativamente más barato (0.8417 pesos/L) que otros desinfectantes como el hipoclorito de sodio, esto debido a que se puede producir con un generador propio (si así se desea) y representaría sólo un gasto de inversión inicial, ya que a lo largo de su uso únicamente se requerirá hacer gasto en agua corriente, sal y la electricidad que pueda necesitarse por uso del generador (Walker *et al.*, 2005b).

Respecto a las desventajas que puede presentar el agua electrolizada se tiene que con base en estudios y la naturaleza del AEN (Hsu, 2005; Huang *et al.*, 2008), se sabe que tiene potencial de oxidación sobre compuestos orgánicos. Esta podría ser una posible desventaja para aplicarse como aditivo en alimentos con altos contenidos de proteínas y lípidos. Por ejemplo, en la peroxidación lipídica, un proceso que se presenta en 3 etapas conocidas como: iniciación, propagación y terminación se da la formación de hidroperóxidos y por la degradación de éstos se generan compuestos volátiles como los ésteres, cetonas, aldehídos, hidrocarburos, alcoholes, ácidos orgánicos entre otros; los cuales producen cambios sensoriales que a la vez determinan la calidad del alimento (Gray, 1978; Rojano, 1997) y no solo esto si no que algunos de ellos como es el caso aldehídos (malondialdehído) se ha mostrado que tiene efecto tóxico para la salud de los

consumidores (Esterbauer, 1990).

En los procesos de oxidación de proteínas, en particular en la oxidación de algunos aminoácidos (tirosina y triptófano), se forman compuestos tóxicos para el humano, como el N-forminlkinurenina (NFK) (Dalsgard, 2007). Se ha sugerido que este compuesto causa un efecto negativo en el sistema nervioso central de los humanos. Por otro lado, respecto a las características nutrimentales, éstas podrían reducirse, si la oxidación llegara a afectar estructuralmente a las proteínas (Dalsgard, 2007).

2.2 Salmonella

Dentro de los microorganismos patógenos destaca *Salmonella*, ya que según reportes del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC, 2016) en Estados Unidos, de los brotes causados por consumo de alimentos en los últimos 15 años, *Salmonella* es el segundo agente etiológico más común sólo por debajo de norovirus; lo cual se refleja en casi 2000 brotes y más de 50,000 casos de enfermedad durante este periodo.

2.2.1 Características

2.2.1.1 Identidad y taxonomía

El género *Salmonella* es uno de los más extensamente estudiado entre los patógenos que pueden ser demostrados en alimentos (Fernández, 2008). La descripción de este género corresponde a bacilos gram negativos generalmente móviles, aerobios o anaerobios facultativos, tienen una rica composición antigénica que se emplea como base para la identificación de sus miembros en serovares (Fernández, 2008). El género *Salmonella* pertenece a la familia de *Enterobacteriaceae* y se constituye por 2 especies: *S. bongori* y *S. enterica*. *S. enterica* posee 6 subespecies: *S. enterica*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae* y *S. indica*. *S. enterica* incluye más de 2500 serovariedades o serovares, hasta el 2007 (Lampel *et al.*, 2012).

Debido a diferencias en las reacciones bioquímicas de algunas cepas de *Salmonella* se reconocen diferentes biotipos o biovares, las principales características metabólicas de *Salmonella* se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Características bioquímicas de *Salmonella*.

Prueba	Respuesta
Fermentación de lactosa	- (<i>S. arizonae</i> y <i>S. diarizonae</i>)
Fermentación de glucosa	+
Producción de ácido sulfhídrico	+
Producción de gas	+ (Menos <i>S. Typhi</i>)
Degradación de urea	-
Producción de indol	-
Decarboxilación de lisina	-
Decarboxilación de ornitina	-

2.2.1.2 Virulencia

La capacidad de *Salmonella* spp. para adherirse y entrar a las células del epitelio intestinal es un paso esencial en el ciclo de vida de estos microorganismos, esta propiedad determina la virulencia en *Salmonella*, y está localizada en un grupo de genes en la denominada isla de patogenicidad 1 (SPI-1) (Espinal *et al.*, 2006). El proceso de adaptación al huésped *Salmonella* spp. ha generado una variedad de mecanismos para colonizar, invadir, replicar y sobrevivir dentro del huésped.

Aunque en la actualidad existen alrededor de 2500 serovares, todos considerados potencialmente patógenos para el hombre, sólo a 200 se les asocia con enfermedad a humanos (Rodríguez, 2013).

2.2.1.3 Hábitat

El hábitat natural de *Salmonella* spp es el tracto intestinal de humanos y animales de abasto, animales salvajes, roedores, animales de compañía, aves, reptiles e insectos. Los animales domésticos o salvajes constituyen un inmenso reservorio (por lo general no presentan síntomas de enfermedad) a partir de la cual las salmonelas pueden dispersarse en el ambiente, y en especial al agua y a

los alimentos (Fernández, 2008).

2.2.2 Salmonelosis

La enfermedad causada por *Salmonella* se puede manifestar como un síndrome gastrointestinal o como fiebre entérica.

Las infecciones gastrointestinales están relacionadas sobre todo con aquellos serovares que existen en los animales y en las personas. La tasa de mortalidad de este tipo de salmonelosis se sitúa entre 0.1 y 0.2%. El periodo de incubación es en promedio de 6 a 36 horas con una duración de la enfermedad de uno a 4 días; los síntomas principales son fiebre ligera, náuseas, vómito, dolor abdominal y diarrea durante unos pocos días pero, en algunos casos pueden persistir durante una semana o más; mialgias y dolor de cabeza son comunes.

La fiebre tifoidea constituye un caso especial de septicemia potencialmente mortal causada por *S. Typhi*. Un estimado de 5.700 casos ocurren cada año en los Estados Unidos. La mayoría de los casos (hasta un 75%) se adquiere mientras se viaja a nivel internacional. La fiebre tifoidea sigue siendo común en países en desarrollo, donde afecta a unos 21,5 millones de personas cada año (CDC, 2014).

La capacidad de *Salmonella* para causar infección depende de varios factores, entre los que destacan, intrínsecos de la bacteria como tipo de cepa, susceptibilidad, virulencia, e intrínsecos del huésped como es el estado inmune (Fernández, 2008).

Cada año en Estados Unidos se presentan cerca de 1 millón de casos de Salmonelosis con 19,000 hospitalizaciones y 380 muertes, de los cuales 135 son brotes, 3600 casos, 418 hospitalizaciones y 47 muertes, causados por consumo de alimentos contaminados con *Salmonella* (CDC, 1998-2016).

2.2.3 Asociación con los alimentos

Fernández (2008) indica que los alimentos como vehículo de *Salmonella* tienen importancia especial en los brotes de salmonelosis humana y animal, ya que pueden jugar un papel pasivo (contaminación y supervivencia) o constituir un

substrato en el cual hay actividad del patógeno previo al consumo. Siendo esta última situación la que eventualmente conduce a incidentes más serios en forma de brotes o casos individuales.

Dentro de los tipos de alimentos implicados, los de origen animal son los más frecuentes. En general, los alimentos identificados como responsables de brotes de salmonelosis incluyen productos crudos, cocinados y procesados en fábricas (Fernández, 2008).

Ejemplos de alimentos crudos encontramos la leche, germinados, verduras, frutas, jugos, frutos secos quesos sin pasteurizar; en alimentos procesados: leche, aderezos, chocolates, quesos nuevamente entre otros y en los alimentos cocinados: pollo asado, sandwiches, pavo, pasteles etc. (Fernández, 2008).

Para la prevención de salmonelosis existen medidas que deben recibir especial atención como: evitar la contaminación microbiana, evitar el desarrollo del microorganismo en el alimento y aplicar tratamientos que efectivamente lo inactiven o eviten su desarrollo (Fernández, 2008).

2.2.4 Frecuencia de casos y brotes

Salmonella es transmitida por los alimentos, principalmente, y esto ha sido causa de importantes brotes según reportes del CDC desde 1998 al 2015 en Estados Unidos.

Cada año en Estados Unidos, 31 son los patógenos responsables de los casos de enfermedades transmitidas por los alimentos causando cerca de 9.4 millones de casos, 55,961 hospitalizaciones y 1351 muertes. La mayoría de los casos son causados por Norovirus (58%) y *Salmonella* (11%). Este último destaca entre los demás patógenos, ya que ha sido causa de un importante número de brotes (2,437) en este país, más de 65,000 casos de enfermedad, 7,521 hospitalizaciones y 86 muertes en los últimos 17 años. Por lo anterior *Salmonella* es el microorganismo que más hospitalizaciones y que más muertes ha causado (solo por debajo de *L. monocytogenes*), desde 1999 en Estados Unidos por consumo de alimentos contaminados (CDC, 2016).

Estas estimaciones de la enfermedad producida por los alimentos contaminados con *Salmonella* y cualquier otro microorganismo se pueden utilizar para dirigir la política en seguridad alimentaria.

2.3 Queso Oaxaca

2.3.1 Definición y consumo

La NOM-243-SSA1-2010 define a los quesos como productos elaborados de la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida de la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior, por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales. Estas múltiples opciones dan lugar a diversas variedades de quesos pudiendo, por su proceso, ser: fresco, madurado o procesado. Los quesos frescos destacan, en producción, de los quesos madurados o procesados; para el 2014 representaron cerca de un 56% de la producción total de quesos en México, siendo así el principal tipo de queso elaborado y consumido en el país (SIAP, 2015).

Los quesos frescos, además de cumplir con la descripción general de queso, se caracterizan por su alto contenido de humedad y por no tener corteza o tener corteza muy fina, pudiendo o no adicionarles aditivos e ingredientes opcionales. Estos se clasifican a su vez de la siguiente manera (NOM-243-SSA1-2010):

- Frescales: Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado.
- De pasta cocida: Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Del Morral, Adobera.
- Acidificados: Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel.
- Quesos de suero: Broccio, Broccotle, Cerrase, Geitmysost, Gyetost, Mejetle, Mysost, Recuit, Requesón, Ricotta, Picotón, Schottenezinger, Zinder.

De acuerdo a esta misma NOM, el queso Oaxaca está definido como un queso de cuajada suave y plástica, desmenuzable, de cuerpo firme, color blanco cremoso y sabor suave ligeramente ácido.

El queso Oaxaca es un queso fresco mexicano, nombrado así en honor al estado de Oaxaca, de donde se cree que es originario (Raya *et al.*, 2005). Se considera un queso de pasta blanda, dentro de aquellos que poseen cualidades de hebrado, fundido y su presentación es en bolas, que se forman a partir del enredo de las hebras del queso (NOM-121-SSA1-1994).

En el 2016, la industria de quesos produjo 342 mil toneladas con un valor en el mercado de 15 mil 823 MDP. Dentro de esta producción, el queso Oaxaca participó con una producción de 20 mil 520 toneladas aproximadamente (SIAP, SAGARPA, 2016). México es el principal productor y consumidor de este tipo de queso.

2.3.2 Características físicas y químicas

Las características físicas, químicas y viscoelásticas que presenta el queso Oaxaca son las que lo hacen un tanto apetecible producto lácteo (Ramírez y Vélez, 2012) (Cuadro 8).

Cuadro 8. Parámetros físicos, químicos y de textura del queso Oaxaca (García, 2006).

Características	Valor
pH	4.7-5.12
Color triestímulo	L=83.9-88.1 a=0.28-1.68 b=17.8-21.6
Actividad de agua	0.969-0.978
Fuerza (g)	1006-2028
Elasticidad	0.678-0.777
Adhesividad (g.s)	-16
Cohesividad	0.558-0.681

Para obtener todas las cualidades antes mencionadas en el queso, es importante que en cada etapa se cumplan con las especificaciones establecidas en el procedimiento de elaboración del queso Oaxaca.

El proceso de elaboración en nuestro país se produce tanto en una empresa muy tecnificada hasta en domicilios particulares de forma artesanal. El proceso que se siga determinará las características sensoriales, principalmente.

2.3.3 Proceso de elaboración

Al conocer cada una de las etapas de elaboración del queso Oaxaca se observa y se sabe que el proceso en general requiere destreza y conocimiento en el control de ciertas etapas que son fundamentales, como la acidez adecuada en la leche y la cuajada, la determinación del punto de hebra y el amasado, ya que impactan directamente en las características físicas, químicas, tecnológicas y sensoriales de este producto lácteo (Cervantes *et al.*, 2006).

Así como son de crucial importancia las características fisicoquímicas y sensoriales, también lo son las características microbiológicas del producto. Está bien documentado que los quesos frescos se han asociado a casos y brotes de enfermedad, tal como lo presenta el CDC (1998-2016) que reporta 391 brotes, más de 7500 casos de enfermedad, 574 hospitalizaciones y 19 muertes en los Estados Unidos. Frente a la anterior problemática es importante que los quesos frescos se elaboren con leche pasteurizada; sin embargo, no es una práctica común ya que altera las características sensoriales del queso y esto no asegura del todo la inocuidad del producto debido a que, posterior a esta etapa, existe el riesgo de contaminación microbiana por manipulación humana durante el enfriamiento, enrollado o salado.

La mayoría de los quesos frescos, en especial el queso Oaxaca, son elaborados con un proceso que involucra la intervención y contacto estrecho del personal con el alimento. Esto es un riesgo potencial para la contaminación del queso fresco previo a su empaque.

Algunas de las etapas son críticas para la inocuidad del producto ya que están en función del ingreso, desarrollo o inactivación de microorganismos. En el

Cuadro 9 se detallan todas las operaciones que se involucran de forma general en la producción del queso Oaxaca.

Cuadro 9. Etapas de elaboración del queso Oaxaca (Adaptado de Villegas de Gante, 2004).

1. Estandarización y pasteurización de la leche (2.5-2.8% de grasa)	
2. Acidificación (30-40 min con cultivo láctico)	Proceso de desnaturalización de la caseína que se lleva a cabo mediante la adición de bacterias lácticas o ácidos orgánicos (Lindent y Lorient, 1996).
3. Coagulación (Con cloruro de calcio 10-20 g/L) a 37-38°C	
4. Corte de cuajada (con liras de 1.5 cm de apertura)	
5. Trabajo del grano	El trabajo del grano consiste en agitar, de manera suave, el grano dentro del mismo suero durante 15 minutos aproximadamente, con el fin de darle cuerpo y consistencia; con estos movimientos se elimina parte de la humedad que contiene el grano. Durante la agitación, las bacterias presentes en el grano siguen desarrollando sabor y aroma. Es importante mantener la temperatura a 32°C (SAGARPA, 2007).
5. Desuerado	
6. Malaxado	Trabajo mecánico con calor que permite la alineación y orientación de las proteínas así como de la distribución de la grasa butírica. Consiste en sumergir la cuajada en agua a temperaturas mayores a 80 °C, cubriendo el queso y amasando. Esto se repite hasta tener una masa elástica, compacta y sin poros o protuberancias.
7. Hilado	Consiste en el moldeado de la masa que permite la alineación final de las proteínas hasta la formación de los hilos. La pasta se toma de un extremo y se va estirando manualmente procurando formar una tira de forma redonda o de listón, de tamaño uniforme (2.5 cm de diámetro y ancho) (Silva, 2006). Practica manual con riesgo de contaminación microbiana.
8. Enfriado (en agua a 10-15°C)	Riesgo de contaminación microbiana por uso de agua contaminada y punto clave para la inactivación de microorganismos, previo al empaque del producto.
9. Salado (por frotación)	
10. Enrollado	Práctica manual o mecánica.
11. Empacado y Almacenado	

2.3.4 Brotes de enfermedad asociados a consumo de queso

Los brotes más frecuentemente asociados al consumo de queso han tenido como agentes etiológicos a *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *E.coli*, *Brucella* y *L. monocytogenes* (Fernández, 2008).

La presencia y desarrollo de microorganismos patógenos no afecta las características sensoriales de un queso; por lo tanto, los productores no suelen darle la misma importancia a la aceptabilidad sensorial y su vida de anaquel que a la inocuidad microbiana (Orozco, 1999). Sin embargo, precisamente por descuido, o por no contar con procedimientos que aseguren la inocuidad microbiana del alimento, es que han habido brotes por consumo de quesos frescos (Cuadro 10).

Los quesos frescos son un medio propicio para el crecimiento de microorganismos, debido a que tiene un alto contenido de agua, abundantes nutrientes y un pH cercano a la neutralidad (6.4 a 6.8), no dejando de lado la forma de elaboración; algunas etapas son manipuladas por personal, que los hacen propensos a ser contaminados por organismos tanto deterioradores como patógenos.

Cuadro 10. Algunos de los brotes registrados por consumo de queso (Adaptado de Koutsu *et al.* 2010).

Tipo de Queso	Patógeno	N° De Casos (Muertes)	Año	País De Origen	Referencia
Queso suave estilo mexicano	<i>L. monocytogenes</i>	142 (48)	1985	USA	Linnan <i>et al.</i> , 1988
Queso suave	<i>L. monocytogenes</i>	122 (33)	1983-1987	Suiza	Büla, Bile, and Glauser 1995
Queso suave	<i>L. monocytogenes</i>	37 (11)	1995	Francia	Vaillant <i>et al.</i> , 1998
Queso suave	<i>L. monocytogenes</i>	14	1997	Francia	Jacquet <i>et al.</i> , 1998
Mozzarella	<i>Salmonella</i>	>100	1981	Italia	Huchot <i>et al.</i> , 1993
Mozzarella	<i>Salmonella</i>	321(2)	1981	USA	Altekruse <i>et al.</i> , 1998
Mozzarella	<i>Salmonella</i>	>1700	1984	Canadá	D'Aoust <i>et al.</i> , 1985
Cheddar	<i>Salmonella</i>	164	1989	USA	Hedberg <i>et al.</i> , 1992
Queso suave	<i>Salmonella</i>	215	2001	Francia	Vaillant <i>et al.</i> , 1996
Queso fresco	<i>Salmonella</i>	82	2006-2007	Suiza	Pastore <i>et al.</i> , 2008
Queso Brie y Camembert	<i>E. coli</i>	170	1983	USA	Macdonald <i>et al.</i> , 1985
Queso	<i>S. aureus</i>	3	2004	Francia	Espié <i>et al.</i> , 2006
Queso	<i>S. aureus</i>	2	1983	Inglaterra	Barret 1986

En el cuadro anterior se señalan brotes por consumo de queso en su mayoría es queso fresco elaborado con leche pasteurizada, lo cual pone de manifiesto que no solo los quesos elaborados con leche cruda son los implicados en enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA'S), sino que también los pasteurizados puedan contener patógenos que ingresan al alimento después de la etapa de pasteurización. En estudio de estos brotes señalan que la principal fuente de los microorganismos patógenos es el ambiente dentro de las plantas procesadoras y la intervención humana, pues aún y cuando varias de las etapas del proceso están automatizadas hay algunas de éstas donde forzosamente se

requiere la intervención humana, especialmente en la elaboración de quesos de pasta suave como el queso Oaxaca.

El queso Oaxaca es un queso fresco que se elabora con leche pasteurizada o que como parte del proceso de elaboración, tiene que recibir tratamiento térmico (70°C por algunos minutos), por lo tanto se esperaría que estuviera libre de algún peligro biológico. Sin embargo, al revisar estudios como el reportado por Orozco (1999) se corrobora que el tratamiento térmico no asegura la inocuidad del producto. En este estudio se detectó *E. coli* en 19% de muestras de queso Oaxaca colectadas de comercio, donde la positividad fue de 23.3% en verano y 12.5% en invierno; todas las muestras se encontraban empacadas al vacío provenientes de fábricas donde utilizan leche pasteurizada. El caso anterior hace plantear situaciones que podrían propiciar la presencia de *E. coli* u otros patógenos;

- a) El tratamiento térmico no fue eficiente para inactivar al microorganismo.
- b) Se permite el desarrollo de las bacterias sobrevivientes al tratamiento térmico.
- c) Hubo una contaminación posterior al tratamiento térmico por el personal, equipo, agua o ambiente de la planta.

Independientemente de cual haya sido o sea la causa de la presencia de *E. coli* en el queso, se tiene claro que, al consumidor el producto debe llegar inocuo y es necesario implementar medidas (en etapas previas al empaque) que aseguren que aún y cuando en alguna etapa de producción el queso se contamine con algún microorganismo, este no será capaz de llegar al consumidor.

Conociendo el proceso de elaboración del Queso Oaxaca es de interés considerar las últimas etapas (amasado, estirado y formación de la bola) como críticas para eliminar el riesgo de contaminación microbiológica por manipulación humana, y así evitar que microorganismos como *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *E. coli* O157:H7 se encuentren en el alimento y afecten la salud del consumidor.

Los microorganismos patógenos mencionados, aunque no por igual, pero todos se han visto como causa de enfermedades, pérdidas económicas y hasta muertes de individuos por estar presentes en los quesos frescos, por lo cual no se pueden señalar como que sean de menor riesgo en este trabajo. Sin embargo, es de gran interés *Salmonella* pues es el microorganismo que con mayor frecuencia se ha presentado en brotes y casos de enfermedades por consumo de queso, como lo describió Altekruze *et al.* (1998) en un estudio realizado en Estados Unidos de 1973 a 1992 donde se identificaron 32 brotes de ETA'S de los cuales *Salmonella* causó más de 670 casos, 78 hospitalizaciones y 2 muertes.

Como se explicó, el queso Oaxaca es elaborado y consumido principalmente en México. La información de los brotes que se tienen proviene de estudios en países donde existe un control sanitario en la producción y comercialización de quesos. Por lo tanto, es de esperar que, en nuestro país, dadas las prácticas de producción frecuentemente inadecuadas, la incidencia de bacterias patógenas sea mayor (Orozco, 1999).

Es entonces que la elaboración de queso Oaxaca causa preocupación ya puede estar participando como vehículo de micro organismo patógenos y generar casos y brotes. Y debido a que la contaminación puede ocurrir en las últimas etapas de elaboración (donde ya no existe medida alguna para eliminar la presencia de algún microorganismo) es necesario la implementación de medidas como la adición de aditivos efectivos para la inactivación de microorganismos tanto patógenos como deterioradores, previa al empaque del alimento.

2.3.5 Control de microorganismos en queso

Viendo la problemática que representa la presencia de un microorganismo patógeno en los quesos, generalmente lo que hacen las empresas es implementar buenas prácticas donde se aplican diferentes para tratar de controlar a los microorganismos. Sin embargo, existen establecimientos o aún empresas donde aún con la implementación de buenas prácticas, es difícil o no se implementan en un 100%, lo cual hace que no sean efectivas para prevenir la presencia de un patógeno en el producto terminado.

Otras de las medidas que las empresas han optado por aplicar son medidas alternativas al uso del tratamiento térmico como el uso de sustancias desinfectantes en los equipos y aditivos directamente para aplicar en el producto como: Nisina, Natamincina, ácido peracético, peróxido de hidrógeno u otras sustancias bactericidas.

Sin embargo, si hay descuidos en la elaboración el producto puede volver a contaminarse ya que algunos de los procedimientos siguientes se llevan a cabo en etapas intermedias del procesamiento. Como medida complementaria a las buenas prácticas en el procesamiento, se agregan al alimento sustancias con efecto bactericida o bacterioestático, con la intención de minimizar el riesgo de presencia de patógenos y alargar la vida útil del alimento. A continuación, se en listan algunos de los empleados en queso.

2.3.5.1 Nisina

La nisina es un polipéptido hidropónico y catiónico natural con un grado de para la conservación de alimentos pues exhibe actividad antimicrobiana a través de un rango de bacterias Gram-positivas, pero muestra poca o nula actividad contra Gram-negativas, hongos y levaduras.

2.3.5.2 Natamicina

La natamicina es un fungicida, también conocido como piramicina, y pertenece a los polietilen antibióticos y es producida por fermentación de *Streptomyces natalensis* y especies relacionadas. Es comúnmente empleada en la industria de alimentos, especialmente en productos lácteos (queso), para prevenir la contaminación de hongos y levaduras (Kallinteri *et al.*, 2013).

2.3.5.3 Ácido peracético

Es un desinfectante líquido, no espumígeno, ácido, de rápida acción, con una formulación equilibrada de peróxido de hidrogeno (>26%) y ácido peracético (>7%) con un valor de pH de 1. Su alto y efectivo poder biocida es debido a la presencia de oxígeno activo (naciente) en la equilibrada formulación de las sustancias que forman parte de su composición. Sin embargo es un oxidante muy fuerte de especial cuidado en su manipulación ya que parte de las

recomendaciones de eso son: No usar el producto puro, siempre en solución, fortísimo oxidante, no combinar con productos alcalinos, detergentes o bactericidas, evitar el contacto del producto puro con materias orgánicas (grasa o aceites vegetales, residuos orgánicos, papel, cartón, madera, corcho, paja), mantener el producto en su envase original, evitar el contacto del producto con la piel, ojos o vestimenta, manipular con antiparras, guantes, delantal, botas, etc.

Las sustancias permitidas en quesos frescos y procesados por la NOM-243-SSA1-2010 como aditivos y que cuentan con un efecto inhibitorio del desarrollo microbiano se presentan en el Cuadro 11.

Cuadro 11. Aditivos con efecto antimicrobiano permitidos en quesos frescos y procesados por la NOM-243-SSA1-2010.

Aditivo	Límite máximo permitido (mg/Kg)
Ácido láctico	BPF
Ácido propiónico	BPF
Ácido ascórbico	3000
Nisina	12.5
Natamicina	40
Propinato de potasio, calcio o sodio	BPF
Sorbato de potasio	3000

BPF: buenas prácticas de manufactura

2.4 Jícama

2.4.1 Definición y origen

La jícama (*Pachyrhizus erosus*) es una leguminosa tropical originaria de la región amazónica y de la región semiárida de México. Crece en climas tropicales y subtropicales, así como en suelos ácidos, alcalinos y presenta un alto potencial de fijación del nitrógeno (Sorensen, 1990).

2.4.2 Características sensoriales y químicas

En México, la jícama es cultivada para consumo humano; ésta presenta raíces tuberosas engrosadas, suculentas y ligeramente dulces que son consumidas en forma fresca (cruda) o cocidas, siendo la más común la primera forma de consumo. El tubérculo es fuente importante de carbohidratos y minerales

como calcio, hierro y fósforo por lo que es destinado para el consumo humano (Huerta, 2008). Típicamente contiene 85% de agua, menos del 1% de fibra, menos del 1.5% de proteínas, menos del 0.5% de cenizas, y cerca de un 10 % de carbohidratos de los cuales 10% es sacarosa. En peso seco la jícama está compuesta de 32% de azúcares, 15% de almidón, 1.4% de proteína con un pH de 6-7 (Sorensen, 1996).

2.4.3 Producción y consumo

La producción de jícama en el país se centra en cuatro estados principalmente: Nayarit, Michoacán, Veracruz y Puebla (SIAP, 2012). De éstos, Nayarit es el principal estado productor de jícama debido a que aporta el 26.3% de la producción nacional con rendimiento promedio de poco más de 31-32 ton/ha (SIAP, 2012). SAGARPA (2016) reporta que en el ciclo otoño invierno 2014-2015 se produjeron 63,670 toneladas de jícama y se espera que aumente para el siguiente ciclo un 25 por ciento más de superficie.

La jícama se consume de manera popular principalmente en corte fresco de venta callejera combinada con limón y chile en polvo; su consumo se está introduciendo en algunos restaurantes como parte de la barra de ensaladas debido a que su crujencia y jugosidad la hacen un alimento apetitoso (Huerta, 2008). Actualmente, se ha empezado a comercializar como un producto empacado mínimamente procesado, es decir, sólo pelado, cortado y lavado/desinfectado.

2.4.4 Jícama como producto mínimamente procesado

Los hábitos de alimentación del consumidor actual han cambiado durante la última década: el ritmo de vida, en el que hay poco tiempo para la preparación de una adecuada comida, ha hecho surgir un nuevo tipo de demanda de productos frescos, saludables y listos para consumir. Los productos mínimamente procesados (PMP) son productos (frutos u hortalizas) acondicionados para su consumo directo, que se conservan refrigerados y envasados en atmósfera modificada (AM) (Tomás-Callejas, 2010).

La jícama actualmente la encontramos en el mercado como un PMP; es importante señalar que se deben controlar las condiciones de almacenamiento y

comercialización para alargar su vida de anaquel ya que por la naturaleza del producto y procesamiento es susceptible a presentar deterioro en pocos días siendo así que su vida de anaquel no es más de 12 días a 5 °C u 8 días a 10 °C (Rivera y Mercado, 2015).

2.4.4.1 Procesamiento

En general, el procesado mínimo de frutas y hortalizas incluye operaciones de preparación no térmicas como lavado, sanitizado, pelado, recorte, cortado, rallado, triturado, desinfección, enjuague, escurrido y secado (Artés *et al.*, 2007), los cuales serán empacados y refrigerados para ser productos listos para su consumo.

Específicamente, el procesamiento industrial de la jícama abarca las siguientes etapas (Rivera y Mercado, 2015):

Tratamiento de la raíz. Las raíces se almacenan generalmente a temperatura ambiente, se someten a lavado manual por cepillado y después a una desinfección se almacenan en refrigeración hasta su procesamiento. Suele usarse una solución de cloro a 200ppm.

Pelado de las raíces. Las raíces generalmente son peladas manualmente usando peladores de acero inoxidable. Posteriormente se eliminan los extremos de cada raíz por corte con cuchillo. La parte central de la raíz se somete al corte y desinfección.

Corte y desinfección de las raíces. Una vez que las raíces fueron peladas son colocadas en cajas y se transfirieron a la sala de corte y desinfección donde se utiliza agua con cloro a 50 ppm, posteriormente se colocan manualmente en una maquina cortadora. Después las tiras son depositadas en una corriente de agua que contiene el desinfectante, el cual es recirculado, al final de esta etapa está colocado un tamiz que separa la jícama cortada del desinfectante.

Desinfección. Las tiras de jícama que salieron del tanque de desinfección son transportadas a una cinta transportadora para asperjarle una solución desinfectante conocida como TSUNAMI®.

Secado o escurrido. El producto es escurrido por centrifugación durante 1-2 min a 60 rpm; después se vacía en cajas de plástico.

Llenado, pesado y sellado. El producto es vaciado en una mesa de acero inoxidable donde se empacado manualmente a las bolsas del producto final.

Enfriado, empaque y paletizado. Las cajas con las bolsas de producto son enfriadas en un túnel de aire forzado (4 °C) y finalmente el producto es paletizado para almacenarse hasta su comercialización.

2.4.4.2 Deterioro y vida útil

Para prolongar el tiempo de vida de anaquel de los PMP se utilizan bajas temperaturas en su almacenamiento y comercialización que permiten menor actividad metabólica y menor desarrollo microbiano. Estudios poscosecha en jícama han demostrado que la raíz intacta es muy sensible al daño por frío cuando se almacenan a 10°C o por debajo (Bergsma y Brecht 1992; Cantwell *et al.*, 1992; Mercado-Silva y Cantwell 1998).

Por otro lado, autores como Aquino-Bolaños *et al.* (2000) señalan que la jícama MP debería ser almacenada a menos de 5 °C para reducir crecimiento microbiano o decoloración y aumentar la vida de anaquel de 4 a 8 días. Finalmente indican que el uso de atmósferas modificadas con 5 y 10% de CO₂ conserva la calidad y extiende la vida de anaquel de la jícama mínimamente procesada.

La actividad microbiana es la principal causa de deterioro de productos frescos cortados (Babic *et al.*, 1996), ya que durante el lavado e inmersión en agua clorada sólo se eliminan parcialmente los microorganismos del alimento (Garg *et al.*, 1990). Tal y como señala Rivera-Rangel (2015) la presencia de células dañadas y la pérdida de los componentes celulares del producto durante las operaciones de procesamiento, proporcionan nutrientes que pueden ser empleados para el desarrollo por bacterias, hongos y levaduras.

Algunos microorganismos pueden ser responsables del desarrollo de malos olores, así como de la presencia de sabores desagradables durante el

almacenamiento de hortalizas frescas cortadas. Microorganismos como las bacterias ácido lácticas, *Penicillium*, *Rhizopus*, y *Cladosporium* comúnmente se encuentran en jícama causando su deterioro (Bruton 1983; Cantwell *et al.*, 1992).

Las condiciones de higiene durante la manipulación y procesamiento, así como la temperatura a la cual se elaboran y conservan estos productos, serán factores determinantes de la vida de anaquel de los mismos (Bolin y Huxsoll, 1991). Sin embargo, el deterioro no es la única problemática que presenta la jícama como PMP, ya que al ser un producto listo para su consumo y por las condiciones de procesamiento, es susceptible a la contaminación por microorganismos patógenos.

2.4.5 Problemas de inocuidad asociados al PMP

Comúnmente, los productos frescos mínimamente procesados son consumidos crudos y sin aplicar un tratamiento antimicrobiano por el consumidor. Las deficientes prácticas durante la cosecha y manejo postcosecha pueden permitir la contaminación del producto con microorganismos patógenos, como *Salmonella* (Mercanoglu *et al.*, 2011). Los patógenos pueden llegar al alimento por el agua o suelo contaminado con el que está en contacto (ICMSF, 1986; Sela y Fallik, 2009). Las prácticas mencionadas se dan de igual forma para la jícama; aunado a esto, durante su procesamiento (pelado, picado, empacado etc.) es factible que se contamine con microorganismos patógenos cuando ya no se aplique ningún tratamiento antimicrobiano para evitar que llegue al consumidor.

2.4.6 Brotes en productos mínimamente procesados

Callejón (2015) señala que durante los años 2004 a 2014 se presentaron más de 370 brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos vinculados a productos frescos sin una tendencia clara a disminuir, debido al aumento en la demanda de este tipo de productos.

El procesamiento mínimo requerido para productos frescos y recién cortados puede omitir pasos efectivos de eliminación microbiana; esto da como resultado productos alimenticios que pueden transportar naturalmente microorganismos, algunos de los cuales pueden ser potencialmente peligrosos

para la salud humana (Harris *et al.*, 2003).

La contaminación microbiana de los frutos y vegetales frescos puede ocurrir directa o indirectamente; por medio de animales, insectos, el suelo, el agua, equipo o por manipulación humana.

Los productos mínimamente procesados se pueden contaminar con microorganismos patógenos también por diferentes mecanismos; puede ocurrir durante la producción, la cosecha, el lavado, pelado, picado o durante el empaquetado. Los puntos de contaminación durante el procesamiento de los frutos son de importancia para la prevención y eliminación de una posible contaminación ya que es aquí donde se pueden implementar medidas de control que sean eficaces para ya sea, prevenir, controlar o eliminar el riesgo de contaminación.

Los principales microorganismos involucrados en casos de enfermedad por consumo de frutos y vegetales mínimamente procesados son: *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Aeromonas hydrophila*, *Shigella* spp. Parasitos como: *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora* y virus como Hepatitis A.

Algunos de los productos mínimamente procesados que comúnmente se han implicado en brotes según el CDC (1998-2016) son: ensaladas de frutos y vegetales listos para su consumo, tales como ensalada de brócoli, zanahoria, pepino, ensalada de jícama y pepino, ensaladas de fruta, snacks de vegetales, mezcla de frutas cortadas listas para consumirse, teniendo como resultado, según reportes, 8 brotes, más de 170 casos de enfermedad y 18 hospitalizaciones que involucran a los alimentos antes mencionados en Estados Unidos (CDC, 2016). Es de esperar que en México la problemática sea mayor debido a las malas prácticas, especialmente por la venta callejera y a la falta de regulación respecto a este tipo de productos.

2.4.7 Control de microorganismos en PMP

2.4.7.1 Cloro

Este desinfectante es el más utilizado debido a su bajo costo y su efecto bactericida (Sapers, 2009; USFDA, 2014). El cloro líquido (50-200 ppm) con un pH de 6-7.5 es utilizado para sanitizar superficies de los productos por 1 a 2 min (USFDA, 2014). En solución acuosa el ácido hipocloroso es la forma del cloro libre disponible con mayor potencial antimicrobiano contra la mayoría de los microorganismos (USFDA, 2014). Sin embargo, también se sabe de las desventajas que presenta este compuesto, como su efecto corrosivo, baja efectividad contra esporas de bacterias, su rápida disminución de la actividad antimicrobiana al estar en contacto con materia orgánica y la formación de subproductos tóxicos como los trihalometanos y los ácidos haloacéticos (Gonzalez, 2004; Sapers, 2009; Bermúdez *et al.*, 2013).

2.4.7.2 Cloruro de sodio acidificado (ASC)

Este desinfectante ha sido utilizado por la FDA (Food and Drug Administration) para la desinfección de frutos y vegetales frescos con concentraciones de 500 a 1200 ppm (Gonzalez *et al.*, 2004; Liao, 2009; USFDA, 2014). Se ha demostrado el potencial del ASC en contra microbiota natural y patógenos como *Staphylococcus aureus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* inoculados en productos (González *et al.*, 2004).

2.4.7.3 Agua ozonizada

El agua ozonizada (2-3 ppm) la presenta un alto potencial de óxido reducción (ORP), sin embargo es sumamente inestable en agua y se descompone rápidamente a oxígeno (Graham, 1997; Suslow, 2004).

2.4.7.4 El cloruro cetylpiridinio (CPC)

Es una sal cuaternaria de amonio que no es corrosiva con el equipo, no irrita la piel es estable a altas temperaturas y podría penetrar las superficies al estar en contacto con los alimentos (USFDA, 2014).

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la aplicación de agua electrolizada neutra sobre la inactivación de *Salmonella* spp. y la vida útil de queso Oaxaca y jícama cortada.

4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto antimicrobiano del agua electrolizada neutra (AEN) sobre *Salmonella* spp. y bacterias ácido lácticas en queso Oaxaca y jícama cortada.
- Determinar la producción de compuestos de oxidación de lípidos en queso Oaxaca y jícama expuestos a AEN.
- Evaluar cambios en el perfil electroforético de las principales proteínas del queso Oaxaca por la exposición a AEN.
- Evaluar el efecto en la vida útil del queso Oaxaca y jícama cortada por la exposición a AEN.

V. METODOLOGÍA

5.1 Materiales

5.1.1 Equipo

- Agitador mecánico Vortex®, VelpScientifica®, ns/113123.
- Autoclave eléctrica de mesa, Market-Forge®, Mod. 199-85.
- Analizador de Textura (Stable Microsystems, Surrey, UK).
- Balanza analítica, sensibilidad 0.0001g OHAUS®, Mod. CT200-S.
- Fuente de Poder Bio-Rad®
- Campana de flujo laminar, Alder®, Veco®.
- Campana de microaerofilia, DIFCO®.
- Centrífuga, Premiere®.
- Colorímetro, Hunter Lab®.
- Cuenta colonias Quebec®, Reichter-Jung®.
- Determinador de cloro total o libre.
- Homogenizador Stomacher®, Laboratory Blender®, Mod. 400 (BA 7021).
- Incubadora 30 y 35°C, Felisa, México.
- Incubadora refrigeradora a 22°C, Presicion Scientific 815.
- Material de uso común en el laboratorio de microbiología.
- Micropipetas de 1-1000 uL, Labsystems®, Brand®, Genex Beta®.
- Potenciómetro, Jenway®, 3510 pH Meter®.
- Refrigerador IEM.
- Ultracentrífuga, Heraeus®, Biofuguepico®, Kendro®.

5.1.2 Medios de Cultivo

- Agar de Man, Rogosa y Shape (MRS), Difco.
- Agar extracto de levadura glucosa triptona (TGY).

- Agar papa dextrosa (APD), BIOXON.
- Agar sulfito bismuto (ASB), BIOXON.
- Agar soya tripticasa (AST), BIOXON.
- Agar verde brillante sulfadiazina (AVBS).
- Agua Peptonada, 1% (AP).
- Caldo de Man, Rogosa y Shape (Caldo MRS)
- Caldo lactosado (CL), BIOXON.
- Caldo selenita cistina (CSC), BIOXON.
- Caldo soya tripticasa (CST), BIOXON.
- Caldo tetrionato (CTT), BIOXON.
- Caldo urea (CU), BIOXON.
- Caldo MRS, BIOXÓN.
- Diluyente de Peptona, 0.1% (DP).
- Solución salina isotónica (SSI).

5.1.3 Reactivos

- Ampicilina, BRISTOL.
- Antisuero polivalente para *Salmonella*, DIFCO.
- Glicerol.
- Rifampicina.

5.1.4 Agua electrolizada neutra

El agua electrolizada neutra (AEN) se recibió en el laboratorio y se almacenó en un lugar oscuro y a temperatura ambiente por no más de cuatro semanas. El AEN fue producida por electrólisis en una máquina manufacturada por Esteripharma S.A. de C.V.. Características indicadas en el empaque: [cloro libre]=60 mg/l, pH=7, ORP=800-900 mV en presentación de 20 L.

5.1.5 Material Biológico

- Cepas de *Salmonella* spp. aisladas a partir de quesos frescos.
- Queso Oaxaca obtenido de una la línea de producción de una empresa que elabora productos lácteos en el estado de Querétaro, previamente caracterizado en contenido de lípidos, proteínas, carbohidratos, cenizas y actividad de agua, acorde a las Normas Mexicanas vigentes.
- Jícama de la variedad cristal (cosecha noviembre 2015-enero 2016) obtenida de Amaya Farms S.A. de C.V.

5.2 Métodos

5.2.1 Procedimientos generales

5.2.1.1 Caracterización del AEN

Las soluciones de AEN diluida se prepararon a partir de una solución base (60 ppm de cloro) con agua destilada estéril. Previo al uso de las soluciones en cada tratamiento se corroboró el pH, el ORP y la concentración de cloro libre como se describe a continuación:

El pH se midió directamente en el AEN empleando un potenciómetro previamente estandarizado.

El ORP se midió empleando un potenciómetro equipado con un electrodo de platino para la medición específica del potencial de óxido reducción.

La concentración de cloro libre se cuantificó mediante titulación con tiosulfato empleando la metodología de Greenberg *et al.* (1992), con ligeras modificaciones (Anexo 1).

5.2.1.2 Activación de cepas y preparación del inóculo.

Se llevaron a cabo 3 subcultivos consecutivos de cada cepa de *Salmonella* resistente a rifampicina en caldo soya tripticasa con rifampicina (200 ppm) y se incubó a 35 °C por 24 h. Las células se cosecharon por centrifugación (5 min a 6000 rpm) y los paquetes celulares se lavaron 3 veces con solución salina estéril 0.085%.

El inóculo se preparó de acuerdo a lo que se describe en cada experimento (suspensión de cepas individuales o mezcla equitativa). Previo a cada experimento se cuantificó la concentración de células viables en la suspensión del inóculo.

5.2.1.3 Inoculación de los alimentos

Porciones (2 g) de queso y jícama se inocularon por inmersión con una suspensión de aproximadamente 9 Log UFC/ml de *Salmonella* resistente a rifampicina (*Salmonella* Enteritidis o de una mezcla de cepas de *Salmonella* aisladas de queso Oaxaca). Una vez inoculados, cada porción de alimento se secó (10 min el queso y 18 min la jícama) en una campana de flujo laminar y posteriormente se emplearon para los tratamientos con AEN.

5.2.1.4 Aplicación de tratamientos con AEN

Las porciones de alimentos inoculados con *Salmonella* spp. se expusieron a AEN (desde 0.1 a 56 ppm de Cl) durante un tiempo seleccionado. Una vez finalizado el tiempo de exposición se colocó cada una de las porciones de alimento en caldo neutralizante (queso y jícama en 18 ml); la jícama y el queso se homogeneizaron por 1 min en un homogenizador automático a velocidad alta. En todos los experimentos se incluyeron dos controles; uno de arrastre (exposición a agua destilada) y por otro lado cloro comercial a la concentración de 56 ppm. Finalmente, se cuantificó el microorganismo como se describe a continuación.

5.2.1.5 Cuantificación de *Salmonella* y bacterias ácido lácticas (BAL).

A partir de porciones de alimentos secadas y expuestas a los tratamientos como ya se describió, se realizaron diluciones decimales y se cuantificó *Salmonella* por la técnica de extensión en superficie en agar soya tripticasa con rifampicina (200 ppm). Las placas se incubaron a 35 °C durante 24 h en aerobiosis. Las BAL se cuantificaron por extensión en superficie en agar MRS. Las placas se incubaron a 30 °C durante 48 h en condiciones de microaerofilia.

5.2.2 Evaluación del efecto antimicrobiano de AEN sobre células libres y la interacción con los alimentos.

Un 1 ml de un cultivo puro, activado y diluido de *Salmonella* Enteritidis (7.5

Log UFC/ml) se colocó en 9 ml de AEN (56 ppm), se mezcló por 10 s empleando un vórtex y se almacenó durante 5 min. Para los tratamientos con materia orgánica, se emplearon queso Oaxaca y jícama de dos maneras: como una porción íntegra (entera:1 g), y como una suspensión del alimento (1 g) homogeneizado con 8 ml de cada solución tratamiento (AEN y solución de cloro) en un stomacher durante 1 min (homogeneizado). La materia orgánica se agregó previo a la adición de los cultivos puros. Después de los 5 min de exposición, 1 ml de cada suspensión se homogeneizó con 9 ml de caldo neutralizante. Como controles se siguió el mismo procedimiento empleando 9 ml de cloro comercial (56 ppm Cl) y 9 ml de caldo neutralizante, como control de arrastre. Se llevaron a cabo diluciones decimales y el recuento de *Salmonella* como se describió en la sección previa. Se realizaron 3 réplicas para cada tratamiento. Los tratamientos de materia orgánica (queso y jícama) se describen en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Tratamientos de AEN con materia orgánica.

Tratamientos con jícama	Tratamientos con queso
AEN	AEN
AEN con jícama entera	AEN con queso entero
AEN con jícama homogeneizada	AEN con queso homogeneizado
Cloro comercial	Cloro comercial
Cloro comercial con jícama entera	Cloro comercial con queso entero
Cloro comercial con jícama homogeneizada	Cloro comercial con queso homogeneizado
Caldo neutralizante (control)	Caldo neutralizante (control)
AEN: agua electrizada neutra [cloro libre]=56 ppm, pH=6.7, ORP=800-900 mV. Cloro comercial: Hipoclorito de sodio comercial [cloro libre]=56 ppm, pH=8.7, ORP=750 mV.	

5.2.3 Efecto del tiempo de exposición y la concentración de AEN sobre la inactivación de *Salmonella* en queso y jícama.

Porciones de queso y jícama inoculadas con una mezcla de *Salmonella* spp. (8 Log UFC/ml) se expusieron a AEN (56 ppm de Cl libre) durante 5 y 10 min y concentraciones de AEN de 0.1, 0.5, 1, 6, 12, 35 y 56 ppm de Cl libre durante 5

min (queso). En el caso de la jícama, las concentraciones evaluadas fueron 12, 35 y 56 ppm de Cl.

En la evaluación del efecto antimicrobiano de AEN sobre bacterias ácido lácticas en queso y jícama, porciones (2 g) de queso y jícama (con concentración de BAL conocidas; 5.28 y 5.5 Log UFC/ml, respectivamente) fueron expuestas a diferentes concentraciones de AEN (12, 35 y 56 ppm de Cl libre) durante 5 min. Se cuantificaron las BAL antes y después de la aplicación del tratamiento como ya se describió.

En la evaluación del efecto antimicrobiano se realizó un análisis comparativo a los diferentes tiempos y concentraciones estudiadas mediante análisis de varianza y pruebas comparación de medias de Tukey en el paquete estadístico JMP 8.0 para establecer el tiempo de exposición y concentración permitida con mayor efecto antimicrobiano (Castaño *et al.*, 2010). Los experimentos se realizaron con tres repeticiones y dos réplicas.

5.2.5 Evaluación del efecto de la aplicación de AEN sobre lípidos

Se realizó la cuantificación de productos de oxidación lipídica en queso Oaxaca expuesto a AEN.

La oxidación de los lípidos en queso tratado con AEN (56 ppm de Cl) durante 5 y 10 min de exposición se investigó mediante la medición de hidroperóxidos empleando el sistema Fe (II)/tiocianato en metanol: cloroformo descrito por Pereda *et al.* (2008).

Se mezclaron 2 g de queso Oaxaca con 2 ml de metanol, se añadieron 4 ml de cloroformo y se agitó la suspensión por 30 s. Posteriormente se centrifugó por 10 min a 10000 rpm, después 500 μ L de la fase de cloroformo se transfirió a un tubo eppendorff en el que se mezcló con 500 μ L de Fe (II)/tiocianato en metanol/cloroformo y se mantuvo a temperatura ambiente por 5 min. El producto de la reacción se midió a 500 nm.

El experimento se realizó por triplicado de tratamiento y la concentración de hidroperóxidos se calculó con una curva de calibración realizada previamente.

Se realizó una comparación entre tratamientos aplicando un análisis de varianza y una comparación de medias de Tukey, utilizando el paquete estadístico JMP 8.0.

5.2.6 Efecto en el perfil electroforético en las principales proteínas totales y solubles en agua del queso Oaxaca.

Los cambios en el perfil electroforético de proteínas del queso Oaxaca, como resultado de una posible oxidación por exposición al AEN, se evaluaron mediante electroforesis en geles de poliacrilamida (PAGE-SDS) (Dalsgaard *et al.*, 2011).

Muestras de 2 g de queso Oaxaca fueron expuestas 20 ml de AEN (56 ppm cloro libre) durante 5 y 10 min. Como controles se usaron agua destilada y cloro comercial a 56 ppm de cloro libre. Una vez transcurrido el tiempo de tratamiento, las muestras fueron retiradas de cada solución y sometidas a un secado sobre una tela absorbente durante 1 min. Posteriormente, se realizaron las extracciones de las muestras para la evaluación de sus perfiles proteicos.

Extractos de queso solubles en agua (EQSA)

Los extractos de queso solubles en agua se obtuvieron de acuerdo a lo descrito por Kuchroo y Fox (1982) con modificaciones.

Cinco porciones de queso tratadas (2 g cada una) se conjuntaron y se homogenizaron con 20 ml de agua destilada durante 1 min a 13,000 rpm empleando un homogenizador tipo Ultraturrax. Posteriormente, el homogenizado se mantuvo a 40°C durante 1 h. En seguida se centrifugó durante 20 min a 3000 g manteniendo una temperatura de 4 °C. Una vez centrifugado se removió la capa de grasa y el sobrenadante fue filtrado al vacío. Del filtrado se tomó 1 ml (de cada muestra) y se concentró durante 24 h en un concentrador al vacío. La solución obtenida consistió en un concentrado de las proteínas del queso solubles en agua (EQSA). Se tomaron 25 µl de cada muestra concentrada y se mezclaron con 50 µl de amortiguador de carga (Tris-HCl, SDS, glicerol, azul de bromofenol y β-mercaptoetanol) y se llevó a ebullición durante 5 min; se enfrió y se cargaron 20 µl del extracto en geles de poliacrilamida (5% el gel concentrador y 16 % el separador), y se corrieron a 150 V por 50 min usando un amortiguador de corrida

(tris-glicina-SDS) en un sistema Bio-Rad®. Las bandas se visualizaron sumergiendo los geles en una solución de azul de Comassie y posteriormente desteñidas.

Proteínas totales de queso Oaxaca

Porciones de 0.1 g de queso Oaxaca fueron expuestas 0.9 ml de AEN (56 ppm cloro libre) durante 5 y 10 min. Como controles se usaron agua destilada y cloro comercial a 56 ppm de cloro libre. Una vez transcurrido el tiempo de tratamiento, las muestras se retiraron de cada solución y se sometieron a un secado sobre una tela absorbente durante 1 min. Posteriormente, se les adicionó 100 µl de urea 8 M hasta disolver la muestra, en seguida se agregó 800 µl de amortiguador de muestra y se sometieron a ebullición por 10 min. Finalmente, se cargaron 10 µl de cada extracto en el gel de electroforesis.

5.2.6.1 Cuantificación de proteínas

La cuantificación de las proteínas tanto en EQSA como en el queso puro se realizó por el método de BCA mediante un kit (Pierce® BCA Proteína Assay Kit).

De una muestra de queso (23 g de proteína/100 g de queso aproximado), se realizaron las diluciones correspondientes (EQSA: 1:1, 1:3, 1:9, 1:19; queso entero (23mg/ml): 1:1, 1:3, 1:7, 1:19, 1:39, 1:99), de las cuales se tomaron 25 ul y se añadieron a una microplaca con 6 repeticiones. En seguida se añadieron (a los 25 ul de muestra) 200 ul de solución de trabajo (con BCA) y se mezclaron durante 30 s. Posteriormente, la placa se cubrió e incubó a 37 °C durante 30 min. Finalmente se enfrió la microplaca para la lectura de absorbancia a 562 nm.

5.2.7 Efecto de la aplicación de AEN en la vida útil de Queso Oaxaca y jícama.

Para estos estudios se empleó queso Oaxaca y jícama que fueron previamente caracterizados en el contenido de BAL, humedad, lípidos, proteína total, cenizas y carbohidratos. Los tratamientos que se eligieron para valorar su efecto sobre la vida de útil del queso fueron 6 y 35 ppm cloro libre (ORP: 800-900 mV y pH: 6-7) durante 5 min de exposición. Porciones de 2 g del alimento se expusieron a los tratamientos (18 ml de AEN) y se incluyó como control la

exposición al agua destilada estéril. Una vez expuestas al tratamiento, las porciones se secaron en campana de flujo laminar durante 1 min, se empaquetaron (el queso al vacío y la jícama en condiciones de aerobiosis), y se almacenaron a temperaturas de 4 y 30 °C para queso, y a 4 °C la jícama. Periódicamente (queso: día 0, 7, 14, 20, 25 y 30; jícama: día 0, 7 y 15) se llevaron a cabo las determinaciones de pH, acidez, contenido de BAL (como se describió en procedimientos generales), color y concentración de hidroperóxidos (solo en queso) y textura únicamente en jícama. La evaluación se llevó a cabo por triplicado.

5.2.7.1 Determinación de color

El color se determinó en un colorímetro (Hunter Lab), midiendo las coordenadas de color “L”, “a” , “b” y “c” en cada lado de la muestra (2 lados) con una medición por cada lado.

5.2.7.2 Determinación de textura

La textura se analizó mediante la evaluación de la dureza en porciones de jícama (2g) almacenada a 4 °C durante 15 días con tres puntos de medición (D0, D7, D15). La medición se realizó usando un analizador de textura TA-XT2. Las muestras fueron penetradas 5 mm de su altura original con una velocidad de penetración constante de 1.0 mm/s utilizando una sonda plana TA-MTP de 5 mm durante un tiempo. Los resultados fueron expresados como la Dureza (N) considerada como la fuerza máxima durante el primer ciclo de compresión (Hleap, 2010).

5.2.7.3 Determinación de pH y acidez titulable

El pH se midió directamente en muestras del producto (2 g), previamente homogeneizado con 5 ml de agua destilada recién hervida y enfriada, empleando un potenciómetro calibrado (Jenway, 3510). Para la determinación de la acidez titulable, porciones de 2 g de queso Oaxaca y jícama se diluyeron y homogeneizaron en 5 ml de agua destilada, recién hervida y enfriada a temperatura ambiente, posteriormente se adicionaron 5 gotas de solución alcohólica de fenolftaleína y se titularon con NaOH 0.1N. Se calculó la acidez

como porcentaje de ácido láctico mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Ácido láctico} = (\text{volumen de NaOH} \times 0.1 \times 9) / (\text{gramos de muestra})$$

5.2.7.4 Análisis estadístico

En el estudio de vida útil se analizaron los parámetros físicos, químicos y microbiológicos a lo largo del tiempo de almacenamiento del queso y la jícama. Se llevaron a cabo comparaciones mediante la prueba de Dunnett utilizado en el paquete estadístico JMP 8.0.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Evaluación del efecto del AEN sobre células libres de *Salmonella* y la interacción con los alimentos

Está bien documentado el efecto antimicrobiano del agua electrolizada sobre superficies inertes, células en suspensión y alimentos como frutas y hortalizas (Abadías *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2008; Nakano *et al.*, 2016); las cuales no presentan una gran cantidad de materia orgánica en su superficie. Sin embargo, el contacto del AEN con alimentos que contienen un mayor contenido de proteínas, lípidos y carbohidratos podría interferir con el efecto sobre los microorganismos.

En la Figura 2 se puede observar la reducción de *Salmonella* lograda (5.1 Log UFC/ml) con soluciones de AEN (56 ppm) y cloro en contacto directo con células en suspensión en ausencia de alimento. Ni (2015) reporta reducciones de más de 7 Log UFC/ml de células en suspensión (*Salmonella* Enteritidis) en contacto con agua electrolizada (pH: 5.75; ORP: 902 mV; 50 ppm de Cl) durante 5 min de exposición. En nuestro caso, la reducción lograda en el contacto directo de la AEN con las células fue menor a lo reportado por Ni; sin embargo, es bien sabido que a menor pH (del agua electrolizada) el efecto antimicrobiano aumenta.

Se obtuvieron resultados de las reducciones de *Salmonella* en presencia de materia orgánica (queso y jícama) en dos modalidades: la porción íntegra y la porción homogeneizada con la suspensión. El efecto del agua electrolizada neutra se mantiene cuando el alimento se adiciona a la suspensión como trozo. Sin embargo, cuando el alimento se dispersa e interacciona con el AEN, el efecto antimicrobiano disminuye (respecto a la suspensión sin alimento ($p < 0.05$)) 3.9 y 2.3 logaritmos el queso y la jícama, respectivamente.

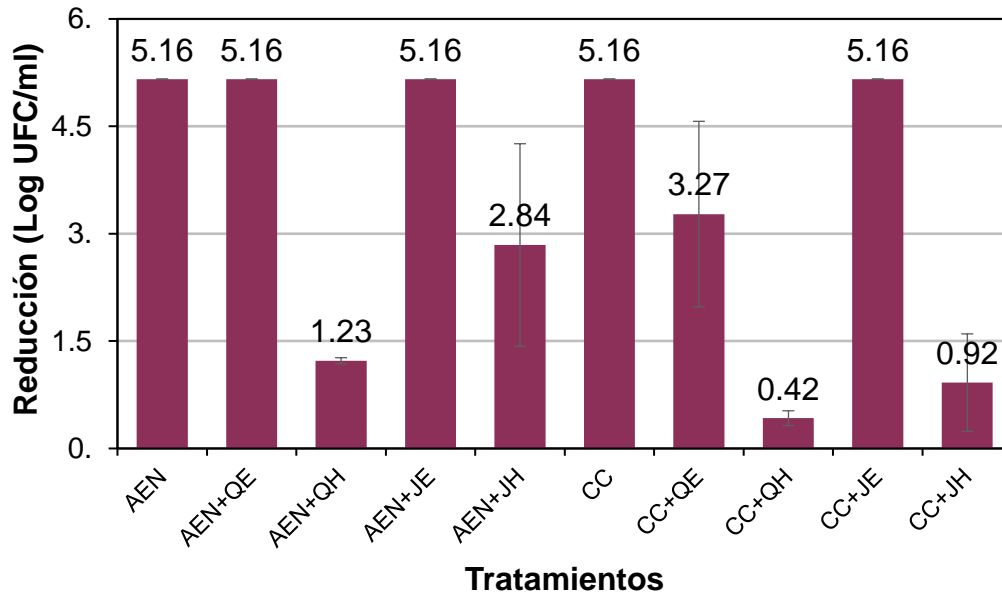


Figura 2. Reducción logarítmica de células de *Salmonella* Enteritidis después del tratamiento de 5 min en AEN (56 ppm Cl) y cloro comercial (CC; 56 ppm) con y sin adición de materia orgánica queso entero (QE); queso homogeneizado (QH); jícama entera (JE) y jícama homogeneizada (JH). Las columnas representan la media de las reducciones logarítmicas de tres repeticiones y las barras verticales representan la desviación estándar.

Se reconoce que tanto el cloro como el AEN son inhibidos por la presencia de materia orgánica; por ello, cuando se desinfectan superficies es necesario un lavado eficiente previo a su utilización como desinfectante. La interferencia del alimento en el efecto del cloro fue más marcada que con el AEN; en presencia de ambos alimentos homogeneizados, la reducción se limitó a menos de 1 Log UFC/ml. La presencia de queso íntegro también disminuyó el efecto de la solución de cloro, a diferencia de lo observado con el AEN. Considerando que el efecto antimicrobiano del AEN en el líquido no se afecta por la presencia del alimento entero, podría ser una buena alternativa para usar en tanques de enfriamiento o en alguna etapa de la producción de alimentos mínimamente procesados en donde se quiera evitar el desarrollo microbiano.

6.2 Efecto de la concentración de AEN y tiempo de exposición sobre la inactivación de *Salmonella* y BAL en queso Oaxaca y jícama.

6.2.1 Efecto sobre *Salmonella*

La eficiencia de los procesos de desinfección está influenciada por una diversidad de factores, entre los asociados al desinfectante se encuentra el tipo de desinfectante, la concentración, la temperatura y el tiempo de exposición (Fernández, 2008).

El incremento en el tiempo de exposición del alimento del AEN de 5 a 10 min, no modificó significativamente la reducción de *Salmonella* inoculada en queso; y fue similar a lo logrado con la exposición con cloro (Figura 3). En un estudio reportado por Ge *et al.* (2012) se evaluó el efecto antimicrobiano del AEN (20 ppm) sobre una mezcla de *E. coli* O157:H7 y *L. monocytogenes* inoculada en carne de cerdo, después de 5 min de exposición observaron una diferencia significativa en las reducciones microbianas respecto a 1 y 3 min. Sin embargo, no hubo diferencias significativas ($p > 0.05$) entre 5, 7 y 10 min de tratamiento, de manera similar a los resultados obtenidos en el presente estudio.

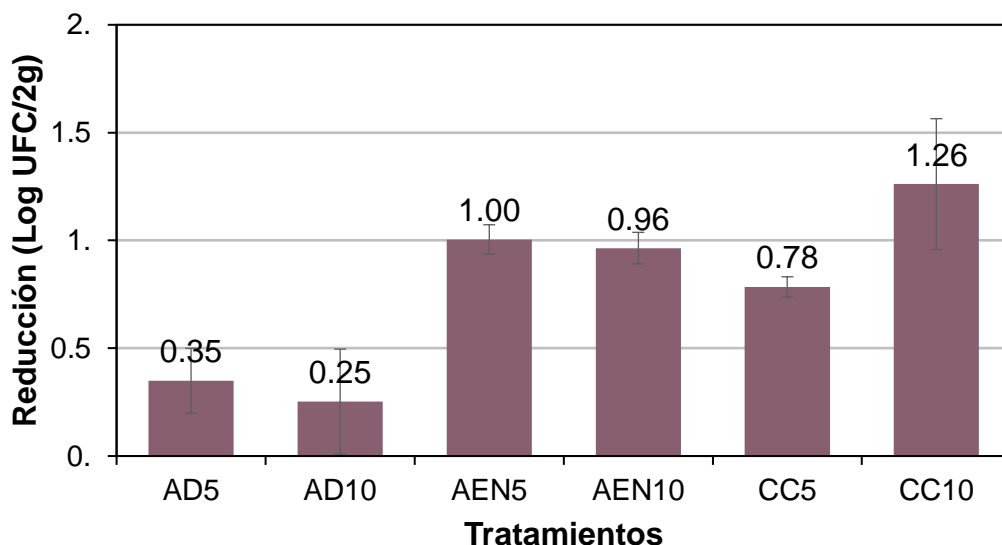


Figura 3. Efecto del tiempo de contacto en la reducción de *Salmonella* spp. inoculada en queso Oaxaca después del tratamiento con AEN (56 ppm Cl), agua destilada estéril (AD) y cloro comercial (CC; 56 ppm) como controles. El tiempo de exposición fue de 5 y 10 min. Las columnas representan la media de las

reducciones logarítmicas de tres repeticiones y las barras verticales representan la desviación estándar.

También se evidenció que el efecto antimicrobiano depende de la concentración de cloro libre en el efecto antimicrobiano del AEN (Figura 4). Como se había observado en otras evaluaciones, la reducción es baja (hasta 1.24 Log UFC/porción con 56 ppm Cl), pero similar a lo reportado en otros estudios en alimentos con alto contenido en proteína y lípidos (Fabrizio *et al.*, 2004). Rahman *et al.* (2012) evaluaron el efecto antimicrobiano de AEN (pH 6.2-6.5, 10 min exposición, 10 ppm Cl) sobre *S. Typhimurium* inoculada en carne de pollo y obtuvo una reducción de 1.9 Log UFC/g. Rahman (2012; 2013) también reporta no haber diferencia ($p > 0.05$) en las reducciones microbianas (*E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*, *L. monocytogenes*) por la aplicación de agua electrolizada ácida (pH 2.4) y neutra (pH 6.8). El efecto antimicrobiano logrado con AEN a 35 ppm es similar a lo alcanzado con 56 ppm y se encuentra alrededor de 1 Log UFC (Figura 4).

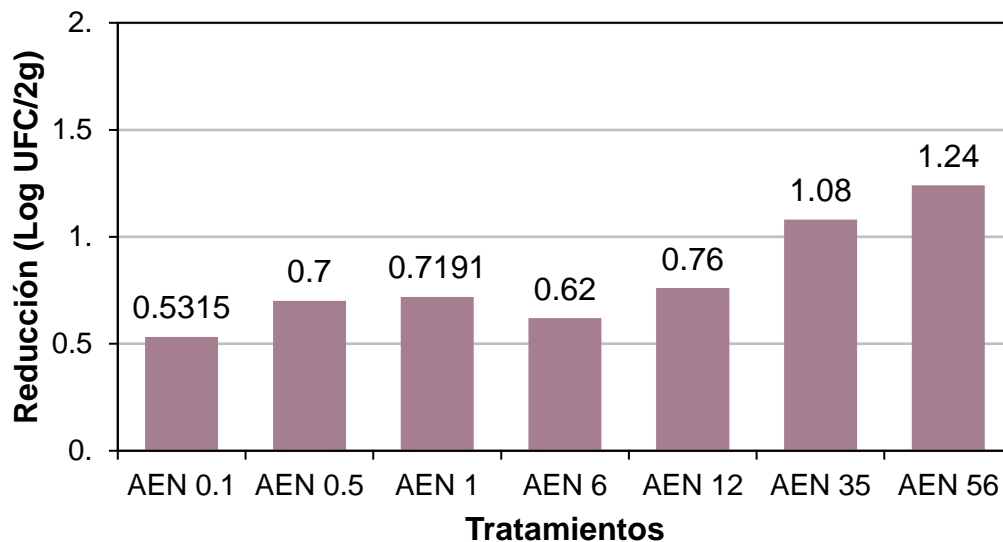


Figura 4. Efecto de la concentración del desinfectante en la reducción de *Salmonella* spp. inoculada en queso Oaxaca después del tratamiento con AEN (0.1 a 56 ppm Cl). Las columnas representan la media de las reducciones logarítmicas de tres repeticiones y las barras verticales representan la desviación estándar.

La reducción alcanzada con aplicación de AEN (56 ppm) a jícama inoculada con *Salmonella* fue de 1.26 Log UFC/porción y se vio afectada por la concentración (Figura 5), pero no por el tiempo de exposición (Figura 6). Sería interesante explorar la efectividad de la aplicación de la AEN a una temperatura de refrigeración (4-5 °C) o superior al ambiente para sus posibles aplicaciones. Abadías *et al.* (2008) evaluó el efecto antimicrobiano de la aplicación de AEN (28, 48 y 89 ppm Cl) sobre *Salmonella*, *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7 inoculadas en lechugas mínimamente procesados y sobre la microbiota nativa de otros productos mínimamente procesados (zanahoria, endibia, y ensalada 4 estaciones) encontrado que los tratamientos de AEN 1:6 (48 ppm de cloro libre), aumentan significativamente la reducción de bacterias con respecto al control. En general, no hubo un aumento significativo en la reducción de bacterias con un tiempo de tratamiento más largo. No hubo diferencias significativas en la eficacia entre aplicar AEN (89 ppm) y una solución de cloro a la misma concentración para inactivar todas las cepas ensayadas en lechuga ($p \geq 0.05$). No hubo diferencias significativas entre aplicar AEN (a 89 o 52 ppm) para cualquiera de los microorganismos. La reducción de BMA en productos mínimamente procesados estuvo entre 0.9 y 1.2 Log UFC/g. EL estudio mencionado demostró que la actividad bactericida de AEN (50 ppm) sobre los patógenos mencionados es similar al efecto que se obtiene utilizando una solución de cloro a 120 ppm de Cl. Al igual que en el presente estudio a mayor concentración en el AEN el efecto antimicrobiano aumentó.

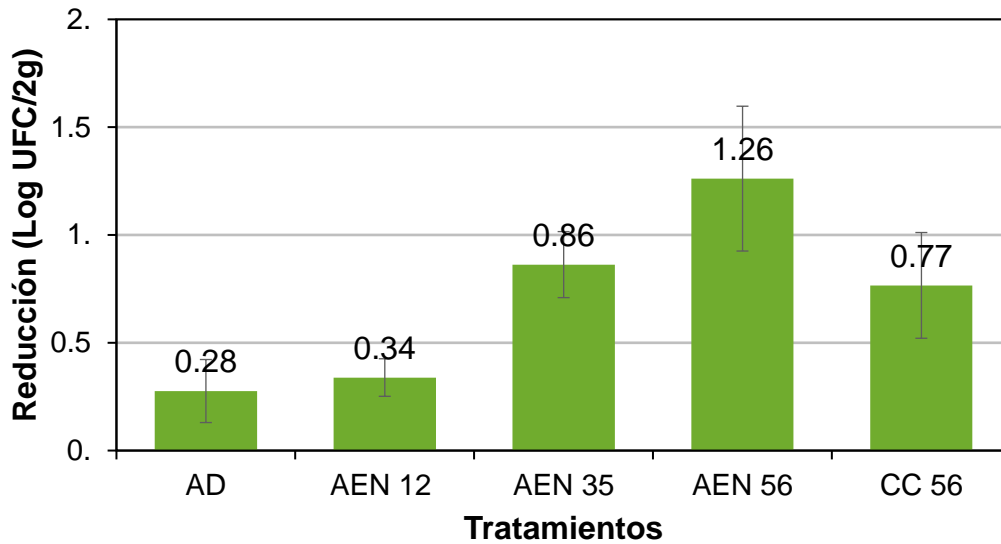


Figura 5. Reducción de *Salmonella* spp. inoculada en jícama después del tratamiento con AEN (12, 35 y 56 ppm Cl), agua destilada estéril (ADE) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm), durante 5 min. Las columnas representan la media de las reducciones logarítmicas de tres repeticiones y las barras verticales representan la desviación estándar.

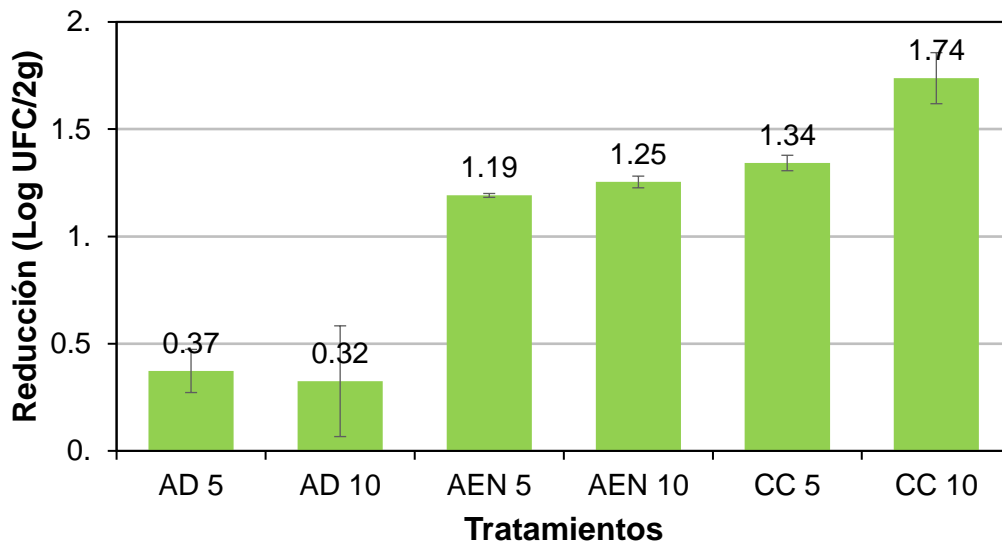


Figura 6. Reducción de *Salmonella* spp. inoculada en jícama después del tratamiento con AEN (56 ppm Cl), agua destilada estéril (AD) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm), durante 5 y 10 min. Las columnas representan la media de las reducciones logarítmicas de tres repeticiones y las barras verticales representan la desviación estándar.

La reducción del patógeno por la aplicación de AEN en jícama y queso es similar a la reportada en algunos estudios para *Salmonella* en lechuga y pollo (Abadías *et al.*, 2008; Rahman *et al.*, 2012). Fabrizio *et al.* (2015) encontraron reducciones de *L. monocytogenes* inoculada en salchicha y jamón no mayores a 1 Log UFC/g. La reducción observada en la población de *Salmonella* inoculada en queso y jícama fue menor a la registrada en la evaluación de células suspendidas, aun cuando el alimento se encontraba homogeneizado. Esto sugiere que no sólo está involucrada la interferencia de los componentes del alimento, sino también el hecho de que las células se encuentren adheridas a la superficie de los alimentos y, por tanto, con mayor capacidad para tolerar al germicida.

6.2.2 Efecto sobre BAL

Se evaluó también el efecto del AEN sobre las BAL naturalmente presentes en los alimentos (Figura 7 y 8). Las BAL forman parte de la microbiota de diversos alimentos, y dadas sus características de tolerancia al calor y acidez, así como su capacidad para desarrollarse en refrigeración, le dan potencial deteriorador de alimentos como productos lácteos, embutidos, frutas y verduras cortadas, entre otros (Chenoll *et al.*, 2007). La inactivación de microorganismos como las BAL se busca con el objetivo de disminuir la población de deterioradores y alargar la vida útil del alimento. Originalmente se había propuesto la evaluación del efecto de la AEN sobre levaduras presentes en los alimentos; sin embargo, la población de este grupo microbiano resultó en baja concentración (1-2 Log UFC/g), insuficiente para evaluar de manera confiable el efecto desinfectante. Como se observa en los gráficos (Figuras 7 y 8) el efecto de las AEN sobre las BAL fue cercano a 1 Log UFC/porción y similar entre la concentración de 35 y 56 ppm de cloro.

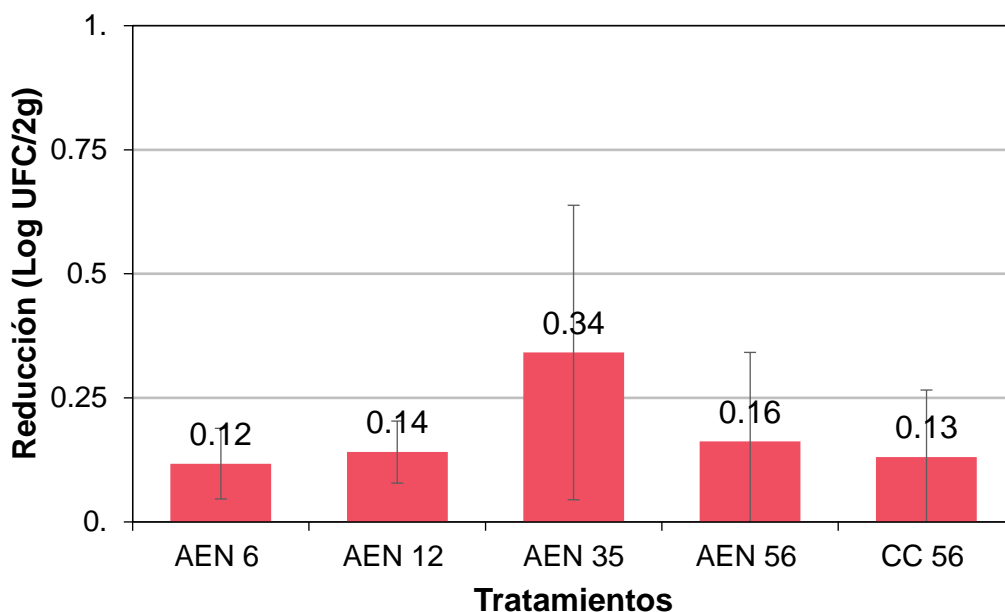


Figura 7. Reducción de BAL después del tratamiento con AEN (6, 12, 35 y 56 ppm Cl), agua destilada estéril (ADE) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm), durante 5 min. Las columnas representan la media de las reducciones logarítmicas de tres repeticiones y las barras verticales representan la desviación estándar.

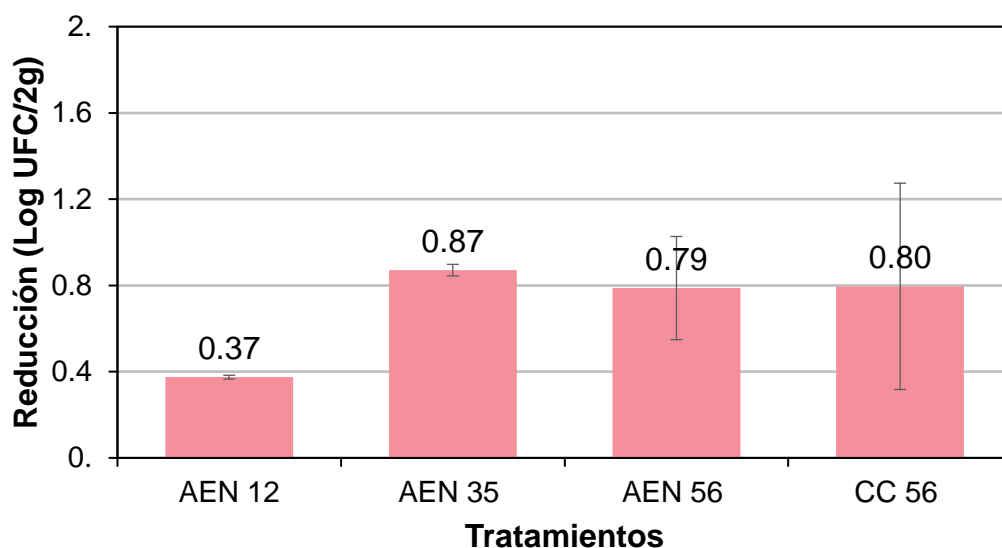


Figura 8. Reducción de BAL en jícama después del tratamiento con AEN (12, 35 y 56 ppm Cl), agua destilada estéril (ADE) e hipoclorito de sodio (CC; 56 ppm) durante de 5 min. Las columnas representan la media de las reducciones logarítmicas de tres repeticiones y las barras verticales representan la desviación estándar.

Es importante considerar cómo se afectan las soluciones del AEN y cloro durante el tratamiento. Como se observaba en la Figura 1, el alimento interfiere con el efecto antimicrobiano; esta interferencia podría ser el resultado del consumo de los componentes activos del AEN y el cloro.

La neutralización del cloro y otros desinfectantes por materia orgánica ha sido demostrada. Como se observó en el estudio de El-Kest y Marth (1988) en el cual informaron que cuanto mayor es la cantidad de materia orgánica presente, mayor es la disminución en la concentración de cloro disponible.

Por otro lado, White (1999) informó que las proteínas reaccionan con el cloro para formar organocloraminas, lo que podría modificar las propiedades del agua electrolizada. Además, sugiere que la reducción de la propiedad oxidante del agua electrolizada ácida podría deberse a una reducción del ácido hipocloroso.

Ayebah (2006) evaluó el efecto de la materia orgánica sobre la eficacia del agua electrolizada en la inactivación de *L. monocytogenes*, demostrando que la adición de suero de pollo causa una disminución del contenido de cloro y potencial de óxido reducción de la solución. Este autor reporta una disminución asociada al contacto con el suero de pollo de 43 a 3 mg/L sin cambios significativos en el pH.

En el Cuadro 13 se muestran las características químicas de las soluciones antes y después de los tratamientos sobre queso. Para el caso del AEN se pierde en el contacto con el alimento entre 39 y 54% del cloro libre, mientras que para el hipoclorito la pérdida en la concentración fue entre 47 y 52%.

Cuando las soluciones se aplicaron a jícama (Cuadro 14), la reducción en la concentración de cloro libre a causa del contacto con el alimento fue similar a lo observado con queso; el AEN se perdió entre 44 y 51%, mientras que para la solución de hipoclorito la pérdida fue entre 46 y 58%; es decir, la disminución de la concentración de cloro por contacto con los alimentos probados es similar en AEN y solución de cloro.

Cuadro 13. Características químicas de agua y soluciones de AEN e hipoclorito de sodio antes y después de ser aplicadas a queso Oaxaca por 5 y 10 min.

Tratamiento	Parámetro	Antes del tratamiento	Después de 5 min de tratamiento	Después de 10 min de tratamiento
Agua destilada	pH	7.3	5.1	5.3
	ORP	415.0	469.0	479
	Concentración de cloro libre	<3.6	<3.6	<3.6
AEN	pH	6.5	5.1	5.1
	ORP	854.0	879.0	879.0
	Concentración de cloro libre	56.0	25.7	25.7
Hipoclorito de sodio	pH	9.2	6.5	6.5
	ORP	904.0	802.0	802.0
	Concentración de cloro libre	56.0	26.6	26.6

Cuadro 14. Características químicas de agua y soluciones de AEN e hipoclorito de sodio antes y después de ser aplicadas a jícama por 5 y 10 min.

Tratamiento	Parámetro	Antes del tratamiento	Después de 5 min de tratamiento	Después de 10 min de tratamiento
Agua destilada	pH	7.3	6.3	6.7
	ORP	415.00	382.00	342
	Concentración de cloro libre	<3.6	<3.6	<3.6
AEN	pH	6.5	4.3	5.8
	ORP	854.0	1007.0	989.0
	Concentración de cloro libre	56.0	27.2	31.3
Hipoclorito de sodio	pH	9.2	6.9	7.4
	ORP	904.0	854.0	835.0
	Concentración de cloro libre	56.0	23.6	30.1

Con base en los resultados obtenidos (de inactivación microbiana), el AEN tiene potencial para ser utilizada como desinfectante del queso Oaxaca (en etapas como el enfriamiento) y jícama mínimamente procesada (en la etapa de desinfección) con el fin de mejorar su inocuidad y alargar su vida útil.

Es importante mencionar que, en el caso del queso, los microorganismos pueden estar tanto en el interior (aunque se esperaría en menor carga) del alimento como en la superficie y la aplicación de AEN lograría solamente la inactivación de los microorganismos en el exterior del alimento. En el caso de la jícama, los microorganismos se encuentran exclusivamente en el exterior y el tratamiento de desinfección se enfocaría a su inactivación; es por esto que la aplicación de AEN podría complementarse con otras estrategias (como ácidos orgánicos) para lograr un sistema de control de la inocuidad de estos alimentos.

6.2 Evaluación del efecto de la aplicación de AEN sobre los lípidos del alimento.

Los lípidos tienen funciones diversas en los alimentos, aportan en contenido de nutrientes, textura y sabor; sin embargo, son compuestos muy activos que pueden generar radicales libres e hidroperóxidos. Los hidroperóxidos a su vez pueden ser degradados, durante la oxidación secundaria, a compuestos volátiles como ésteres, cetonas, aldehídos, hidrocarburos, alcoholes y ácidos orgánicos, entre otros, que afectan la calidad sensorial del alimento (Frankel, 1985).

La importancia de conocer la concentración de hidroperóxidos, recae en que la presencia de éstos es proporcional a la concentración de los productos de su degradación como el malondialdehído (MDA), un compuesto que forma aductos con el ADN y las proteínas lo que lo hace ser mutagénico para el ser humano (Esterbauer *et al.*, 1991). El efecto del AEN sobre los lípidos de los alimentos se ha estudiado en carne, pero no el queso (Ding, 2010).

En la Figura 10 se muestran los niveles de hidroperóxidos en queso Oaxaca expuesto a agua destilada (control), AEN y cloro por 5 y 10 min. Aun

cuando los niveles detectados son bajos, son estadísticamente diferentes al control ($p < 0.04$). Destacan también los valores negativos observados cuando la AEN se aplicó por 5 min. Es importante mencionar que en queso se generaron hidroperóxidos en un nivel bajo (0.4 ppm) sólo cuando la aplicación fue por 10 min y, en todos los casos, fue menor que en el alimento expuesto a la solución de cloro.

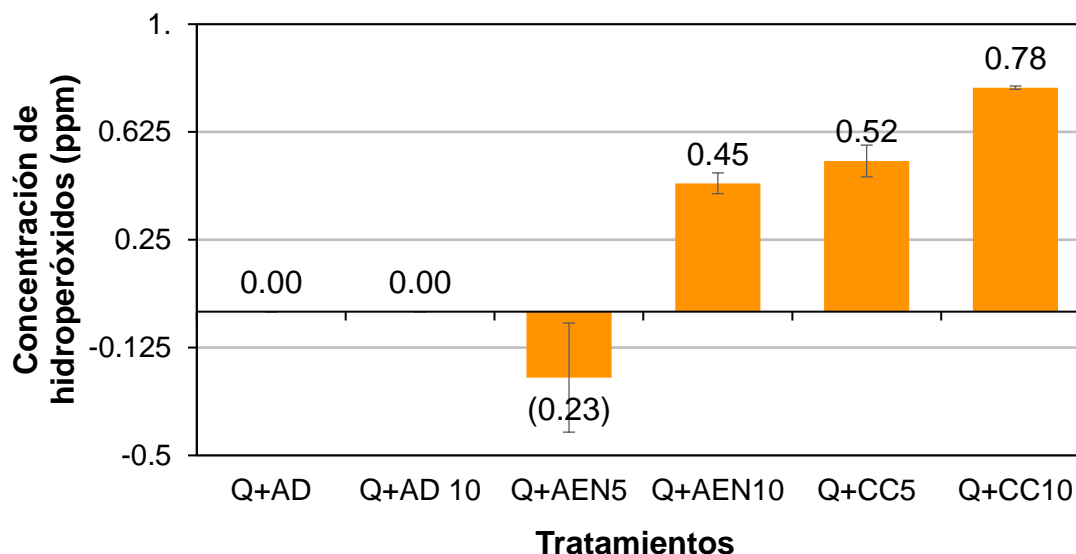


Figura 10. Contenido de hidroperóxidos en queso Oaxaca (Q) expuesto a agua (control), AEN y cloro comercial (CC), ambos a 56 ppm, por 5 y 10 min.

De acuerdo a evaluaciones preliminares de la composición de la jícama, se sabe que presenta cerca de 0.21% de grasa, es decir, una cantidad mínima pero no nula. Por lo que se decidió evaluar o corroborar la ausencia de formación de hidroperóxidos durante los tratamientos de AEN. Efectivamente, la aplicación de AEN y cloro por 5 y 10 min en jícama no generó la producción de hidroperóxidos (Figura 11); Incluso se observó una ligera actividad antioxidante con el AEN.

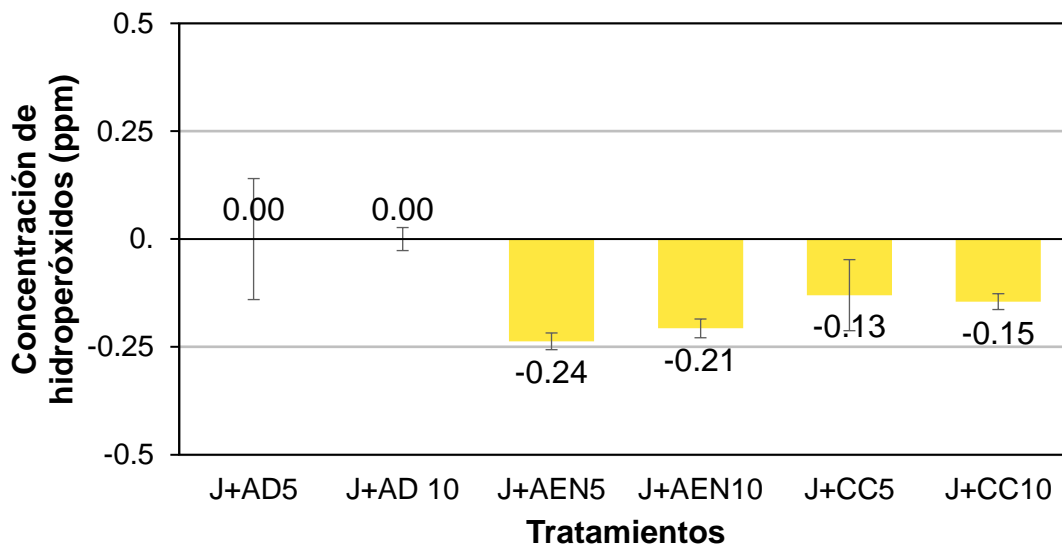


Figura 11. Contenido de hidroperóxidos en jícama expuesta a agua (J+AD), AEN (J+AEN,56 ppm) y cloro (56ppm, J+CC) por 5 y 10 min.

6.3 Evaluación del efecto de la aplicación de AEN sobre las proteínas de queso

Las proteínas son de los compuestos más relevantes en el queso, desde el punto de vista nutricional y de características sensoriales (Domínguez-López, 2011). En el queso, el contenido de proteína debe ser de al menos 28% (NOM-243-SSA1-2010). No existe una norma mexicana que regule específicamente el queso Oaxaca, pero este producto está incluido en la norma general de quesos.

Los compuestos oxidantes pueden reaccionar con los componentes orgánicos del queso. Uno de los efectos de la oxidación de proteínas puede ser el rompimiento de los enlaces peptídicos, con lo cual se generan nuevos fragmentos de proteínas (Lund *et al.*, 2011).

En este estudio se evaluó el posible efecto oxidativo del AEN sobre las proteínas del queso Oaxaca resultando en un posible cambio en el perfil electroforético de las proteínas del mismo; tanto de un extracto soluble, como de las proteínas desnaturalizadas del queso.

Las Figuras 12 y 13 muestran los perfiles de proteínas solubles obtenidas de quesos expuestos a soluciones de AEN (56 ppm) y cloro (56 ppm) por 5 y 10

minutos. Se puede apreciar una banda en el extracto de queso expuesto por 5 minutos a la solución de cloro, que no se evidencia en el control (agua), ni en el alimento expuesto a AEN (Figura 13).

En este estudio se evaluó el cambio en el perfil electroforético de las proteínas del queso, de un extracto soluble y de las proteínas desnaturalizadas del queso.

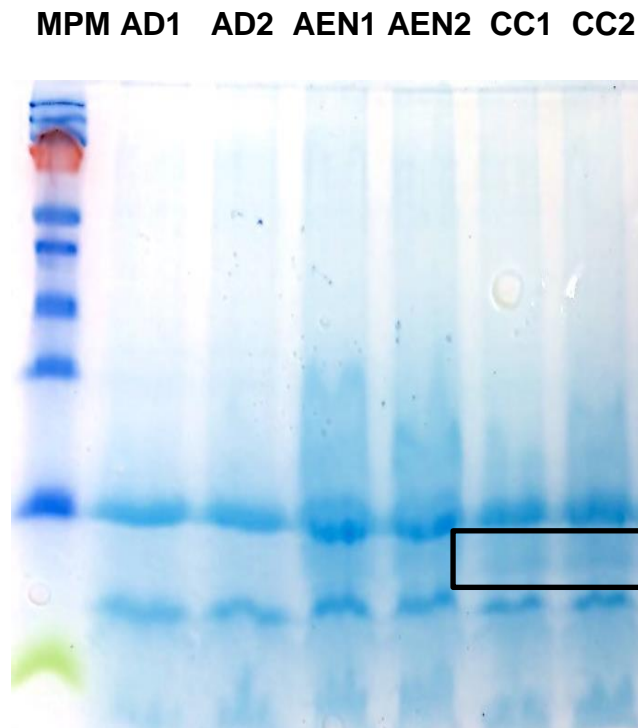


Figura 12. Perfil proteico del extracto acuoso de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 5 min.

Para el caso de la exposición del queso Oaxaca a las soluciones por 10 min, se puede observar el fragmento proteico adicional al perfil control, tanto en el extracto del alimento expuesto a AEN, como a la solución de cloro (Figura 13).

La oxidación de las proteínas no es marcada, pero se da en exposiciones superiores a 5 min del AEN a concentración de 56ppm. La oxidación de proteínas se ha estudiado principalmente en carne y se ha demostrado que puede generar la pérdida de aminoácidos esenciales y disminución de la digestibilidad, con lo

cual se afecta el valor nutricional del alimento (Lund *et al.*, 2011). Este es el primer reporte sobre el efecto del AEN sobre proteínas de queso.

MPM AD1 AD2 AEN1 AEN2 CC1 CC2

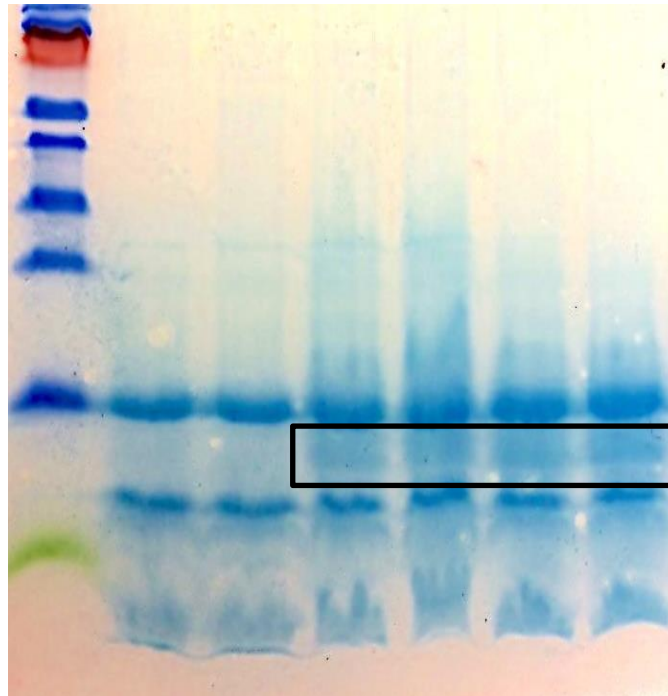


Figura 13. Perfil proteico del extracto acuoso de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 10 min.

Las Figuras 14 y 15 muestran los perfiles de proteínas desnaturalizadas (con urea 8 M) obtenidas de quesos expuestos a soluciones de AEN y cloro (56 ppm) por 5 y 10 min. En estos geles no se logra apreciar diferencia alguna en las bandas del control, AEN o solución de cloro.

Es importante mencionar que este estudio es exploratorio, por lo que existe la necesidad de implementar técnicas sensibles que nos permitan identificar a profundidad la oxidación, es decir, en qué aminoácidos, o que cambios están ocurriendo en las proteínas que nos permitan sugerir un efecto oxidativo por los tratamientos aplicados. Dalsgaard *et al.* (2007) reportan técnicas para analizar la oxidación en las proteínas de la leche tales como la detección de grupos carbonilo

en aminoácidos como triptofano, histidina y metionina mediante HPLC en fase reversa, así como la cuantificación de ditirosina por HPLC, cuantificación de N-formilkinurenina por espectroscopía de fluorescencia y cambios en la estructura secundaria mediante dicroísmo circular.

MPM AD1 AD2 AEN1 AEN2 CC1 CC2

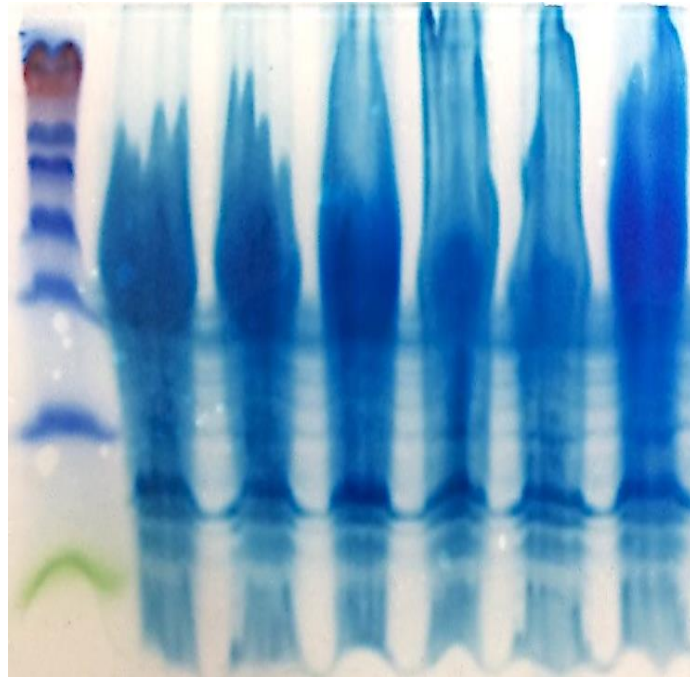


Figura 14. Perfil proteico de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro comercial (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 5 min.

MPM AD1 AD2 AEN1 AEN2 CC1 CC2

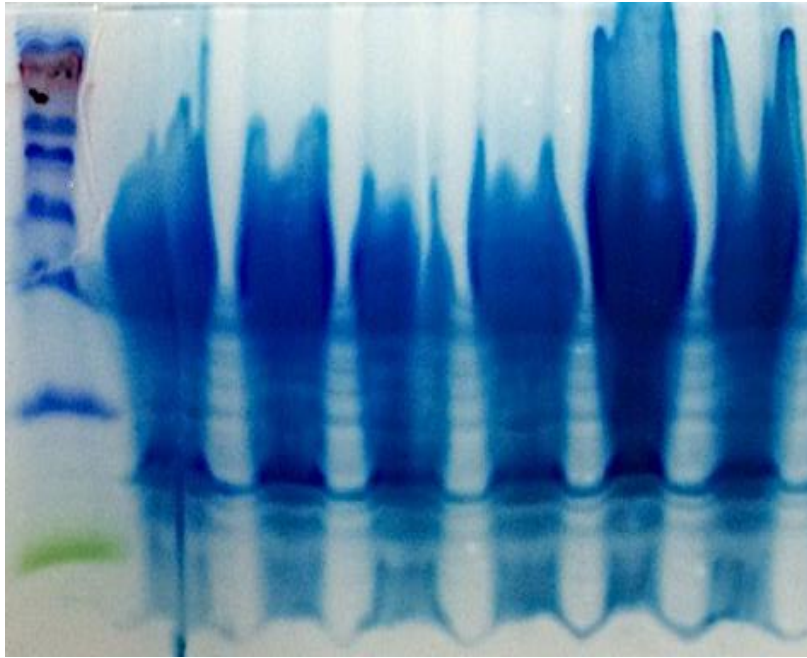


Figura 15. Perfil proteico de queso tratado con agua destilada (AD), agua electrolizada neutra (AEN) y cloro comercial (CC) ambos a 56 ppm de Cl durante 10 min.

6.4 Efecto de la aplicación de AEN sobre la vida útil de queso Oaxaca y jícama

6.4.1 Queso almacenado a 4 °C

El queso, al ser un alimento perecedero se emplea el almacenamiento a bajas temperaturas para conservar el alimento. Sin embargo, las BAL muestran capacidad para desarrollar en esta condición y suelen ser deterioradores de la leche y los productos lácteos.

Para esta evaluación se seleccionaron dos concentraciones de AEN que fueran factibles de aplicar en el ambiente de producción y como control se utilizó agua destilada estéril (0 ppm de Cl o Control). En las Figuras 16, 17 y 18 se muestra la evolución de la población de BAL, el nivel de pH y el porcentaje de ácido láctico (AL) de queso expuesto a AEN con 0, 6 y 35 ppm de cloro y posteriormente almacenado a 4°C por 30 días. No se observaron diferencias significativas en ninguno de los dos parámetros con respecto al control dentro de cada tiempo de medición y en ambas concentraciones del AEN evaluadas ($p > 0.05$).

La actividad de las BAL en los alimentos suele acompañarse de un descenso del pH, como se observa en la Figura 16 y 17 dado que la aplicación de AEN no afectó el nivel de BAL, ni su desarrollo a lo largo del almacenamiento, es congruente que no se hayan presentado diferencias en el nivel de pH del alimento expuesto a AEN, con respecto al control.

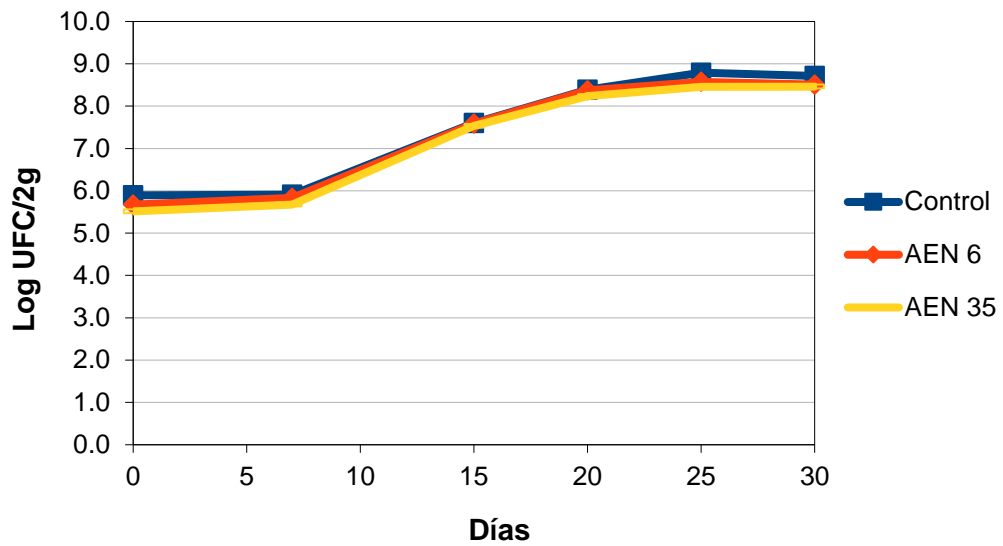


Figura 16. Comportamiento de BAL en queso Oaxaca expuesto a agua electrolizada (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.

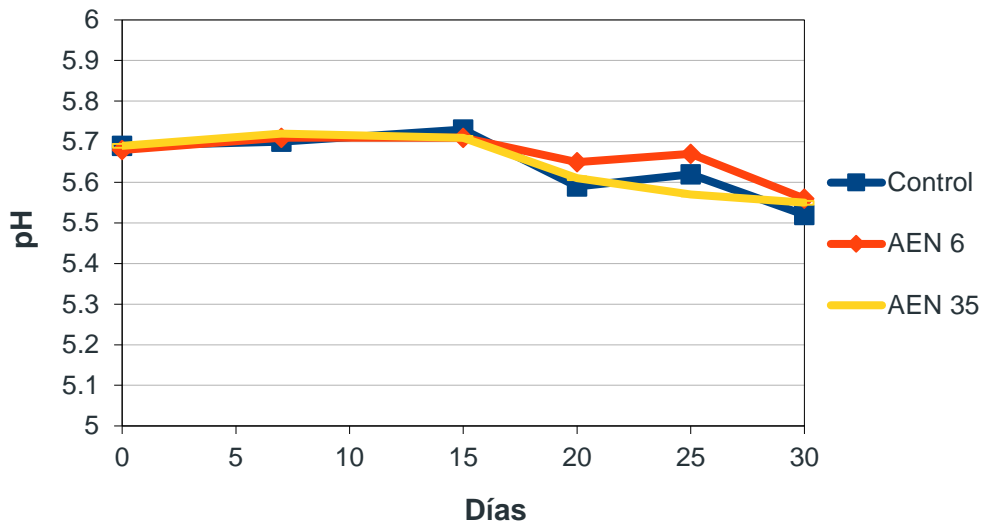


Figura 17. Cambios en el pH del queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.

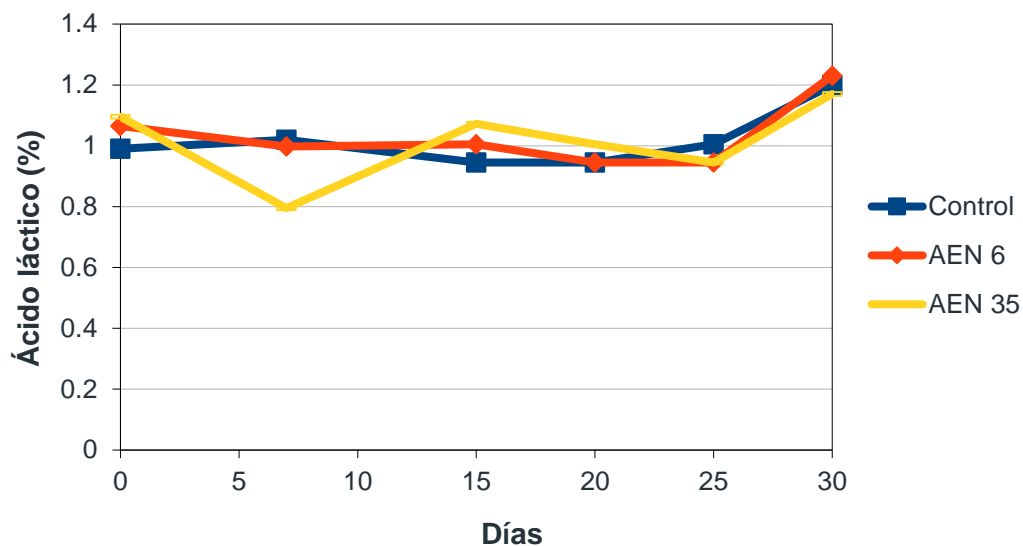


Figura 18. Concentración de ácido láctico en queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.

Se determinó también el contenido de hidroperóxidos en el alimento durante el almacenamiento. Como se había comentado previamente, la aplicación de AEN se asoció con un ligero, pero significativo efecto antioxidante. Como se observa en la Figura 19, este efecto se hace evidente, y no se producen hidroperóxidos hasta después de 25 días de almacenamiento del alimento expuesto a AEN, tanto a 6 como a 35 ppm de cloro libre. Aunque este efecto resultó estadísticamente significativo, la concentración de hidroperóxidos generada en el control sigue siendo muy pequeña. Dalsgaard *et al.* (2010) cuantificaron la concentración de hidroperóxidos lipídicos en queso por efecto de la fotooxidación, encontrando que los niveles de hidroperóxidos (0.9 ppm) en queso fotooxidado y empacado al vacío son significativamente menores ($p < 0.001$) que en quesos tratados y empacados en aerobiosis (5.1 ppm) después de 21 días de almacenamiento.

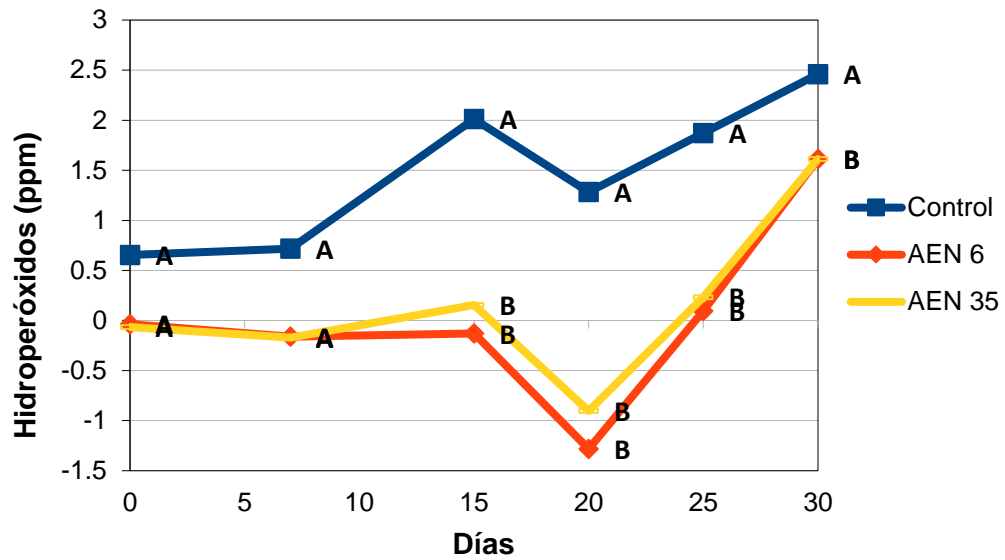


Figura 19. Concentración de hidroperóxidos en queso Oaxaca expuesto a agua electrolizada (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.

Como se puede observar en la Figura 20, no se presentaron cambios significativos en los parámetros de color del queso a lo largo del almacenamiento a 4°C; ni la luminosidad (L), es decir, que tan blanco se mantuvo el alimento, ni los niveles de a (de rojo a verde), ni de b (amarillo a azul).

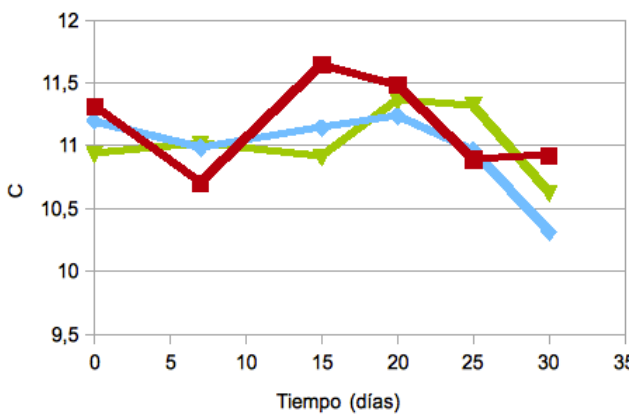
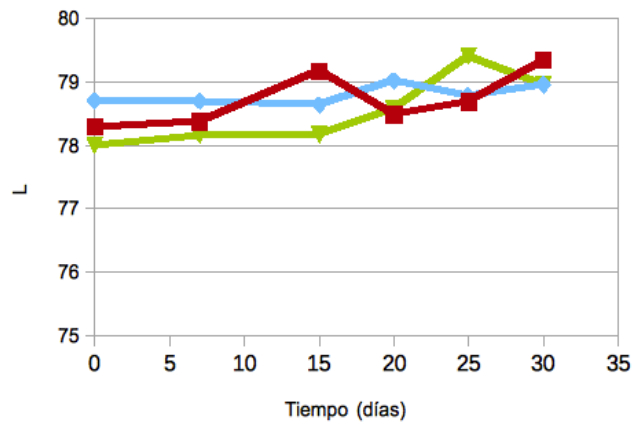
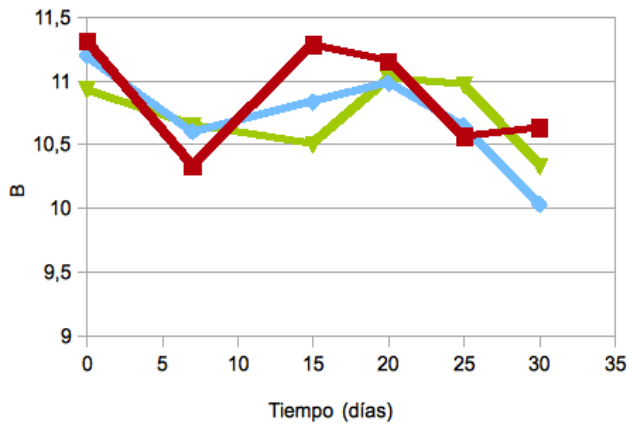
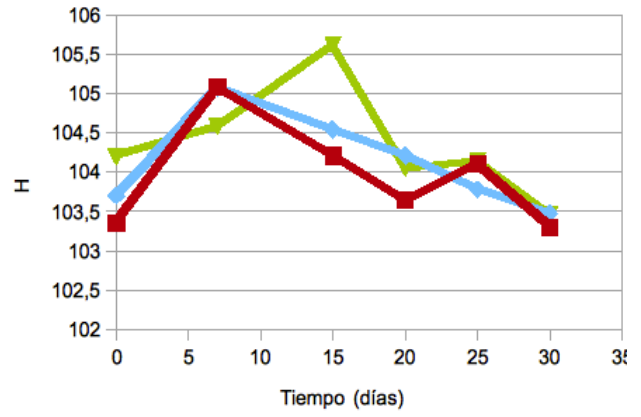
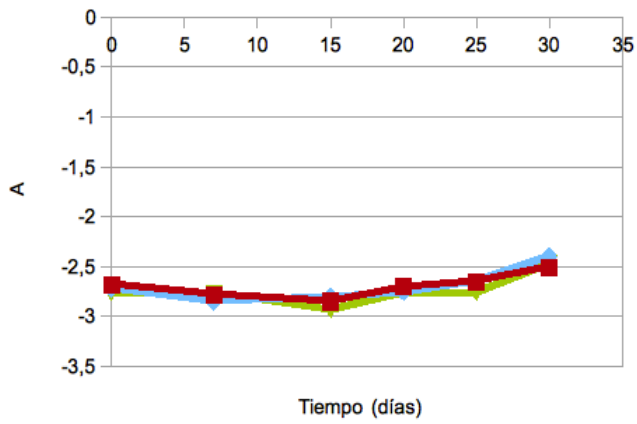


Figura 20. Evolución de los parámetros (L, a, b, c, H) asociados al color de queso Oaxaca almacenado a 4 °C y previamente expuesto a agua (Control) y agua electrolizada (6 y 35 ppm).

6.4.2 Queso almacenado a 30 °C

El almacenamiento a 30 °C simula una condición que puede presentarse en la comercialización de los alimentos en mercados o expendios pequeños. Sin embargo, el principal interés de llevar a cabo estos estudios es observar de manera acelerada los cambios que pueden presentarse en el alimento. Las Figuras 21, 22 y 23 muestran la evolución de la población de la BAL, el nivel de pH y porcentaje de ácido láctico en queso Oaxaca almacenado a 30 °C. Como se puede apreciar, la exposición a AEN no modifica significativamente estos parámetros.

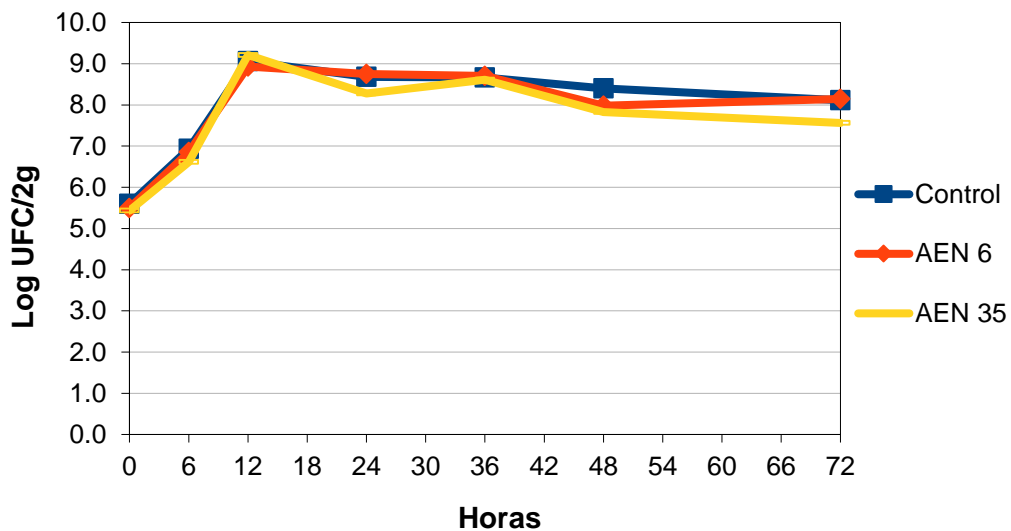


Figura 21. Comportamiento de BAL en queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.

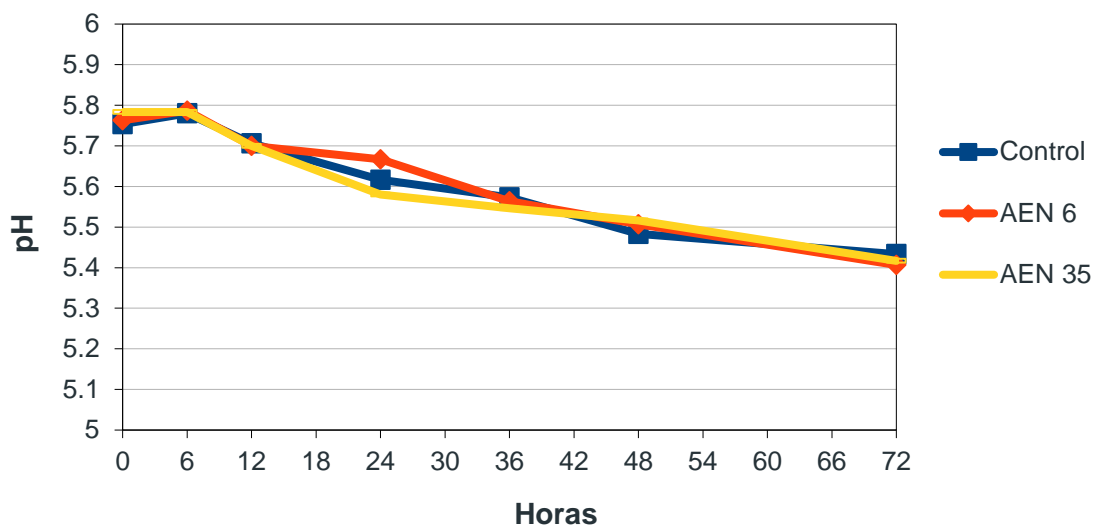


Figura 22. Cambios en el pH del queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.

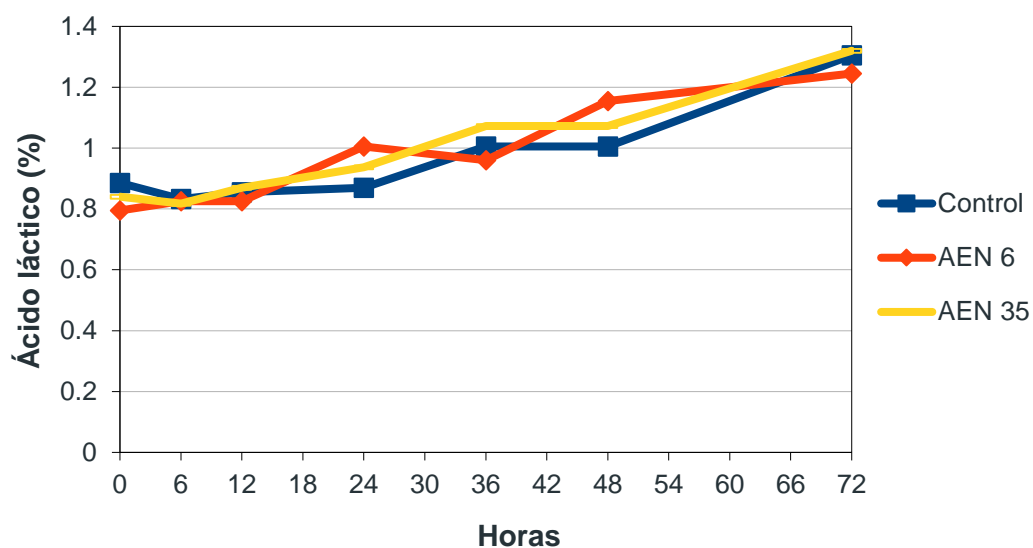


Figura 23. Concentración de ácido láctico en queso Oaxaca expuesto a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.

En cuanto al contenido de hidroperóxidos, se observa de manera más marcada la diferencia entre el control y el queso expuesto a AEN, en particular después de las 72 h de almacenamiento (Figura 24).

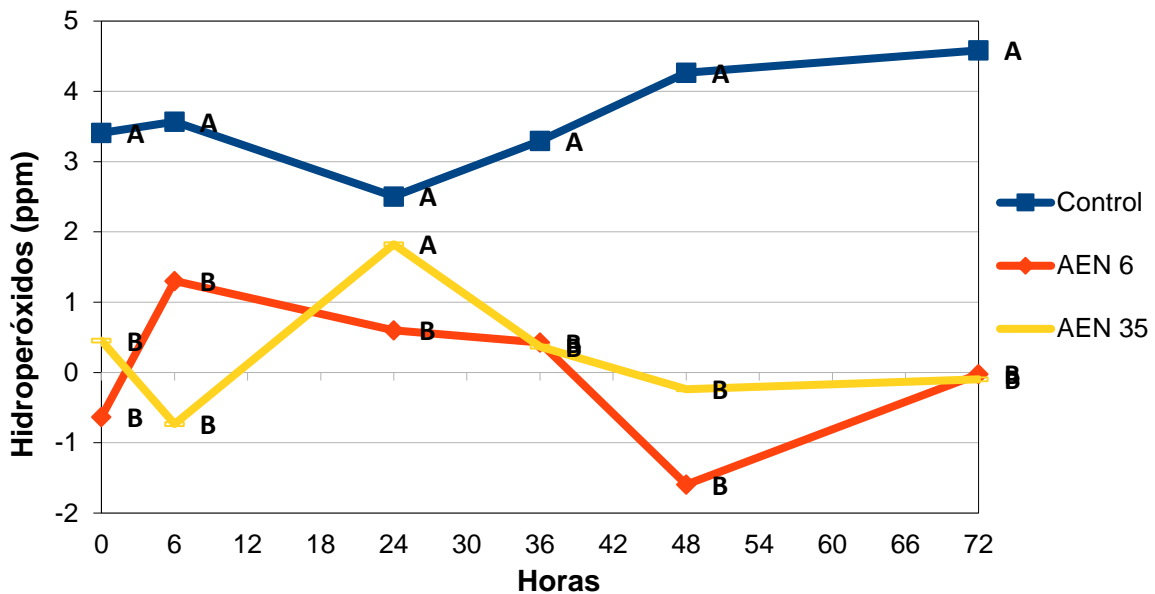


Figura 24. Concentración de hidroperóxidos en queso Oaxaca expuesto a agua electrolizada (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 30 °C.

La evolución de los parámetros que describen el color del alimento se muestra en las Figuras 20 y 25. A pesar que a 30 °C se observan los cambios de manera más acelerada que a 4 °C, no se observaron cambios en las características del color del alimento debido a la aplicación de AEN. Aún a las 72 h de almacenamiento cuando se observó una diferencia un poco mayor en la luminosidad del queso tratado con 35 ppm con respecto al control, la diferencia no resultó significativa estadísticamente, ni desde el punto de vista práctico. Los valores de L fueron menores a los reportados para el queso Coalho (Queiroga *et al.*, 2013), un queso fresco producido en Brasil; mientras que los valores reportados por estos autores fueron muy similares, alrededor de -3.12, también observaron una tendencia a la disminución de la luminosidad durante el almacenamiento a 10 °C. En otros alimentos se ha asociado la disminución de la luminosidad a la generación de viscosidad (Rivera y Mercado, 2015).

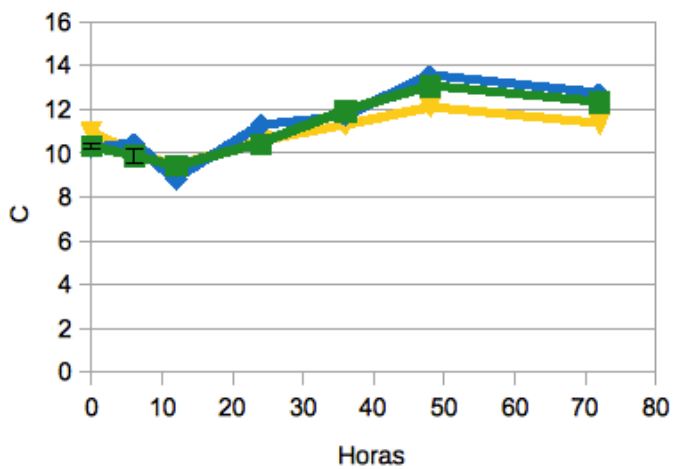
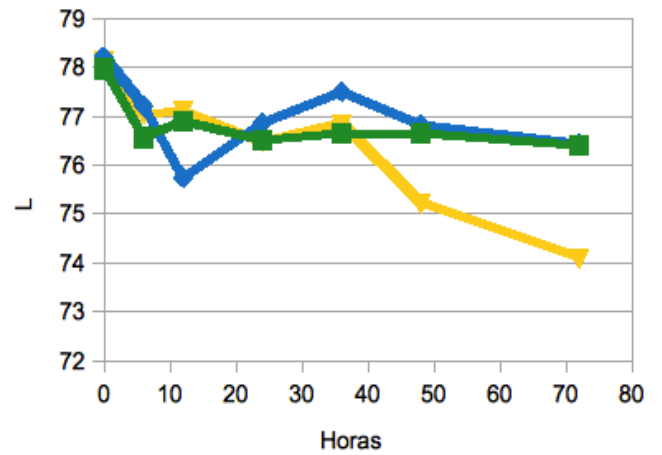
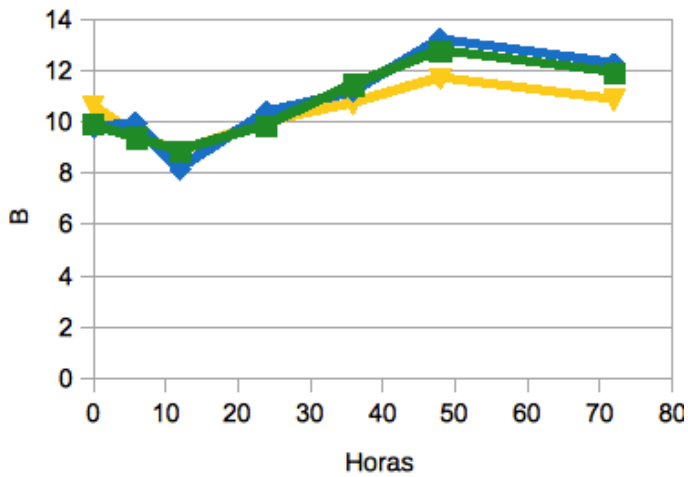
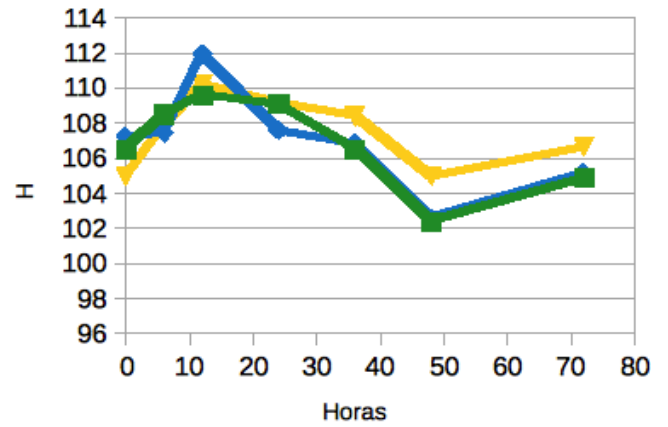
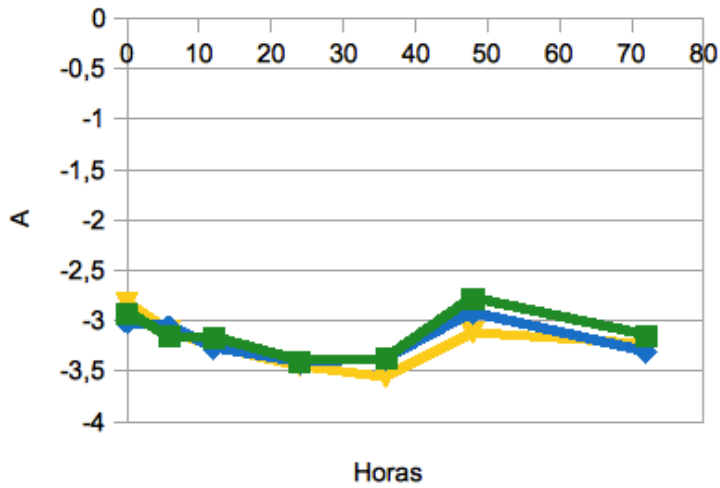


Figura 25. Evolución de los parámetros (L,a, b, c, H) asociados al color de queso Oaxaca almacenado a 30 °C y previamente expuesto a agua (Control) y agua electrolizada (6 y 35 ppm).

6.4.3 Jícama almacenada a 4 °C

Como se ha señalado ya, la aplicación de AEN sobre jícama cortada si mostró un efecto antimicrobiano. En el estudio de vida útil se incluyó la cuantificación de BAL dado que, en estudios previos en el posgrado, se ha señalado a este grupo como deteriorador de frutas de este alimento (Rivera y Mercado, 2015). Como se observa en la Figura 26, el contenido de BAL en el alimento expuesto a AEN es cerca de 1.5 Log de UFC/g menor que el alimento control. Se ha reportado que a 5 °C el tiempo de vida útil de la jícama mínimamente procesada cercano a 8 días (Rivera y Mercado, 2015). Después de 8 días de almacenamiento, el alimento expuesto a AEN mostró niveles similares a los del alimento sin AEN al día 0 y no presentó signos de deterioro, en contraste con el alimento control. Así, los cambios sensoriales se retrasaron aproximadamente 4 días en las porciones de jícama expuesta a AEN, tanto a 6 como 35 ppm de cloro libre.

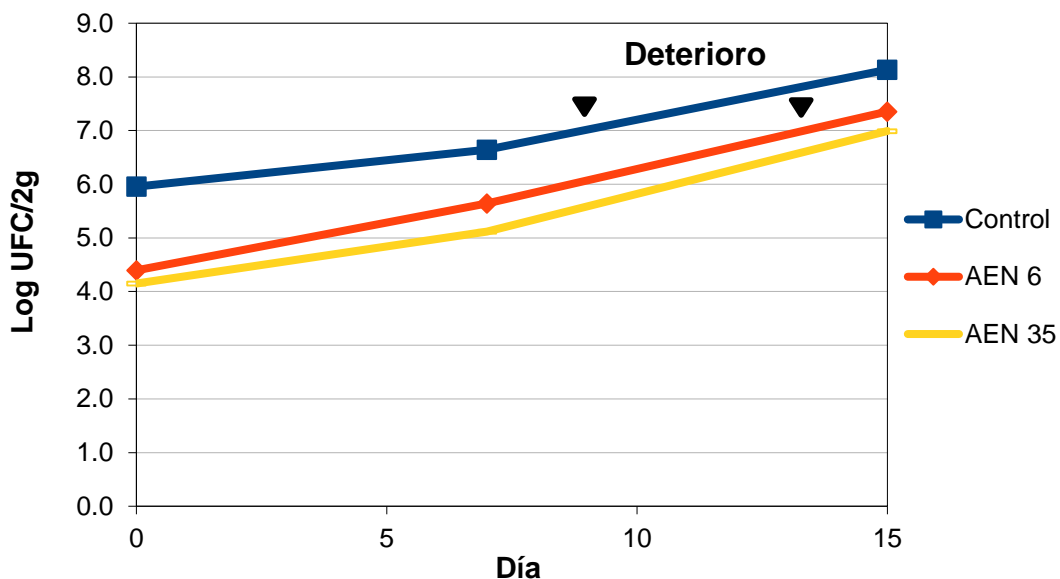


Figura 26. Comportamiento de BAL en jícama cortada expuesta a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C. Las flechas negras indican los días en los que comenzó el deterioro (~ 7 Log UFC) para los tratamientos y el control.

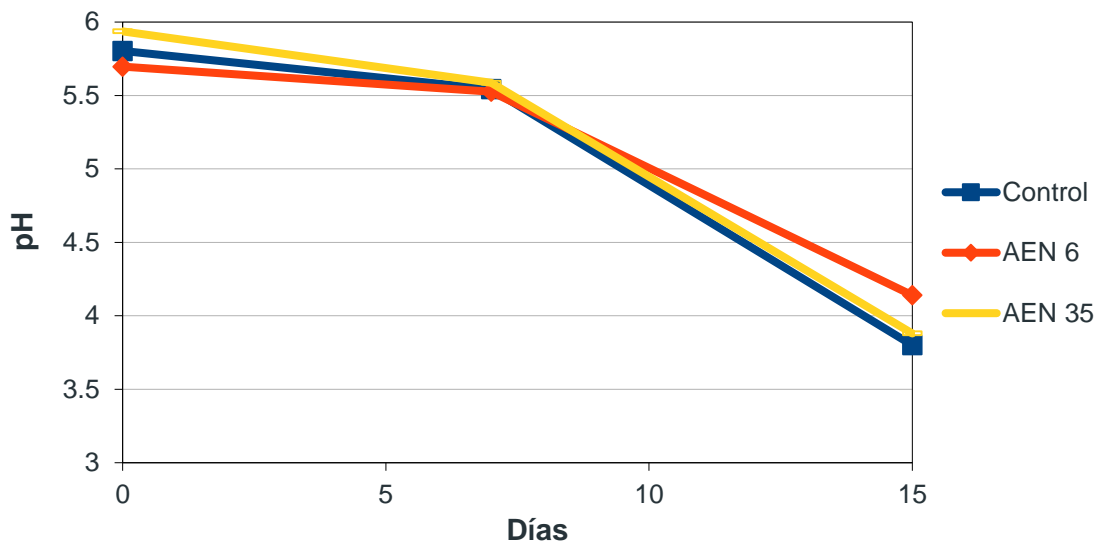


Figura 27. Cambios en el pH de la jícama expuesta a AEN (6 y 35 ppm) y agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.

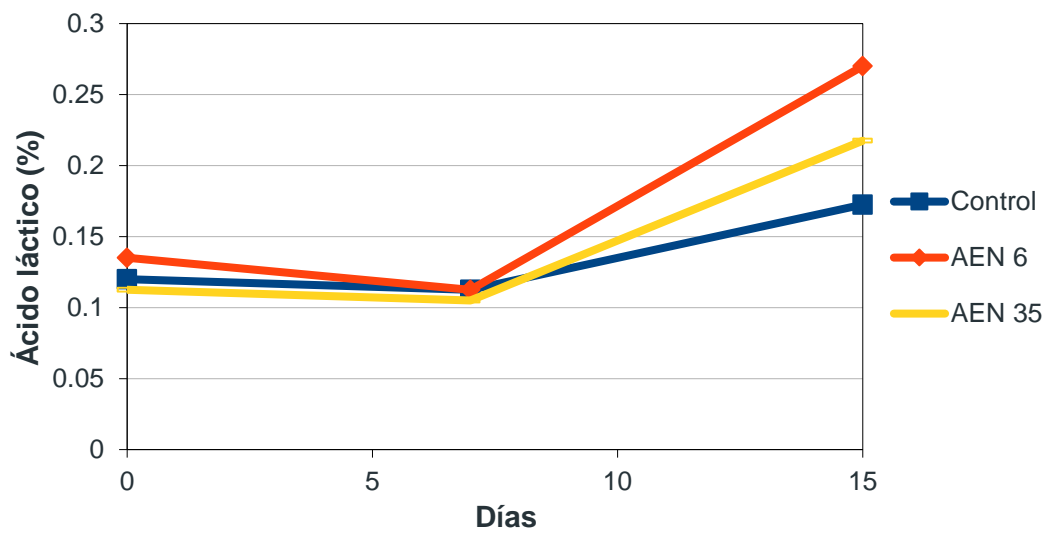


Figura 28. Concentración de ácido láctico en jícama expuesta a AEN (6 y 35 ppm) agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4 °C.

Para observar los cambios de textura en la jícama cortada por efecto de los tratamientos aplicados se utilizó la evaluación de la dureza, la cual se refiere a la fuerza requerida para comprimir un alimento entre los molares o entre la lengua y el paladar (Civille, 1976). La dureza se evaluó en la jícama almacenada a 4 °C durante 15 días con tres puntos de medición (día 0, día 7 y día 15).

De acuerdo a los resultados no se observaron diferencias significativas de los tratamientos de AEN respecto al control en cada punto de análisis. Sin embargo, se aprecia una tendencia a disminución durante el almacenamiento.

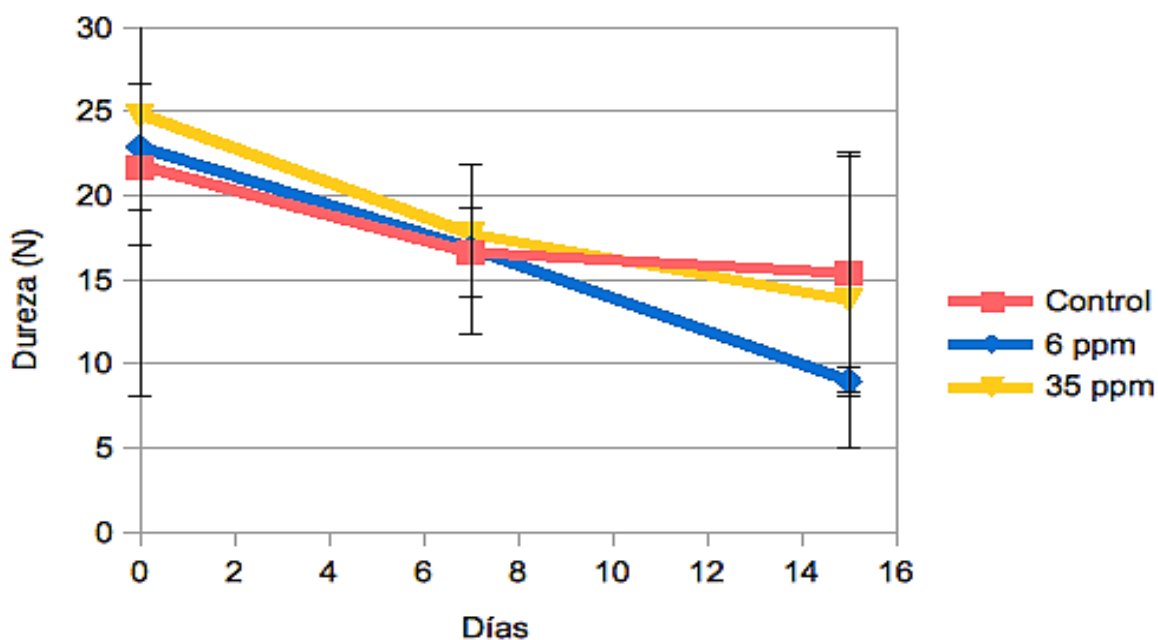


Figura 29. Cambios en la dureza de la jícama expuesta a AEN (6 y 35 ppm) agua destilada (Control) durante el almacenamiento a 4°C.

VII. CONCLUSIONES

1. El efecto de la aplicación de AEN (56 ppm) a queso Oaxaca y trozos de jícama generó una disminución de la población de *Salmonella* de 0.85 y 1.25 Log UFC/porción, respectivamente. La aplicación de AEN a los alimentos puede ser empleado como un elemento del sistema de control de la inocuidad de estos alimentos. Sin embargo, por sí misma no es suficiente para asegurar la inocuidad de éstos alimentos. Este desinfectante muestra mayor potencial en el procesamiento de jícama cortada, dado que los microorganismos a inactivar se encuentran exclusivamente en el exterior, en contraste con el queso.

2. El efecto antimicrobiano sobre *Salmonella* fue dependiente de la concentración del AEN, con resultados similares entre 35 y 56 ppm.

3. El AEN se inactiva en menor grado con la materia orgánica en comparación a una solución de concentración equivalente de cloro. El uso del AEN en etapas en donde se contacte el alimento, como en el enfriamiento, podría mantener más tiempo su efecto que el cloro.

4. La exposición del queso Oaxaca al AEN por a 56 ppm por 10 min genera compuestos derivados de la oxidación de lípidos (hidroperóxidos) y causa cambios en el perfil electroforético de las proteínas del alimento que podrían afectar su calidad nutricional.

5. La exposición del queso Oaxaca al AEN (56/5 min) muestra un ligero efecto antioxidante, este fenómeno se observó también durante el almacenamiento (4 y 30 °C) del alimento expuesto a 6 y 35 ppm.

6. La aplicación del AEN a jícama cortada mejora la calidad microbiana del alimento y retrasa su deterioro por 4 días en el almacenamiento a 4 °C, lo cual es relevante dado que se ha estimado que su vida útil es de 12 días.

7. La aplicación de AEN no afecta las características de color del queso Oaxaca.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abadías, M., Usall, J., Oliveira, M., Alegre, I., Viñas, I. (2008). Efficacy of neutral electrolyzed water (NEW) for reducing microbial contamination on minimally-processed vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1-2), 151–158.

Abou-Taleb, M., Kawai, Y. (2008). Shelf life of semifried tuna slices coated with essential oil compounds after treatment with anodic electrolyzed NaCl solution. *Journal of Food Protection*, 71 (4), 770- 774.

Afari, G. K., Hung, Y., King, C. H. (2015). Efficacy of neutral pH electrolyzed water in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium DT 104 on fresh produce items using an automated washer at simulated food service conditions. *Journal of Food Science*. 80(8), 1815-22.

Aguayo, E., Escalona, V., Silveira, A.C., Artés, F. (2013). Quality of tomato slices disinfected with ozonated water. *Food Science and Technology International*, 20, 227-235.

Allard, S., Criquet, J., Prunier, A., Falatin, C., Le Person, A., Tang, J. Y-M., Croué, J-P. (2016). Photodecomposition of ionated contrast media and subsequent formation of toxic moieties during final disinfection with chlorinated oxidants. *Water Research*, 103, 453-461.

Albrich, J.M., Gilbaugh III, J.H., Callahan, K.B., Hurst, J.K., (1986). Effects of the putative neutrophil-generated toxin, hypochlorous acid, on membrane permeability and transport systems of *Escherichia coli*. *Journal of Clinical Investigation*, 78, 177–184.

Al-Haq, M. I., Seo, Y., Oshita, S., Kawagoe, Y. (2001). Fungicidal effectiveness of electrolyzed oxidizing water on post-harvest brown rot of peach. *Horticultural Science*, 36, 1310–1314.

Al-Haq, M. I., Seo, Y., Oshita, S., Kawagoe, Y. (2002). Disinfection effects of electrolyzed oxidizing water on suppressing fruit rot of pear caused by *Botryosphaeria berengeriana*. *Food Research International*, 35, 657–664.

Al-Haq, M. I., Sugiyama, J., Isobe, S. (2005). Applications of electrolyzed water in agriculture & food industries. *Food Science and Technology Research*, 11(2), 135.

Altekruse, S. F., Timbo, B. B., Mowbray, J. C., Bean, N. H., Potter, M. E. (1998). Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: Sanitary manufacturing practices protect consumers. *Journal of Food Protection*. 61, 1405–1407.

Al-Holy, M. A., Rasco, B. A. (2015). The bactericidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on raw fish, chicken and beef surfaces. *Food Control*, 54, 317-321.

Ayebah, B., Hung, Y., Kim, C., Frank, J. (2006). Efficacy of electrolyzed water in the inactivation of planktonic and biofilm *Listeria monocytogenes* in the presence of organic matter. *Journal of Food Protection*, 69, 2143–2150.

Aquino, E.N. (1998). Efecto de la temperatura, composición atmosférica, geometría y variedad en la conservación de jícama mínimamente procesada. (Tesis de Maestría) Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México. pp. 50.

Artés F., Gómez P.A. (2007). Physical, physiological and microbial deterioration of minimally fresh processed fruits and vegetables. *Food Science and Technology*, 13, 177 – 188.

Barrette, W.C., Hannum, D.M., Wheeler, W.D., Hurst, J.K., (1989). General mechanism for the bacterial toxicity of hypochlorous acid: abolition of ATP production. *Biochemistry* 28, 9172-9178.

Barrett, N. J. (1986). Communicable disease associated with milk and dairy products in England and Wales: 1983-1984. *Journal of Infection*, 12, 265–272.

Bergsma, K.A., Brecht, J.K., (1992). Postharvest respiration moisture loss, sensory analysis and compositional changes, in jicama (*Pachyrhizus erosus*) roots. *Acta Horticulturae*, 318, 325–332.

Bolin, H., Huxsoll, C. (1991). Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*, 56, 416–418.

Botsoglou, N. A., Fletouris, D.J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V.N., Mantis, A.J., Trakatelliss, A.G. (1994). Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42,1931-1937.

Büla, C. J., Bille, J., Glauser, M. P. (1995). An epidemic of foodborne listeriosis in Western Switzerland: Description of 57 cases involving adults. *Clinical Infectious Diseases*, 20, 66–72.

Cappuccio, R., Full, G., Lozarich, V., O. Savonitti. (2001). Staling of roasted and ground coffee at different temperature. Combining sensory and GC analysis. Proceeding of the international Scientific Colloquium on Coffee. Trieste, Italy.

Cervantes, F., Villegas de Gante, A., Cesín, A., Espinoza, A. (2006). Los quesos mexicanos genuinos: un saber hacer que se debe rescatar y preservar. III Congreso Internacional Red SIAL. Baeza, Jaen. España. 18-21.

Chenoll, E., Macian, M.C., Elizaquivel, P., Aznar, R. (2007). Lactic acid bacteria associated with vacuum-packed cooked meat product spoilage: population analysis by r- DNA-based methods. *Journal of Applied Microbiology*, 102, 498-508.

Civille, G., Szczesniak, A. (1976). Guidelines to training a texture profile panel. *Journal of texture Studies*, 4, 204-223.

Cravero. (2004). Microorganismos patógenos y grasas oxidadas en emparedados. Disponible en: [Http://www.respyn.uanl.mx/v/4/articulos/microorganismos_patogenos.htm](http://www.respyn.uanl.mx/v/4/articulos/microorganismos_patogenos.htm).

Dalsgaard, T.K., Nielsen, J. H., Brown, B.E., Stadler, N., Davies, M.J. (2011). Dityrosine, 3,4-Dihydroxyphenylalanine (DOPA), and radical formation from tyrosine residues on milk proteins with globular and flexible structures as a result of riboflavin-mediated photo-oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 7939–7947.

Dalsgaard, T.K., Otzen, D., Nielsen, J. H., Larsen, L.B. (2007). Changes in structures of milk proteins upon photo-oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*, 55, 10968–10976.

Delves, J. (2005). Nisin as a food preservative. *Food Australia*, 57, 525,527.

Deza, M. A., Araujo, M., & Garrido, M. J. (2003). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on the surfaces of tomatoes by neutral electrolyzed water. *Letters in Applied Microbiology*, 37, 482–487.

Ding, T., Rahman, S. M. E., Purev, U., Oh, D-H. (2010). Modelling of *Escherichia coli* O157:H7 growth at various storage temperatures on beef treated with electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*, 97 497–503.

D'Aoust, J. Y. (1985). Infective dose of *Salmonella* Typhimurium in Cheddar cheese. *American Journal of Epidemiology*, 122, 717–720.

Domínguez, A., Villanueva, A., Arriaga, C.A., Espinoza, A. 2011. Alimentos artesanales y tradicionales: el queso Oaxaca como un caso de estudio en el centro de México. *Estudios sociales*, 19, 165-193.

El-Kest, S. E., E. H. Marth. (1988). Inactivation of *Listeria monocytogenes* by chlorine. *Journal of Food Protection*, 51, 520-524.

Espinal, P., E. Prieto, V., Otero, S., Máttar. (2006). Presencia del gen de invasividad invA en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de alimentos del caribe colombiano. *Revista Cubana de Salud Pública*, 32 (002), 115-120.

Esterbauer, H., Eckl, P., Ortner, A. (1990). Possible mutagens derived from lipids and lipids precursors. *Mutation Research*, 238, 223-233.

Esterbauer, H., Schaur, R. J., Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine*, 11, 81-128.

Evert-Arriagada, K., Hernández-Herrero, M. M., Juan, B., Guamis, B., Trujillo, A. J. (2012). Effect of high pressure on fresh cheese shelf-life. *Journal of Food*

Engineering, 110(2), 248–253.

Fabrizio, K.A., Cutter, C.N. (2004). Comparison of electrolyzed oxidizing water with other antimicrobial interventions to reduce pathogens on fresh pork. *Meat Science*, 68, 463-468.

Shimamura, Y., Shinke, M., Hiraishi, M., Tsuchiya, Y., Masuda, S.. (2016). The application of alkaline and acidic electrolyzed water in the sterilization of chicken breasts and beef liver. *Food Science and Nutrition*, 4(3), 431–440.

Feliciano, L., Lee, J., Lopes, J. A., Pascall, M. A. (2010). Efficacy of sanitized ice in reducing bacterial load on fish fillet and in the water collected from the melted ice. *Journal of Food Science*, 75(4), 231–8.

Fernández E, E. (1997). Manual de Curso de Microbiología Sanitaria de Agua y Alimentos. D.I.P.A. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. México.

Fernández E, E. (2008). Microbiología e inocuidad de los alimentos. 2ª edición. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro.

Frankel, E. N. (1985). Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *The Journal of Lipid Research*, 23, 197-221.

Fox, P. F., Guinee T.P., Cogan T. M., McSweeney P. L. (2000). Fundamentals of Cheese Science. Ed. Aspen Publishers, Inc. University College, Cork. Gaithersburg, Maryland.

García, B. (2006). Caracterización fisicoquímica de diversos tipos de quesos elaborados en el valle de Tulancingo, Hgo. con el fin de proponer normas de calidad. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 111pp.

Ge, L., Zhang, X., Cao, C., Gu, Z., Liu, Z., Liu, L., Lin, B. (2012). Feasibility study of the sterilization of pigskin used as wound dressings by neutral electrolyzed water. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 72 (6), 1584-1587.

Graça, A., Abadías, M., Salazar, M., Nunes, C. (2011). The use of electrolyzed

water as a disinfectant for minimally processed apples. *Postharvest Biology and Technology*, 61, 172–177.

Gray, J. I. (1978) Measurement of Lipid Oxidation: A Review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 55, 539-546.

Gómez-López, V. M., Ragaert, P., Ryckeboer, J., Jeyachandran, V., Debevere, J., Devlieghere, F. (2007). Shelf-life of minimally processed cabbage treated with neutral electrolysed oxidising water and stored under equilibrium modified atmosphere. *International Journal of Food Microbiology*, 117 (1), 91–8.

Gould, L. H., Mungai, E., Behravesh, B. (2014). Outbreaks attributed to cheese: differences between outbreaks caused by unpasteurized and pasteurized dairy products, United States, 1998–2011. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11 (7), 545–551.

Guentzel, J. L., Lam, K. L., Callan, M. A., Emmons, S. A., Dunham, V. L. (2010). Postharvest management of gray mold and brown rot on surfaces of peaches and grapes using electrolyzed oxidizing water. *International Journal of Food Microbiology*, 143 (1-2), 54–60.

Hao, J., Liu, H., Liu, R., Dalai, W., Zhao, R., Chen, T., Li, L. (2011). efficacy of slightly acidic electrolyzed water (SAEW) for reducing microbial contamination on fresh-cut cilantro. *Journal of Food Safety*, 31 (1), 28–34.

Hedberg, C. W., Korlath, J. A., D'Aoust, J. Y., White, K. E., Schell, W. L., Miller, M. R. (1992). A multistate outbreak of *Salmonella* Javiana and *Salmonella* Oranienburg infections due to consumption of contaminated cheese. *Journal of the American Medical Association*, 268, 3203–3207.

Hernández-Raya, J. C., Martínez-Soto, G., Mercado-Flores, J., Alcántara-González, M. L., Irapuato, G. (2005). Evaluación de rendimientos y costos de fabricación en: queso asadero, oaxaca y yoghurt a nivel industrial. VII Congreso nacional de ciencia de alimentos y VII foro nacional de ciencia y tecnología de alimentos. Guanajuato, Gto. México.

Hinton, A., Northcutt, J. ., Smith, D. P., M.T., M., K.D., I. (2007). Spoilage Microflora

of Broiler Carcasses washed with electrolyzed oxidizing or chlorinated water using an inside-outside bird washer. *Poultry Science*, 86 (1), 123–127.

Hleap, J. I., Velasco V. A. (2010). Análisis de las propiedades de textura durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de Tilapia roja (*Oreochromis* spp.). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 8 (2).

Hsu, S. Y. (2005). Effects of flow rate, temperature and salt concentration on chemical and physical properties of electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*, 66, 171–176.

Huang, Y.-R., Hung, Y.-C., Hsu, S.-Y., Huang, Y.-W., Hwang, D.-F. (2008). Application of electrolyzed water in the food industry. *Food Control*, 19(4), 329–345.

Huchot, B., Bohnert, M., Cerf, O., Farrokh, C., & Lahellec, C. (1993). Does cheese made of raw milk represent a public health problem? A review of international epidemiological data. *Brussels, Belgium: International Dairy Federation*, 48.

Hung, Y.-C., Bailly, D., Kim, C., Zhao, Y., & Wang, X. (2010). Effect of electrolyzed oxidizing water and chlorinated water treatments on strawberry and broccoli quality. *Journal of Food Quality*, 33 (5), 578–598.

Hurst, J.K., Barrette Jr., W.C., Michel, B.R., Rosen, H., (1991). Hypochlorous acid and myeloperoxidase-catalyzed oxidation of iron sulfur clusters in bacterial respiratory dehydrogenase. *European Journal of Biochemistry*, 202, 1275-1282.

Iseki, M., Takaoka, T., Kondo, Y., Ikematsu, M., Rakuma, T. and Takizawa, K. (2002). The sterilization system of water with electrolysis technology. *0 th Seminar Soc. Study Water*. pp. 5-10.

Izumi, H. (1999). Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. *Journal of Food Science*, 64 (3), 536–539.

Izumi, H. (2000). Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. *Journal of Food Science*, 64 (3), 536–539.

Jacquet, C., Saint-Cloment, C., Brouille, F., Catimel, B., Rocourt, J. (1998). La

listeriose humaine en France en 1997, données du Centre National de Référence des F. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 33, 142–143.

Jeong, J.-W., Kim, J.-H., Kwon, K.-H., Park, K.-J. (2006). Disinfection effects of electrolyzed water on strawberry and quality changes during storage. *Korean Journal of Food Preservation*, 13 (3), 316-321.

Jeong, S.-W., Jeong, J.-W., Lee, S.-H., Park, N. H. (1999). Changes in quality of crown daisy and kale washed with cooled electrolyzed acid water during storage. *Korean Journal Postharvest Science Technology*, 6 (4), 417–423.

Jung, Yangjin; Gao, Jingwen; Jang, Hyein. (2017). Sanitizer efficacy in preventing cross-contamination during retail preparation of whole and fresh-cut cantaloupe. *Food Control*. 228-235.

Kallinteri, L. D., Kostoula, O. K., Savva, I. N. (2013). Efficacy of nisin and/or natamycin to improve the shelf-life of Galotyri cheese. *Food Microbiology*, 36 (2), 176–181.

Kakimoto, K., Hayashi, K., Nakano, T., Sano, K., Simokawa, T., Nakai, M. (1997). Effect of electrolytic products of sodium chloride on HIV-1 infectivity and HBs immunoreactivity. *Environmental Infections*, 12, 1–4.

Kim, C., Hung, Y.-C., Brackett, R. E. (2000). Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 61 (2), 199–207.

Kim, C., Hung, Y. C., Brachett, R. E. (2000). Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of food-borne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 61, 199–207.

Kim, M. H., Jeong, J. W., Cho, Y. J. (2004). Cleaning and storage effect of electrolyzed water manufactured by various electrolytic diaphragm. *Korean Journal of Food Preservation*, 11 (2), 160–169.

Koide, S., Shitanda, D., Note, M., Cao, W. (2011). Effects of mildly heated, slightly acidic electrolyzed water on the disinfection and physicochemical properties of

sliced carrot. *Food Control*, 452-456.

Koseki, S., Itoh, K. (2001). Prediction of microbial growth in fresh-cut vegetables treated with acidic electrolyzed water during storage under various temperature conditions. *Journal of Food Protection*, 64, 1935–1942.

Kousta, M., Mataragas, M., Skandamis, P., Drosinos, E. H. (2010). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, 21 (6), 805–815.

Kramer, A., B. Twigg. (1968). Measure of frozen food quality and quality changes. In *The freezing preservation of foods*, 4th Ed., Vol. 2, ed. D.K. Tressler. Westport.

Lampel, K. A. 2012. Bad Bug Book: foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook. *Salmonella* spp. 2^a Edition. Food Drug Administration, 12-16.

Lee, H.-J., Park, H.-J., Jeong, J.-W., Kim, D. Chinnan, M. S. (2007). Effect of electrolyzed water treatments on the quality of hand- and machine-peeled yams (*Dioscorea* spp.) during cold storage. *Food Science and Technology*, 40 (4), 646–654.

Len, S. V., Hung, Y. C., Erickson, M., Kim, C. (2000). Ultraviolet spectrophotometric characterization and bactericidal properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH. *Journal of Food Protection*, 63, 1534–1537.

Lee, N., Kim, N. H., Jang, I. S. (2014). Decontamination efficacy of neutral electrolyzed water to eliminate indigenous flora on a large-scale of cabbage and carrot both in the laboratory and on a real processing line. *Food Research International*, 64, 234-240.

Len, S. V., Hung, Y. C., Chung, D. (2002). Effects of storage conditions and pH on chlorine loss on electrolyzed oxidizing (EO) water. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 209–212.

Leyer, G.J., Johnson, E.A., (1997). Acid adaptation sensitizes *Salmonella* Typhimurium to hypochlorous acid. *Applied and Environmental Microbiology*, 63,

461–467.

Linnan, M. J., Mascola, L., Lou, X. D., Goulet, V., May, S., Salminen, C., (1988). Epidemic listeriosis associated with Mexican-style cheese. *The New England Journal of Medicine*, 319, 823–828.

Liu, R., He, X., Shi, J., Nirasawa, S., Tatsumi, E., Li, L., Liu, H. (2013). The effect of electrolyzed water on decontamination, germination and γ -aminobutyric acid accumulation of brown rice. *Food Control*, 33 (1), 1–5.

Loi Braden, M. H., Huang, T. S., Jang-H, K., Wei, C.-I., Weese, J. (2005). Use of Electrolyzed Oxidizing Water for quality improvement of frozen shrimp. *Journal of Food Science*, 70 (6), 310–315.

Lund, M.N., Heinonen, M. Baron, C.P., Estévez, M. (2011). Protein oxidation in muscle foods: A review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, 83-95.

Mahmoud, B. S. M., Yamazaki, K., Miyashita, K., Il-Shik, S., Dong-Suk, C., Suzuki, T. (2004). Decontamination effect of electrolysed NaCl solutions on carp. *Letters in Applied Microbiology*, 39 (2), 169–73.

Marriott, N. G., Gravani, R. B. (2006). Principles of food sanitation. 5th ed. New York: Springer.

Mehmet, S. A. (2016). Application of electrolyzed water for improving postharvest quality of mushroom. *Food Science and Technology*, 68, 44-51.

Mercado, E., Amador, L. Aquino, E.N. (2006). Efecto de la relación área/volumen y tratamientos térmicos ligeros en la calidad de jícama mínimamente procesada. I simpósio ibero-americano de vegetais frescos cortados, San Pedro, SP Brazil. p. 75-81.

Mercado, E. Cantwell, M., (1998). Quality changes in jicama roots stored at chilling and nonchilling temperatures. *Journal of Food Quality*, 21, 211–221.

Melton, S. L. (1983). Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology*, 37, 105-116.

Mikš-Krajnik, M., Yoon, Y-J, Ukuku, D.O., Yuk, H-G. (2016). Identification and quantification of volatile chemical spoilage indexes associated with bacterial growth dynamics in aerobically stored chicken. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 2006-2014.

Morita, C., Sano, K., Morimatsu, S., Kiura, H., Goto, T., Kohno, T., (2000). Disinfection potential of electrolyzed solutions containing sodium chloride at low concentrations. *Journal of Virological Methods*, 85, 163–174.

Mori, Y., Komatsu, S., Hata, Y. (1997). Toxicity of electrolyzed strong acid aqueous solution-subacute toxicity test and effect on oral tissue in rats. *Odontology*, 84, 619–626.

Nakano, Y., Akamatsu, N., Mori, T., Sano, K., Satoh, K., Nagayasu, T. (2016). Sequential Washing with Electrolyzed Alkaline and Acidic Water Effectively Removes Pathogens from Metal Surfaces. *PLoS ONE*, 11 (5), e0156058.

Navarro, Javier., Artes, F., Gómez, P. A. (2014). Neutral and acidic electrolysed water kept microbial quality and health promoting compounds of fresh-cut broccoli throughout shelf life. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 74-81.

Nimiteatkai, H., Kim, J. G. (2009). Washing efficiency of acidic electrolyzed water on microbial reduction and quality of Fuji Apples. *Korean Journal of Horticultural Science Technology*, 27 (2), 250– 255.

NOM-243-SSA1-2010. Norma Oficial Mexicana. Productos y servicios. Leche, Fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

NOM-121-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Orozco, L. (1999). Algunos factores que afectan la inocuidad microbiana del queso Oaxaca durante su elaboración y almacenamiento. Universidad Autónoma de Querétaro.

Okull, D. ., Laborde, L. F. (2004). Activity of Electrolyzed Oxidizing Water Against

Penicillium expansum in Suspension and on wounded apples. *Journal of Food Science*, 69 (1), 23–27.

Okull, D. O., Demirci, A., Rosenberger, D., LaBorde, L. F. (2006). Susceptibility of *Penicillium expansum* spores to sodium hypochlorite, electrolyzed oxidizing water, and chlorine dioxide solutions modified with nonionic surfactants. *Journal of Food Protection*, 69 (8), 1944–8.

Osafune, T., Ehara, T., Ito, T. (2006). Electron microscopic studies on bactericidal effects of electrolyzed acidic water on bacteria derived from kendo protective equipment. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 11, 206–214.

Park, H., Hung, Y.-C., Brackett, R. E. (2002). Antimicrobial effect of electrolyzed water for inactivating *Campylobacter jejuni* during poultry washing. *International Journal of Food Microbiology*, 72 (1), 77–83.

Park, K., Jeong, J., Lim, J., Kim, B. (2008). Quality changes in peeled lotus roots immersed in electrolyzed water prior to wrap- and vacuum-packaging. *Korean Journal of Food Preservation*, 15 (5), 622–629.

Park, K.-J., Jeong, J.-W., Kim, D.-S., Jeong, S.-W. (2007). Quality changes of peeled potato and sweet potato stored in various immersed liquids. *Korean Journal of Food Preservation*, 14(1), 8–17.

Pitt, J. I., Hocking, A. D. (2009). *Fungi and Food Spoilage*. Boston, MA: Springer US.

Queiroga, R.C.R.E., Santos, B. M., Gomes, M. P., Monteiro, M. J., Teixeira, S. M., de Souza, E.L. Pereira, C.J.D., Pintado, M.M.E. (2013). Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats, cows milk and their mixture. *LWT- Food Science and Technology - Journal*, 50, 538-544

Rahman, S. M. E., Jin, Y.-G., Oh, D.-H. (2011). Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf-life and sensory quality of shredded carrots. *Food Microbiology*, 28 (3), 484–91.

Rahman, S. M. E., Park, J., Song, K. Bin, Al-Harbi, N. A., Oh, D.-H. (2012). Effects

of slightly acidic low concentration electrolyzed water on microbiological, physicochemical, and sensory quality of fresh chicken breast meat. *Journal of Food Science*, 77 (1), M35–41.

Rahman, S. M. E., Wang, J., Oh, D.-H. (2013). Synergistic effect of low concentration electrolyzed water and calcium lactate to ensure microbial safety, shelf life and sensory quality of fresh pork. *Food Control*, 30 (1), 176–183.

Ramírez S., Vélez J. F. (2012). Queso Oaxaca: Panorama del proceso de elaboración, características fisicoquímicas y estudios recientes de un queso típico mexicano. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6 (1), 1-12.

Rico, D., Martín, A. B., Barry, C., Frías, J. M., Henehan, G. T. M., Barat, J. M. (2008). Use of neutral electrolysed water (EW) for quality maintenance and shelf-life extension of minimally processed lettuce. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9 (1), 37–48.

Rivera, C.R., Mercado, E. (2015). Optimización del proceso de conservación de jícama mínimamente procesada por envasado en atmósferas modificadas (MAP). (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Querétaro.

SAGARPA-SIAP. (2015) Boletín de Leche. http://www.siap.gob.mx/wp-content/uploads/boletinleche/boletinlechenero-marzo_2015.pdf. Consultada el 13 de Mayo del 2015.

SAGARPA-SIAP. 2016. Panorama de la lechería en México. http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2016.pdf Consultada el 17 de Abril del 2017.

Santo, D., Graca, A., Nunes, C. (2016) Survival and growth of *Cronobacter sakazakii* on fresh-cut fruit and the effect of UV-C illumination and electrolyzed water in the reduction of its population. *International Journal Of Food Microbiology*, 10-15.

Saengkrajang, W., Samaae, P., Kunnika, P., Matan, N. (2011). Electrolyzed water as an antibacterial agent for washing fresh chicken meat. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 4 (05), 342–348.

SIAP. (2012). Producción de jícama por estado con datos de 2010. SAGARPA. En línea:http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=351.

Shivashankara, K. S., Isobe, S., Al-Haq, M. I., Takenaka, M., Shiina, T. (2004). Fruit antioxidant activity, ascorbic acid, total phenol, quercetin, and carotene of Irwin mango fruits stored at low temperature after high electric field pretreatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (5), 1281–6.

Sorensen, M. (1990). Observations on distribution, ecology and cultivation of the tubering legume genus *Pachyrhizus*. Rich. ex DC. Agricultural University Wageningen, Netherlands. p. 1-38.

SSA, (1994). NOM-121-SSA1-1994. Bienes y servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias.

Tan, S. Y., Miks-Krajnik, M., Neo, S. Yu., (2015). Effectiveness of various sanitizer treatments for inactivating natural microflora and *Salmonella* spp. on turnip (*Pachyrhizus erosus*). *Food Control*, 216-224.

Tanaka, N., Fujisawa, T., Daimon, T., Fujiwara, K., Tanaka, N., Yamamoto, M. (1999). The effect of electrolyzed strong acid aqueous solution on hemodialysis equipment. *Artificial Organs*, 23, 1055–1062.

Tomás, A., Martínez, G. B., Artés, F., Artés, F. (2011). Neutral and acidic electrolyzed water as emergent sanitizers for fresh-cut mizuna baby leaves. *Postharvest Biology and Technology*, 59 (3), 298–306.

Udompijitkul, P., Daeschel, M. a, Zhao, Y. (2007). Antimicrobial effect of electrolyzed oxidizing water against *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on fresh strawberries (*Fragaria x ananassa*). *Journal of Food Science*, 72(9), 397–406.

USFDA (United States Food and Drug Administration) (2001) Analysis and evaluation of preventive control measures for the control and reduction/elimination of microbial hazards on fresh and fresh-cut produce. Report of the Institute of Food Technologists. IFT/FDA Contract No. 3.

Vaillant, V., Maillot, E., Charley, C., Stainer, F. (1998). Epidémie de listeriose, France, avril-août 1995. Saint-Maurice, France: Institut de Veille Sanitaire. pp. 58.

Villegas de Gante, A. (2004). Dos famosos quesos de pasta hilada: el Oaxaca y el Mozzarella. *Carnilac Industrial*, 21–31.

Walker, S. P., Demirci, A., Graves, R. E., Spencer, S. B., Roberts, R. F. (2005). CIP cleaning of a pipeline milking system using electrolyzed oxidizing water. *International Journal of Dairy Technology*, 58, 65–73.

Wang, H., Feng, H., Luo, Y. (2004). Microbial reduction and storage quality of fresh-cut cilantro washed with acidic electrolyzed water and aqueous ozone. *Food Research International*, 37 (10), 949–956.

Whangchai, K., Saengnil, K., Singkamanee, C., Uthaibutra, J. (2010). Effect of electrolyzed oxidizing water and continuous ozone exposure on the control of *Penicillium digitatum* on tangerine cv. “Sai Nam Pung” during storage. *Crop Protection*, 29 (4), 386–389.

White, G. C. (1999). Chemistry of chlorination, p. 212–287. In *Handbook of chlorination and alternative disinfectants*, 4th ed. John Wiley and Sons, New York.

Wong, W. S. (1989). Lipids. In *mechanism and theory in food chemistry*; Van Nostrand Reinhold: New York,; pp7-44.

Zhang, C., Cao, W., Hung, Y. (2016). Application of electrolyzed oxidizing water in production of radish sprouts to reduce natural microbiota. *Food Control*, 177-182.

Zhou, R., Liu, Y., Xie, J., Wang, X. (2011). Effects of combined treatment of electrolysed water and chitosan on the quality attributes and myofibril degradation in farmed obscure puffer fish (*Takifugu obscurus*) during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 129 (4), 1660–1666.

ANEXO 1

Titulación de cloro disponible (Greenberg *et al.*, 1992).

1. Adicionar 10 ml de la muestra a valorar en un matraz Erlenmeyer.
2. Agregar 400 µl de yoduro de potasio (10% p/v) y 1 µl de ácido acético glacial, agitar para mezclar completamente todas las soluciones.
3. Titular con una solución valorada de tiosulfato de sodio 0.01 N hasta la aparición de un color amarillo paja.
4. Adicionar 0.4 ml de una solución de almidón al 0.5% y mezclar completamente.
5. Seguir titulando con una solución valorada de tiosulfato de sodio 0.01 N hasta la desaparición del color azul.
6. Registrar el volumen total de tiosulfato de sodio 0.01 N utilizado para la valoración.
7. Determinar la concentración de cloro disponible en la muestra mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Cloro disponible} = \frac{V_1 \times N_1 \times 3.55 \times 10^4}{m}$$

V_1 : Volumen total de tiosulfato de sodio consumido en la titulación (ml).

N_1 : Normalidad del tiosulfato de sodio.

m: cantidad de muestra.