



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

“INACTIVACIÓN DE *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enterica* en FRESAS  
MEDIANTE LA APLICACIÓN DE CALENTAMIENTO ÓHMICO”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
**Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

PRESENTA

Q.F.B. Abigail Ponce Navarro

DIRIGIDO POR

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga

Querétaro, Qro. 2022



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales  
de Información



Inactivación de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*  
enterica en fresas mediante la aplicación de  
calentamiento óhmico

**por**

Abigail Ponce Navarro

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons  
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0  
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**Clave RI:** FQMAC-290740



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO FACULTAD DE  
QUÍMICA  
MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

“INACTIVACIÓN DE *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enterica* en FRESAS  
MEDIANTE LA APLICACIÓN DE CALENTAMIENTO ÓHMICO”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de  
**Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Presenta

Q.F.B. Abigail Ponce Navarro

Dirigido por:

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga

Presidente

\_\_\_\_\_

Firma

Dr. Eduardo Morales Sánchez

Secretario

\_\_\_\_\_

Firma

Dra. Marcela Gaytán Martínez

Vocal

\_\_\_\_\_

Firma

Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar

Suplente

\_\_\_\_\_

Firma

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz

Suplente

\_\_\_\_\_

Firma

\_\_\_\_\_

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano  
Directora de la Facultad

\_\_\_\_\_

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

## DEDICATORIA

*A mi familia por su apoyo y amor incondicional, especialmente a mi mamá y hermano.*

*Al Dr. Fausto Tejeda por ayudarme a encontrar mi pasión profesional.*

*A mis pequeños Hannami y Haruki.*

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi mamá Emma y mi hermano Daniel por su ayuda y apoyo incondicional en todos los aspectos de mi vida, gracias por confiar y creer en mí, los amo.**

**A mi familia Navarro por sus palabras de aliento, especialmente a mi tía Carmen.**

**A mis amigos por su ayuda en mi proyecto y en los momentos personales. Jaqueline, mi amiga y hermana, gracias por tu compañía en todos los momentos de crisis y locuras que pasamos en estos años. Rebeca, mi amiga y confidente, gracias por todos tus consejos. Paola, por siempre tenderme una mano cuando lo necesitaba y ayudarme a mantener la calma. Alexis, gracias por tu apoyo y ayuda incondicional, por cuidarme y acompañarme siempre.**

**A la señora Martha, Paula, Lalo y Angelica por ayudarme y compartir conmigo consejos y palabras de aliento durante mi tiempo en el laboratorio.**

**A la Dra. Montserrat por sus enseñanzas y consejos durante este proceso. A mis sinodales, por sus aportaciones a este proyecto, con especial cariño al Dr. Ramón Peniche por su contribuciones y consejos profesionales y de vida y a Carmelita por su paciencia y guía.**

**Al CONACYT por el apoyo económico para poder realizar esta investigación y a la Universidad Autónoma de Querétaro por las facilidades brindadas.**

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras.

Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

## RESUMEN

El consumo de fresas frescas y su participación en brotes de enfermedades exponen la necesidad de tratamientos efectivos de descontaminación que mantengan las características propias del alimento. El calentamiento óhmico (CO) es una alternativa poco explorada. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del CO en la inactivación de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enterica* en fresas. Se colectaron muestras de fresas de invernadero (40) y en un mercado de la ciudad de Querétaro (30). Se realizó la cuantificación de bacterias mesófilas aerobias, levaduras, hongos, coliformes totales, fecales y *Escherichia coli*, la detección de *L. monocytogenes* y *S. enterica* y se evaluaron sus características físicas y químicas (color, sólidos solubles totales, pH, acidez total titulable y firmeza). Se les aplicaron diferentes condiciones de CO y se seleccionó el tratamiento que tuvo el menor efecto en sus características. El tratamiento (60 °C a 250 V/ 2 min) se aplicó a fresas inoculadas (8 Log UFC g<sup>-1</sup>) con *L. monocytogenes* y *S. enterica* y se determinó la reducción de sus poblaciones y su efecto en la vida de anaquel. De igual forma se evaluó la inactivación de los microorganismos y las características físicas y químicas después de la aplicación de CO combinado con deshidratación con aire caliente (50 °C/ 7 h). Las fresas del mercado mostraron medianas poblacionales altas de levaduras (6.85 Log UFC g<sup>-1</sup>), coliformes totales, fecales y *E. coli* (1.10, 0.86 y 0.55 Log NMP g<sup>-1</sup>, respectivamente), en las fresas de invernadero, el contenido de hongos y BMA fue de 5.69 y 6.43 Log UFC g<sup>-1</sup>, respectivamente. La prevalencia de *S. enterica* en fresas del mercado y del invernadero fue de 56.6 % y 20 %, respectivamente. *L. monocytogenes* solo se detectó en 12.5 % de las muestras del invernadero. El tratamiento de CO seleccionado logró reducciones de 4 Log UFC g<sup>-1</sup>, sin embargo, las afectaciones al fruto fueron notorias durante su almacenamiento. La combinación de CO y deshidratación redujo más de 5 Log UFC g<sup>-1</sup> las poblaciones de patógenos. La aplicación del CO podría usarse como una medida efectiva para descontaminar fresas cuyo consumo sea inmediato.

**Palabras clave:** descontaminación, inocuidad alimentaria, tecnologías emergentes.

## ABSTRACT

The consumption of fresh strawberries and their participation in disease outbreaks expose the need for effective decontamination treatments that maintain the characteristics of the food. Ohmic heating (OH) is a little explored alternative. The objective of this work was to evaluate the effect of OH on the inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in strawberries. Samples of greenhouse strawberries (40) and in a market in the city of Querétaro (30) were collected. The quantification of aerobic mesophilic bacteria, yeasts, fungi, total and fecal coliforms, and *Escherichia coli*, the detection of *L. monocytogenes* and *S. enterica*, and their physical and chemical characteristics (color, total soluble solids, pH, total acidity titratable and firmness). Different OH conditions were applied to them and the treatment that had the least effect on their characteristics was selected. The treatment (60 °C at 250 V/ 2 min) was applied to strawberries inoculated (8 Log CFU g<sup>-1</sup>) with *L. monocytogenes* and *S. enterica* and the reduction of their populations and its effect on shelf life were determined. In the same way, the inactivation of microorganisms and the physical and chemical characteristics were evaluated after the application of OH combined with dehydration with hot air (50 °C/ 7 h). Market strawberries showed high population medians of yeasts (6.85 Log CFU g<sup>-1</sup>), total and fecal coliforms and *E. coli* (1.10, 0.86 and 0.55 Log NMP g<sup>-1</sup>, respectively), in greenhouse strawberries, the content of fungi and BMA was 5.69 and 6.43 Log CFU g<sup>-1</sup>, respectively. The prevalence of *S. enterica* in strawberries from the market and from the greenhouse was 56.6 % and 20 %, respectively. *L. monocytogenes* was only detected in 12.5% of greenhouse samples. The selected OH treatment achieved reductions of 4 Log CFU g<sup>-1</sup>, however, the effects on the fruit were noticeable during storage. The combination of OH and dehydration reduced pathogen populations by more than 5 Log CFU g<sup>-1</sup>. The application of OH could be used as an effective measure to decontaminate strawberries whose consumption is immediate.

**Keywords:** decontamination, food safety, new technologies



## ÍNDICE

RESUMEN.....	i
ÍNDICE DE TABLAS.....	ii
INDICE DE FIGURAS.....	iii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
II. 1 Productos mínimamente procesados.....	3
II. 1.1 Frutas mínimamente procesadas.....	3
II. 2 Frutillas.....	4
II. 2.1 Fresa.....	4
II. 3 Producción y comercialización de fresas en México.....	7
II.4 Microbiota de las fresas.....	8
II. 4.1 Generalidades.....	8
II. 4.2 Principales patógenos de humanos asociados a fresas.....	10
II. 4.3 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	15
II. 4.4 <i>Salmonella enterica</i> .....	18
II. 5 Descontaminación de frutillas.....	21
II. 5.1 Desinfección química.....	21
II. 5.2 Tecnologías emergentes.....	22
III. JUSTIFICACIÓN.....	28
IV. OBJETIVOS.....	29
IV. 1 Objetivo general.....	29
IV. 2 Objetivos específicos.....	29
V. MATERIALES.....	30
V. 1 Equipos.....	30
V. 2 Reactivos.....	31
V. 3 Medios de Cultivo.....	32
V. 4 Material biológico.....	33
V. 4.1 Cepas.....	33

VI. METODOLOGÍA .....	34
VI. 1 Calidad microbiológica de las fresas .....	34
VI. 1.1 Muestreo.....	34
VI. 1.2 Preparación de las muestras.....	34
VI. 1.3 Cuantificación de microorganismos indicadores.....	34
VI. 1.4 Detección de <i>L. monocytogenes</i> .....	35
VI. 1.4 Detección de <i>S. enterica</i> .....	36
VI. 2 Caracterización física y química de fresas .....	37
VI. 2.1 Selección de las muestras .....	37
VI. 2.2 Color.....	38
VI. 2.3 Firmeza.....	39
VI. 2.4 Sólidos solubles totales.....	39
VI. 2.5 Acidez total titulable (ATT) .....	39
VI. 2.6 Fenoles totales (FT).....	40
VI. 3 Optimización de los tratamientos de descontaminación con calentamiento óhmico .....	41
VI. 3.1 Fresas .....	41
VI. 3.2 Condiciones del tratamiento de calentamiento óhmico .....	41
VI. 4 Efecto del calentamiento óhmico sobre la inactivación de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> en fresas.....	42
VI. 4.1 Obtención y preparación de las fresas .....	42
VI. 4.2 Preparación del inóculo .....	42
VI. 4.3 Inoculación de las muestras.....	43
VI. 4.4 Aplicación de calentamiento óhmico .....	43
VI. 4.5 Cuantificación de microorganismos sobrevivientes .....	44
VI. 5 Evaluación del efecto de la aplicación de calentamiento óhmico en la vida de anaquel de las fresas.....	44
VI. 6 Efecto combinado de calentamiento óhmico y deshidratación en fresa .....	45
VI. 6.1 Condiciones de deshidratación.....	45
VI. 6.2 Efecto combinado de calentamiento óhmico y deshidratación sobre la inactivación de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> .....	46
VI. 7 Métodos estadísticos .....	46
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	47

VII.1 Caracterización microbiológica de fresa fresca .....	47
VII. 2 Prevalencia de microorganismos patógenos.....	52
VII.3 Caracterización física y química de fresa fresca .....	55
VII. 4 Optimización del tratamiento de descontaminación .....	56
VII. 4 Efecto del calentamiento óhmico sobre la inactivación de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> en fresas.....	57
VII. 5 Efecto de la aplicación de calentamiento óhmico en la vida de anaquel de fresas frescas	63
VII. 6 Deshidratación de fresas tratadas con calentamiento óhmico .....	69
VII. 6.1 Inactivación de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> en fresas tratadas con calentamiento óhmico y deshidratadas .....	74
VIII. CONCLUSIONES.....	78
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	79

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Composición nutricional de fresa fresca.	<b>6</b>
<b>2</b>	Principales estados de México productores de fresas en 2019.	<b>7</b>
<b>3</b>	Microorganismos presentes en fresas.	<b>9</b>
<b>4</b>	Patógenos comúnmente asociados a frutillas.	<b>11</b>
<b>5</b>	Brotos de enfermedades bacterianas asociadas al consumo de frutillas.	<b>14</b>
<b>6</b>	Condiciones para el crecimiento y supervivencia de <i>L. monocytogenes</i> .	<b>16</b>
<b>7</b>	Parámetros de crecimiento de <i>Salmonella</i> spp.	<b>19</b>
<b>8</b>	Umbral de tolerancia de $\Delta E$ según la ISO12647-2.	<b>38</b>
<b>9</b>	Microorganismos indicadores presentes en fresa fresca colectada en invernadero y mercado.	<b>47</b>
<b>10</b>	Prevalencia de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> en fresa fresca colectada en invernadero y mercado.	<b>52</b>
<b>11</b>	Presencia o ausencia de <i>S. enterica</i> y <i>E. coli</i> en fresas en invernadero y mercado	<b>53</b>
<b>12</b>	Características físicas y químicas de fresa fresca variedad Albión.	<b>55</b>
<b>13</b>	Efecto del calentamiento óhmico en las características físicas y químicas de fresa tratada con 120 V	<b>56</b>
<b>14</b>	Efecto del calentamiento óhmico en las características físicas y químicas en fresa tratada a 60 °C con diferentes voltajes y tiempos.	<b>59</b>
<b>15</b>	Población sobreviviente de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> en fresa fresca tratada con calentamiento óhmico.	<b>62</b>
<b>16</b>	Efecto del calentamiento óhmico sobre las coordenadas de color de fresa almacenada a 4 °C.	<b>66</b>
<b>17</b>	Contenido de mesófilos aerobios, mohos y levaduras en fresa tratada con calentamiento óhmico y almacenada a 4 °C.	<b>69</b>
<b>18</b>	Efecto de la combinación de calentamiento óhmico y deshidratación con aire caliente en las características físicas y química en fresa fresca.	<b>70</b>
<b>19</b>	Efecto de la combinación de calentamiento óhmico y deshidratación con aire caliente en el color interno de fresa (corte transversal).	<b>74</b>
<b>20</b>	Contenido de mesófilos aerobios, hongos y levaduras en fresa tratada con calentamiento óhmico y deshidratación y almacenada a 25 °C.	<b>73</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Tabla</b>		<b>Página</b>
<b>1</b>	Clasificación de niveles de madurez de fresa de acuerdo a su color	<b>37</b>
<b>2</b>	Diagrama esquemático del equipo de calentamiento óhmico utilizado.	<b>42</b>
<b>3</b>	Celda de acrílico de 10 x 10 x 10 cm utilizada.	<b>44</b>
<b>4</b>	Contenido de hongos en fresa fresca en función del sitio de muestreo.	<b>49</b>
<b>5</b>	Moho presente en fresa fresca proveniente del invernadero.	<b>50</b>
<b>6</b>	Contenido de coliformes totales, fecales y <i>E. coli</i> en fresas de A) invernadero y b) mercado.	<b>51</b>
<b>7</b>	Fresas tratadas con 120 V a diferentes temperaturas.	<b>57</b>
<b>8</b>	Reducción de poblaciones de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> por la aplicación de calentamiento convencional en fresa fresca.	<b>58</b>
<b>9</b>	Fresas tratadas a diferentes temperaturas sin voltaje.	<b>59</b>
<b>10</b>	Fresas tratadas a 60 °C con diferentes voltajes y tiempos.	<b>61</b>
<b>11</b>	Reducción de poblaciones de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> en fresa tratada con calentamiento óhmico.	<b>63</b>
<b>12</b>	Efecto del calentamiento óhmico en las características de calidad de fresa almacenada a 4 °C.	<b>64</b>
<b>13</b>	Fresas almacenadas a 4 °C durante 4 días.	<b>65</b>
<b>14</b>	Efecto del calentamiento óhmico sobre la diferencia total de color ( $\Delta E$ ) en fresa almacenada a 4 °C.	<b>67</b>
<b>15</b>	Fresas tratadas con calentamiento óhmico y almacenadas a 4 °C durante 8 días.	<b>68</b>
<b>16</b>	Microbiota nativa de mohos y levaduras en fresas tratadas almacenadas a 4 °C durante 8 días.	<b>69</b>
<b>17</b>	Curva de deshidratación con aire caliente en rebanadas de fresa tratadas con calentamiento óhmico.	<b>68</b>
<b>18</b>	Láminas de fresa tratadas con calentamiento óhmico y deshidratadas con aire caliente.	<b>72</b>
<b>19</b>	Cinética de deshidratación con aire caliente (50 °C) de láminas de fresa tratadas con calentamiento óhmico.	<b>73</b>
<b>20</b>	Cambios en el contenido de fenoles totales en fresas sin tratamiento (FST), fresas con calentamiento óhmico solo (FCO) y fresas con calentamiento óhmico y deshidratación con aire caliente (FDS).	<b>75</b>
<b>21</b>	Reducción de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enterica</i> en fresa fresca inoculada (FS) por la aplicación de calentamiento óhmico (FCO) y calentamiento óhmico y deshidratación (FDS).	<b>77</b>

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la población mundial muestra la tendencia al consumo de productos hortofrutícolas frescos debido al conocimiento sobre sus beneficios a la salud; sin embargo, el apresurado estilo de vida requiere que estos productos se encuentren listos para su consumo. Estos son productos que han sido mínimamente procesados y que no requieren preparación previa a su consumo. Cuando se trata de productos hortofrutícolas mínimamente procesados, las frutas generalmente son lavadas, peladas o cortadas y envasadas (Rico *et al.*, 2007).

Desafortunadamente los frutos mínimamente procesados como la papaya, pepino, mango, melón tomate y fresas han estado relacionados con brotes de enfermedades asociados a su consumo, siendo *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7 los principales agentes causales. Es importante señalar que la contaminación con microorganismos patógenos a humanos puede ocurrir en cualquier punto durante el procesamiento de los alimentos (CDC, 2017).

En el caso particular de las fresas, éstas presentan componentes bioactivos que son benéficos a la salud, una alta cantidad de ácido ascórbico (vitamina C) y antioxidantes como los compuestos fenólicos, entre otros, además de ser fuente de fibra y bajo contenido de calorías. En los últimos años, México ha experimentado un aumento en la producción de fresas, pasando de 360,000 toneladas en 2012 a 861,000 toneladas de producción para el año 2019 (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020; Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero, 2021)

Si bien el pH de las fresas (< 4.6) puede ser una limitante para la sobrevivencia y desarrollo de microorganismos patógenos como *L. monocytogenes* y *S. enterica*, éstas no se encuentran exentas de una posible contaminación (Viñas *et al.*, 2020);

por lo tanto, se hace necesaria la búsqueda de tratamientos de descontaminación efectiva (reducción de 5 Log UFC) que garanticen la preservación de la calidad física y nutricional de estos productos.

La estrategia común para el control de microorganismos patógenos en frutos mínimamente procesados es la aplicación de desinfectantes químicos; sin embargo, en las fresas frescas, el lavado, la aplicación de desinfectantes o tratamientos líquidos no son una opción viable debido a la fragilidad de su superficie que la hace susceptible a daño físico y deterioro microbiano. Por lo tanto, contar con tratamientos alternativos que sean efectivos para la inactivación de microorganismos sin dañar la integridad de los frutos es una necesidad (Almenar *et al.*, 2007).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de calentamiento óhmico en la inactivación de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresa frescas y en la estabilidad de los atributos de calidad de los frutos durante su almacenamiento.

## **II. ANTECEDENTES**

### **II. 1 Productos mínimamente procesados**

Los productos mínimamente procesados son alimentos que no han sido sometidos a ningún tratamiento de transformación industrial, que no se ha alterado de alguna forma su composición al agregar sustancias nuevas (como grasas, azúcares o sal); estos productos pueden denominarse “frescos” y provenir de plantas o animales e incluyen verduras frescas, secas o congeladas, tubérculos, granos y legumbres, frutas y frutos secos, y carnes, pescados, mariscos, huevo y leche (Moubarac, 2017).

#### **II. 1.1 Frutas mínimamente procesadas**

La apariencia fresca, el color y el valor nutricional son características que han elevado la demanda de la población a consumir productos frescos y saludables, sin embargo, debido al tiempo necesario para prepararlas, el consumo de frutas mínimamente procesadas ha aumentado significativamente (De São et al., 2012).

Las frutas frescas o recién cortadas son definidas por la Asociación Internacional de Productos Frescos (IFPA por sus siglas en inglés) como aquellas que han sido recién cortadas, peladas o rebanadas en productos 100 % utilizables y depositados en bolsas o preenvasados (Rico *et al.*, 2007). Sin embargo, su inocuidad también es necesaria, por lo tanto, su principal procesamiento se basa en técnicas mínimas, tales como pelado, corte, trituración, recorte, lavado y/o desinfección y almacenamiento a temperaturas de refrigeración (Artés *et al.*, 2013). Aunque estos procesamientos buscan mantener las características del producto reducen su vida útil, volviéndolos altamente perecederos debido al aumento en la actividad enzimática y microbiológica (Smetanska *et al.*, 2013).

La contaminación por microorganismos patógenos al hombre en productos recién cortados y mínimamente procesados puede ocurrir en diferentes puntos de



la producción, incluido el manejo y procesamiento en poscosecha (Rico *et al.*, 2007). En las frutillas, estos microorganismos no pueden ser reducidos o eliminados mediante lavados o desinfección con líquidos como ocurre en otras frutas debido a la extrema sensibilidad de su superficie (Almenar *et al.*, 2007).

## **II. 2 Frutillas**

Las frutillas o comúnmente conocidas como *berries*, bayas o frutos rojos por presentar colores vivos, se definen biológicamente como frutas generadas a partir del ovario de una sola flor (poliaquenio), el cual en su pared produce una capa externa carnosa y comestible. Biológicamente las frambuesas, fresas y zarzamoras no son consideradas como frutillas ya que contienen semillas de varios ovarios de la flor; sin embargo, el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera considera a estos frutos como *berries* (SIAP, 2017). En la industria alimentaria son utilizadas para su consumo en fresco, congeladas o en alimentos procesados como mermeladas, bebidas, jaleas, entre otros.

### **II. 2.1 Fresa**

#### **II. 2.1.1 Generalidades**

La fresa es un falso fruto del fresal, el cual, es una planta de tipo herbáceo y perenne que pertenece a la familia de las Rosáceas. Durante la aparición de la flor (varias de porte similar o una primaria y otras secundarias) se pueden observar 5 o 6 pétalos, 20 a 35 estambres y cientos de pistilos sobre un receptáculo carnoso. Cada óvulo fecundado, dará lugar a un fruto de tipo aquenio, la agregación y desarrollo en la superficie del receptáculo estimula el crecimiento y coloración de éste poliaquenio dando lugar al “fruto” del fresón (Infoagro, 2015b).

Clasificación taxonómica:

Orden: *Rosales*

Familia: *Rosáceas*

Género: *Fragaria*

Especie: *F. vesca*

### **II. 2.1.2 Descripción del fruto**

El fresón o fresa, es el resultado de la unión de carpelos secos en un receptáculo pulposo hipertrofiado, mide aproximadamente de 2 a 5 cm de grosor, tiene un aspecto ligeramente cónico largo y achatado, color rojo brillante a rojo pálido según su madurez, sabor dulce y ligeramente ácido y presenta un aroma característico (SIAP, 2016).

Su recolección se realiza cada tres días de forma manual debido a que la fruta es altamente sensible y la separación de su receptáculo puede presentar cierta resistencia. La fresa no es tradicionalmente clasificada como un fruto climatérico canónico debido a su baja producción endógena de etileno y a que la presencia o aplicación de etileno no tiene un efecto directo en su maduración, pero si en la expresión de genes relacionados con la maduración del fruto (Perkins-Veazie, 1995; Merchante *et al.*, 2013).

### **II. 2.1.3 Valor nutricional**

La fresa es uno de los frutos con la menor cantidad de calorías (32 kcal/ 100 g), aproximadamente 5% de su peso son carbohidratos como glucosa, fructosa y sacarosa, presenta un alto contenido de folatos, potasio, hierro, fibra dietaria y ácido ascórbico (vitamina C) y un bajo contenido de proteínas, grasas y sodio (Tabla 2) (CCB, 2015).

Algunos de estos compuestos como la vitamina C, fitoquímicos beneficiosos como las antocianinas, elagitaninos (Giampieri *et al.*, 2012) y los bioflavonoides naturalmente presentes en la fresa son los principales responsables de su capacidad antioxidante que es incluso mayor que en ciruelas, naranjas y uvas. Estos compuestos antioxidantes son utilizados por el organismo para disminuir el efecto

de radicales libres y la formación de colesterol por sus diversos componentes. El consumo de fresa fresca es recomendado en casos de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, arteriosclerosis, hipertensión arterial, obesidad, exceso de ácido úrico y cáncer, entre otras enfermedades donde se investiga su potencial benéfico a la salud (Pamplona, 2006).

Tabla 1. Composición nutricional de fresa fresca.

<b>Nutrientes</b>	<b>Contenido por cada 100 g</b>
<b>Proteínas</b>	0.67 g
<b>Hidratos de carbono</b>	7.68 g
<b>Azúcares</b>	4.89 g
<b>Fibra</b>	2.00 g
<b>Vitamina C</b>	58.80 mg
<b>Vitamina A</b>	1.00 ug
<b>Vitamina E</b>	0.29 mg
<b>Vitamina B6</b>	24.00 mg
<b>Tiamina</b>	0.02 mg
<b>Riboflavina</b>	0.02 mg
<b>Niacina</b>	0.38 mg
<b>Folatos</b>	24.00 µg
<b>Vitamina K</b>	2.20 µg
<b>Calcio</b>	16.00 mg
<b>Hierro</b>	0.41 mg
<b>Magnesio</b>	13.00 mg
<b>Fosforo</b>	24.00 mg
<b>Potasio</b>	1.00 mg
<b>Sodio</b>	1.00 mg
<b>Antocianinas totales</b>	55-145 mg

Fuente: Adaptado del Departamento de Agricultura de EE. UU; Servicio de Investigación Agrícola 2010; CCB, 2015.

### II. 3 Producción y comercialización de fresas en México

La producción de frutillas en México se ha incrementado en los últimos años, en el 2019 México registró 16,838 hectáreas de cultivo y una producción total de 861,337 toneladas de fresa con un valor nacional de 20,584 millones de pesos y 856 millones de dólares en el mercado exterior, ubicándolo entre los tres principales países productores y exportadores a nivel mundial con una aportación de 7.8 % de millones de toneladas de fresas cosechadas en el mundo (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020; Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero, 2021).

En 2019, entre los estados de Michoacán (65.5 %), Baja California (23.3 %) y Guanajuato (9.3 %) registraron el 98.1 % de la producción nacional de fresa (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020). Los principales estados productores de fresa se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Principales estados de México productores de fresas en 2019.

Entidad Federativa	Región	Volumen (toneladas)
Total nacional		861,337
Michoacán	Centro-Occidente	564,554
Baja California	Noroeste	200,571
Guanajuato	Centro-Occidente	79,752
México	Centro	7,770
Aguascalientes	Centro-Occidente	3,069
Baja California Sur	Noroeste	2,520
Jalisco	Centro-Occidente	1,671
Zacatecas	Noroeste	433
Puebla	Centro	352
Tlaxcala	Centro	273

Fuente: Adaptado de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020).

Chile, Canadá, EE. UU., Países Bajos, Japón y Reino Unido, importan cerca de 65% de las frutillas mexicanas (Fideicomiso de Riesgo Compartido, 2017). Siendo en 2019 EE. UU. el principal consumidor de los fresales de México al adquirir el 96.3 % de su producción (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2020; SIAP, 2020).

En México el consumo anual *per cápita* de fresa en fresco aumentó 1.5 kg en dos años, pasando de 3.2 kg en 2017 a 4.7 kg en 2019 (SIAP, 2018; SIAP, 2020). La forma de consumo principal de las fresas es en forma fresca, congelada o en conservas (SIAP, 2016).

## **II.4 Microbiota de las fresas**

### **II. 4.1 Generalidades**

Las frutas por lo general presentan un sistema de autoprotección hacia el ambiente, plagas o microorganismos mediante diversos mecanismos de defensa que naturalmente poseen. Algunos de ellos pueden ser la síntesis y secreción de sustancias antimicrobianas como aceites esenciales, antocianinas u ácidos orgánicos como el ácido cítrico, málico y tartárico. Estos últimos además contribuyen a la acidez natural de las frutas manteniendo su pH en valores menores de 4.6 (Alzamora *et al.*, 2004).

Un ejemplo de los microorganismos naturalmente presentes en las frutas frescas son los hongos y las bacterias ácido lácticas que son capaces de sobrevivir a bajos niveles de pH y aunque no poseen mecanismos de infección al hombre, son considerados agentes secundarios de deterioro o patógenos al fruto (Alzamora *et al.*, 1995).

En las bayas, los altos niveles de azúcar, nutrientes y su actividad de agua proveen las condiciones ideales para el crecimiento de hongos, siendo los géneros

de mayor incidencia *Botrytis*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor* y *Rhizopus* spp. Además, la fragilidad celular de su pericarpio, las protuberancias y filamentos de las frutillas facilitan la adherencia y crecimiento de diversos microorganismos como las bacterias (con más de 10<sup>4</sup> UFC/frutilla), las cuales representan el grupo más abundante de la microbiota nativa. En fresa se han reportado a los géneros *Curtubacterium*, *Serratia*, *Pseudomona*, *Enterobacter* y *Rahnella* como los más comúnmente presentes, seguidos por las levaduras *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula* (Bovi et al., 2019).

En la Tabla 3, se muestran los microorganismos encontrados en fresas en diversos estudios.

Tabla 3. Microorganismos presentes en fresas.

Frutilla	Microorganismo encontrado	Lugar	Fuente
Fresa	Esporas de <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativo	NR	Oliveira et al., 2019
Fresa	Coliformes totales, <i>Klebsiella</i> sp, <i>Bacillus</i> sp, <i>Pantoea agglomerans</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i> sp.	Región Centro Norte de México	Ríos, 2018
Fresa	<i>E. coli</i> , <i>Shigella</i>	Lima, Perú	Molleda, 2016
Fresa	<i>L. monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus</i> spp.	Noruega	Johannessen et al., 2002

NR: No reportado

## **II. 4.2 Principales patógenos de humanos asociados a fresas**

A pesar de los beneficios a la salud que conlleva el consumo de productos frescos mínimamente procesados, esta gama de alimentos tiene un alto potencial de ser vehículos de transmisión de bacterias patógenas, virus entéricos y parásitos (Fraile, 2019).

En el caso de las fresas, el ingreso de microorganismos patógenos para el hombre a las bayas puede suscitarse mediante diversos mecanismos de contaminación desde su siembra, crecimiento, cosecha, procesamiento y almacenamiento (EFSA, 2014).

La cosecha de las fresas para su venta en fresco, como se ha mencionado, se realiza de forma manual, en este punto del proceso los posibles patógenos contaminantes dependerán de los trabajadores y su higiene, algunos de los aspectos más importantes son: manos contaminadas, heridas abiertas, ser portador asintomático de patógenos entéricos o estar cursando una enfermedad gastrointestinal o trabajar bajo condiciones que dificulten su higiene (Greig *et al*, 2007). Una vez que el suelo de cultivo ha sido contaminado y bajo condiciones favorables, estos y otros posibles patógenos sobrevivirán y se multiplicarán incrementando el riesgo de contaminación al fruto. Así mismo el tipo de suelo, el uso de fertilizantes contaminados como lodo o estiércol crudo y los desechos producidos durante el cultivo son factores de riesgo asociados a la contaminación del producto. Conjuntamente, las condiciones ecológicas tales como la presencia de insectos, bacterias epifitas, el porcentaje de humedad y la temperatura ambiental pueden influir en el comportamiento de los microorganismos (Park *et al.*, 2012).

Los microorganismos patógenos para el hombre generalmente no son capaces de proliferar en niveles tan bajos de pH, por el cual, aquellos que a los que les es posible sobrevivir hasta la ingesta del fruto, producirán la patología característica de cada uno. Algunas de las enfermedades relacionadas con el consumo de frutos son

salmonelosis, hepatitis A, listeriosis o gastroenteritis por especies patógenas de *E. coli* (Alzamora *et al.*, 2004).

El tiempo de cultivo y las acciones previas a la cosecha representan un riesgo de contaminación de patógenos como *E. coli* O157:H7, *S. enterica* y *L. monocytogenes*; de estos, los dos primeros son de origen intestinal de animales vertebrados, siendo ellos el vector de contaminación al fruto o a través de agua de riego contaminada y el último se encuentra naturalmente en el ambiente (Park *et al.*, 2012).

Los patógenos más frecuentes asociados al consumo de frutillas, incluidas las fresas, se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Patógenos comúnmente asociados a frutillas.

<b>Frutilla</b>	<b>Patógenos</b>
Fresa	Hepatitis A, norovirus, <i>E. coli</i> O157:H7 y <i>E. coli</i> O26
Frambuesa	<i>Cyclospora cayetanensis</i> , calcivirus, hepatitis A y norovirus
Zarzamora	<i>C. cayetanensis</i>
Arándano	Hepatitis A, S. Muenchen, S. Newport y <i>E. coli</i> O26
<i>Berries</i> mixtas	Hepatitis A y <i>C. cayetanensis</i>

Fuente: Bovi *et al.*, 2019.

Es así como cada entorno de cultivo y procesamiento representa una combinación única de factores de riesgo que pueden influir en la presencia de patógenos durante la producción de fresas (EFSA, 2014).



Si bien las frutas se cultivan en espacios donde *L. monocytogenes* se encontraría de forma esporádica y en bajas cantidades, no debemos asumir que las frutas no podrían resultar contaminadas por esta bacteria durante su cosecha y almacenamiento (Marik *et al.*, 2020).

#### **II. 4.2.1 Brotes de enfermedades asociadas al consumo de frutillas**

Las frutas son parte importante de una dieta saludable; sin embargo, desde el punto de vista microbiológico, al ser consumidas sin ningún tipo de cocción y en caso de existir alguna contaminación, su consumo puede representar un riesgo potencial a la salud (Sáez *et al.*, 2012). Diversos países han identificado a las verduras de hojas verdes y a las frutillas como los principales vectores de *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 y norovirus (WHO, 2008).

Un estudio sobre la calidad microbiológica de los productos hortícolas frescos en la Habana, Cuba, demostró lo antes mencionado al comprobar que cerca de 20 % de sus muestras analizadas presentaron *E. coli*, *Salmonella* spp. y *Listeria* spp., potencialmente patógenas, además, resaltaron que la no detección de estas u otras bacterias no es certeza de que los frutos y hortalizas se encuentren libres de microorganismos que produzcan enfermedades en el hombre (Puig *et al.*, 2014). En julio de 2014, una compañía de empaque de frutas de hueso (drupas), retiró del mercado sus productos por posible contaminación con *L. monocytogenes*, posteriormente se confirmaron dos casos positivos relacionados con nectarinas y duraznos (Buchanan *et al.*, 2017).

En el caso particular de las frutillas como la fresa, se caracterizan por su alto contenido de ácido ascórbico y su bajo nivel de pH (2.9 – 4.0) (ICMSF, 2006), esto hace que raramente sean asociadas a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, no obstante, cuando son recolectadas ya sea para su venta en fresco o congeladas, son depositadas directamente en sus contenedores generalmente conocidos como almejas o son transportadas a casas de embalaje, esto sin realizar

algún paso de descontaminación por ser altamente perecederas (Palumbo *et al.*, 2013), por lo cual se han reportado brotes relacionados con su consumo. De acuerdo con los datos recopilados en los años 2007 a 2011 por la Unión Europea, la presencia de *Salmonella* spp. en frambuesas ocupa el cuarto lugar en relación patógeno/alimento; asimismo, en 2013 y 2018, Europa, Suecia y Austria respectivamente, reportaron brotes de hepatitis A causados por la ingesta de fresas congeladas (Fraile, 2019).

Aunque los principales brotes asociados al consumo de frutillas son generados por virus entéricos tales como norovirus y el virus de hepatitis A, también se han reportado brotes de enfermedades bacterianas (Tabla 5).

Tabla 5. Brotes de enfermedades bacterianas asociadas al consumo de frutillas.

Frutilla	Patógeno	Número de enfermos	Hospitalizaciones	Número de muertes	Fecha	Localización
Fresa fresca	<i>E. coli</i> O157:H7	15	7	2	2011	Oregón, EE. UU.
Arándano fresco	S. Newport	6	NR	0	2010	Minnesota, EE. UU.
Arándano	S. Muenchen	14	NR	0	2009	Múltiples estados, EE. UU.
Fresa y arándano	<i>E. coli</i> O26	5	1	0	2006	Massachusetts, EE. UU.

NR: No reportado

Fuente: Adaptado de Palumbo *et al.*, 2013.

## **II. 4.3 *Listeria monocytogenes***

### **II. 4.3.1 Generalidades**

*L. monocytogenes* se transmite principalmente por el consumo de alimentos contaminados y aunque está presente en el intestino de animales y humanos puede llegar a causar cuadros de gastroenteritis, septicemia, meningitis y encefalitis en grupos de riesgo (Vera *et al.*, 2013) además de abortos espontáneos o muerte neonatal. De igual forma lo podemos encontrar en el ambiente como un microorganismo saprófito, por lo cual su presencia en frutas y vegetales crudos no es rara (WHO, 1998).

Clasificación taxonómica:

Familia: *Listeriaceae*

Género: *Listeria*

Especie: *monocytogenes*

Considerando los antígenos presentes, las cepas de *L. monocytogenes* se pueden clasificar en 13 serotipos, de los cuales solo 3 (1/2a, 1/2b y 4b) son responsables de 98 % de los casos de listeriosis en humanos (Vera *et al.*, 2013).

### **II. 4.3.2 Características generales y bioquímicas**

El género *Listeria* es un grupo de bacilos Gram-positivos, psicrotrofo, no esporulados, anaerobios facultativos, no capsulados, móviles de 10-25 °C (Velge & Roche, 2010).

*L. monocytogenes* es un patógeno intracelular facultativo, su temperatura de crecimiento va de < 0 a 45 °C, presenta un amplio rango de tolerancia a diferentes pH (4.5-9.2) y es halotolerante hasta 10% de NaCl (Vera *et al.*, 2013). Tiene un tamaño promedio de 0.4-0.5 µm de ancho por 0.5-1.2 µm de largo, es catalasa positiva, es capaz de utilizar glucosa, manosa y xilosa como fuente de carbono, y presenta una reacción positiva en la prueba de CAMP (Seoane, 2013).

### II. 4.3.3 Crecimiento y supervivencia en alimentos

Las enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados con *L. monocytogenes* casi siempre se han asociado con productos procesados como trozos de apio o ensaladas preparadas; sin embargo, en la última década se han registrado brotes de enfermedades por el consumo de frutas enteras, como frutas con hueso y melones. En 2011, estos últimos fueron responsables del brote de listeriosis más letal reportado en los últimos 25 años en EE. UU. (Marik *et al.*, 2020).

El crecimiento de *L. monocytogenes* en los alimentos dependerá de las características intrínsecas y extrínsecas del producto. El tiempo de generación puede variar entre 1.1 a 131 horas dependiendo de estos factores. En la Tabla 6 se muestran los límites necesarios para su supervivencia (Elikagaien, 2006).

Tabla 6. Condiciones para el crecimiento y supervivencia de *L. monocytogenes*.

Parámetros	Mínimo	Óptimo	Máximo	Supervivencia
Temperatura (°C)	-1.5	30	45	- 18
pH	4.2	7.0	9.5	3.3
Aw	0.90	0.97	0.99	< 0.90
NaCl (%)	< 0.5	-	10	≥20

Aw: actividad de agua; (-): cualquier valor dentro del rango.

Fuente: Adaptado de Elikagaien, 2006.

Estudios han hipotetizado que las variaciones en la superficie de las fresas enteras, así como la disponibilidad de nutrientes y la humedad superficial, podrían ser factores por los cuales *L. monocytogenes* no es capaz de crecer como en otras frutas y verduras (Marik *et al.*, 2020).

Las condiciones de almacenamiento como humedad relativa y temperatura son otros factores que se deben tomar en cuenta. Generalmente la refrigeración es un método utilizado en frutas y vegetales frescos para mantener sus características y para controlar

su descomposición, sin embargo, se ha demostrado que, en arándanos, *L. monocytogenes* presenta una disminución menor de la población (0.5 y 1.0 Log UFC/mL) cuando se almacena durante 10 días a 4 y 12 °C; este comportamiento se repitió en fresas, donde la reducción del patógeno se vio acelerada con un rango de disminución de 2.5-3.5 Log UFC/mL en dos días cuando se almacenó a 24 °C y en frambuesas, las cuales cuando fueron almacenadas a temperaturas de -20 y 6 °C durante 7 días no presentaron cambios en la población; sin embargo, a temperaturas de 15 y 22 °C durante dos días la reducción de la población fue de 1.5 y 1 Log UFC/mL, respectivamente (Marik *et al.*, 2020).

#### **II. 4.3.4 Patogenicidad**

La infección por *L. monocytogenes* se produce generalmente por el consumo de alimentos contaminados. A partir de este punto existen diversos factores involucrados en su sobrevivencia.

Al llegar al estómago, inicia la expresión de genes que activan el sistema glutamato descarboxilasa, el cual es esencial para sobrevivir en ambientes ácidos; habiendo superado ese paso, la bacteria llegará al intestino delgado donde en respuesta a las sales biliares *L. monocytogenes* es capaz de secretar diferentes proteínas como la hidrolasa de sales biliares, así como de activar sistemas de exclusión biliar y sistemas regulatorios de osmolaridad (Velge & Roche, 2010). Habiendo alcanzado el intestino delgado, pone en marcha sistemas de adhesión celular como la secreción de adhesinas (Lap e internalinas) y proteínas (DtlA, CtaP, ActA, InIF y RecA) necesarias para la adhesión y el ingreso al enterocito. La invasión celular es llevada a cabo principalmente por dos internalinas (InIA y InIB) las cuales al interaccionar con su receptor producirán la reorganización del citoesqueleto y la internalización de la bacteria a la célula (Vera *et al.*, 2013).

Una vez alcanzando el interior de la célula, secreta la toxina listeriolisina O, fosfatidilinositol y fosfatidilcolina las cuales son las responsables de la lisis de la vacuola fagocítica. Cuando *L. monocytogenes* se encuentra libre en el citosol expresará los genes para la captación de nutrientes necesarios para su crecimiento y replicación y para la

formación de una estructura de movilidad que facilita la invasión de células vecinas (Vera *et al.*, 2013).

## **II. 4.4 *Salmonella enterica***

### **II. 4.4.1 Generalidades**

*Salmonella* es una bacteria que está relacionada con el tracto gastrointestinal de animales de sangre caliente. El género incluye dos especies, *S. enterica* y *S. bongori*; siendo la primera patógena para el hombre (Cosby *et al.*, 2015).

Clasificación taxonómica:

Familia: *Enterobacteriaceae*

Género: *Salmonella*

Especie: *enterica*

Los serotipos de *S. enterica* causantes de enfermedades en mamíferos pertenecen a las subespecies (*S. enterica*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. indica* y *S. houtenae*). Hasta la fecha se han descrito 2,600 serotipos, demostrando el gran potencial patogénico de la especie (Barreto & Retamal, 2016). Entre todas, la subespecie *enterica* ha contribuido aproximadamente el 99% de las infecciones por *Salmonella* en humanos (Eng *et al.*, 2015).

### **II. 4.4.2 Características generales y bioquímicas**

*S. enterica* es un bacilo Gram-negativo, intracelular, móvil, anaerobio facultativo, no esporulado, usualmente presente flagelos peritricos, reduce nitratos a nitritos, produce gas, es oxidasa negativa y tiene un tamaño promedio de 2-3 µm de largo por 0.6 µm de ancho, pero pueden llegar a presentar variaciones de acuerdo cambios en el ambiente (Cosby *et al.*, 2015).

### II. 4.4.3 Crecimiento y supervivencia en alimentos

*S. enterica* es un patógeno zoonótico que puede contaminar fácilmente alimentos. Debido a los diversos puntos de contaminación es la causa más común de brotes de enfermedades asociadas al consumo de productos frescos mínimamente procesados (Althaus *et al.*, 2012; Cosby *et al.*, 2015).

A pesar de que las características de los frutos rojos constituyen un ambiente hostil para el crecimiento de *S. enterica*, se ha reportado que la mayoría de las salmonelas sobreviven en alimentos ácidos (Cosby *et al.*, 2015). Así mismo, como se muestra en la Tabla 7, es capaz de crecer en diferentes condiciones.

Tabla 7. Parámetros de crecimiento de *Salmonella* spp.

<b>Condiciones</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Óptimo</b>	<b>Máximo</b>
Temperatura (°C)	2	35 – 43	54
Ph	3.8	7 - 7.5	9.5
Aw	0.93	0.99	>0.99

Fuente: Elikagaien, 2013; Cosby *et al.*, 2015.

La temperatura y el tiempo de almacenamiento de los frutos son factores importantes que tomar en cuenta para la supervivencia de *Salmonella*. Se ha demostrado que esta bacteria tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de almacenamiento de 20, 7 y 4 °C donde el descenso más lento de la población microbiana se registró en las temperaturas de 7 y 4°C (Viñas *et al.*, 2020). Knudsen *et al.* en 2001 indicaron que, en fresas frescas enteras almacenadas a 5 °C durante 7 días, *Salmonella* y *E. coli* O157:H7 presentaron reducciones logarítmicas de 1 a 2 ciclos; sin embargo, en aquellas almacenadas a 24 °C la reducción de ambos patógenos fue mínima (0.5 logaritmos). Viñas *et al.* en 2020, demostraron que *S. Enteritidis* tiene la capacidad de formar biopelículas en fresas, expresando una producción de exopolisacáridos a partir de las 48 h de almacenamiento hasta 168 h a 7 °C.



Estos estudios demuestran que *Salmonella* no es capaz de crecer, pero sí de sobrevivir en los frutos rojos a lo largo de su vida útil aún en condiciones de estrés fisiológico.

#### II. 4.4.4 Patogenicidad

*S. enterica* es un patógeno intracelular facultativo y su patogenicidad está determinada por los antígenos presentes (O, H y Vi o K). El antígeno O somático es un componente termoestable del lipopolisacárido de la membrana celular externa, un serotipo es capaz de expresar más de un antígeno O. Los antígenos H son termolábiles y se encuentran ubicados en los flagelos y participan en la activación de la respuesta inmune del huésped. Los antígenos K son polisacáridos de superficie sensibles al calor, se ubican en la superficie capsular bacteriana y son menos comunes en algunos serotipos de *Salmonella*. Serotipos como Paratyphi, Typhi y Dublin contienen un subtipo de antígeno de superficie, conocido como antígeno de virulencia o Vi (Eng *et al.*, 2015). La presencia o ausencia de estos antígenos determinará el mecanismo de adherencia e invasividad.

Cuando *Salmonella* es ingerida por medio de agua o alimentos y llega al intestino se adhiere mediante fimbrias de tipo SEF17, posteriormente invade la células mediante un mecanismo conocido como *trigger* o disparo, donde secreta genes que codifican para la producción de proteínas multicanal, estas permiten a *Salmonella* inyectar proteínas efectoras (SipA, SopE, SopE2 y SopB) en el citoplasma celular del enterocito induciendo un rearrreglo del citoesqueleto hacia la parte exterior del lumen intestinal, resultando en una extensión ondulada que asemeja el proceso de fagocitosis (*ruffling*) (Ochoa & Rodríguez, 2005).

Para penetrar al enterocito, *Salmonella* se internaliza en una vacuola compuesta de la membrana de la célula huésped donde para no activar la respuesta inflamatoria secreta proteínas efectoras mediante el sistema de secreción tipo III, que bloquean la fusión de los lisosomas, la vacuola modificada permitirá la supervivencia y replicación de la bacteria dentro de la célula. Así mismo, la proteína SipB (proteína de invasión de *Salmonella*) le

permite inducir apoptosis de macrófagos activados para alcanzar el sistema fagocítico mononuclear y fagocitosis inducida en macrófagos no activados para ser transportada a hígado y bazo (Eng *et al.*, 2015).

## **II. 5 Descontaminación de frutillas**

La salud pública y las consecuencias económicas de producir alimentos contaminados por patógenos son un gran incentivo para prevenir la contaminación de los alimentos, en particular de los productos frescos listos para el consumo (Park *et al.*, 2012). Por ello, la susceptibilidad de las frutillas frescas a la contaminación de patógenos al hombre, enfatiza la necesidad de contar con tratamientos que logren eliminar, reducir o inactivar a los posibles microorganismos responsables de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos asociadas a su consumo (Bovi *et al.*, 2019).

Debido a esto, se han propuesto diversas técnicas de desinfección que buscan reducir las poblaciones de microorganismos mediante procesos químicos y físicos.

### **II. 5.1 Desinfección química**

Los métodos químicos de limpieza y desinfección usualmente implican un lavado mecánico con detergentes o desinfectantes, seguido del enjuague con agua potable.

Los agentes químicos antimicrobianos en general se utilizan en soluciones acuosas por inmersión, aspersion y más recientemente por nebulización. Algunos de ellos son: hipoclorito de sodio, dióxido de cloro, ácidos orgánicos, ácido peracético, peróxido de hidrógeno, ozono, entre otros (Viñas *et al.*, 2020).

El hipoclorito de ha sido utilizado en la industria de los alimentos frescos recién cortados por ser uno de los desinfectantes más efectivos para garantizar la inocuidad de los productos; sin embargo, debido a los riesgos ambientales y a la salud que representa su uso debido a la formación de subproductos halogenados y cancerígenos, las investigaciones se han centrado en la búsqueda de desinfectantes alternativos (Gil *et al.*, 2009). Una opción son los ácidos orgánicos considerados como seguros (GRAS, por sus

siglas en inglés) por la FDA; otros sustitutos potenciales son el ácido peracético (APA) y el peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) debido a su capacidad oxidativa y a la conservación de la calidad del agua (Viñas *et al.*, 2020).

Nicolau-Lapeña *et al.* (2019) demostraron el potencial del APA al lograr la reducción de *L. innocua* en 4.0 Log UFC/g de fresa, no obstante, el tratamiento presentó un efecto negativo sobre el contenido de antocianinas. La aplicación de APA y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue eficiente para inactivar a *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* y norovirus inoculados en fresas (Viñas *et al.*, 2020).

## **II. 5.2 Tecnologías emergentes**

### **II. 5.2.1 Generalidades**

Los métodos convencionales de desinfección de fresas no son eficientes debido a los efectos sobre la integridad de la fruta, que incluyen, el deterioro de los atributos sensoriales, tales como, color, olor, textura, sabor, etc. y también una importante degradación de las propiedades nutricionales. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de nuevas tecnologías para el procesamiento de alimentos, en especial para las frutas y verduras frescas, incluyendo las fresas. Existen varios criterios de clasificación de las tecnologías emergentes que se usan en la industria de alimentos, la más clásica las divide en térmicas y no térmicas (Butz *et al.*, 2002). Las tecnologías emergentes térmicas son el uso de microondas y el calentamiento óhmico; y no térmicas son, altas presiones hidrostáticas, ultrasonido, campos eléctricos pulsados, luz ultravioleta, irradiación y plasma frío (Barba *et al.*, 2017). De los cuales el calentamiento óhmico, luz ultravioleta, irradiación y plasma frío son de interés para su aplicación en frutas frescas.

### **II. 5.2.2 Calentamiento óhmico**

El calentamiento óhmico es una técnica en la cual una corriente eléctrica pasa a través del alimento, generando calentamiento interno dentro del alimento (Butz *et al.*, 2002).

El principio básico del calentamiento óhmico es la disipación de la energía eléctrica en forma de calor dentro del alimento. Los parámetros de operación tales como el voltaje

eléctrico (la intensidad del campo eléctrico) y la corriente eléctrica definen la cantidad de energía transferida por unidad de tiempo de acuerdo con la ley de Joule (Ecuación 1).

$$\text{Potencia eléctrica consumida (Watts/horas)} = \frac{V^2}{R} * t = V * I * t \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde V es el voltaje eléctrico aplicado en volts; R es la resistencia eléctrica del alimento en Ohm; I es la corriente eléctrica en amperes y t es tiempo en horas (Barba *et al.*, 2018).

Si el alimento tiene una resistencia eléctrica alta (5000 ohms) la potencia eléctrica consumida es baja por lo que el alimento tardará para calentarse. Por ello se recomienda que el alimento tenga una resistencia de 100 a 500 ohm asegurando que se tiene la potencia eléctrica suficiente para calentar al alimento a una temperatura de 100 °C (Butz *et al.*, 2002).

La destrucción microbiana celular se lleva a cabo por el rompimiento de la membrana celular inducida por la aplicación del alto voltaje. Los altos pulsos eléctricos generan una diferencia de potencial a través de la membrana, si la diferencia de potencial entre la del exterior y el interior de la membrana alcanza un punto crítico de aproximadamente 1 V, se induce la polarización y el rompimiento de la membrana (Barba *et al.*, 2018).

Sus principales aplicaciones son la pasteurización y esterilización de líquidos y alimentos como frutas, hortalizas, carnes, etc. Experimentos llevados a cabo con *E. coli* y con esporas de *Bacillus subtilis* mostraron que a través del calentamiento óhmico pueden lograrse reducciones similares a las observadas con un calentamiento convencional. La inactivación de *S. Typhimurium* y *L. monocytogenes* fue estudiada a temperaturas subletales observando un aumento de la permeabilidad celular en matrices ácidas teniendo una mayor efectividad de reducción por el ambiente ácido (Barba *et al.*, 2018). Así mismo, en 2011, Sagong *et al.*, lograron reducciones de 5 a > 5 Log de *E. coli* en jugo de naranja

y tomate respectivamente, en 2013, Lee *et al.*, demostraron reducciones de 5 Log de *E. coli* y *S. enterica* en salsa y en 2020 García *et al.*, alcanzaron reducciones de 4.5 Log UFC g<sup>-1</sup> de *E. faecium* y *L. innocua* en piña mínimamente procesada.

Una desventaja del calentamiento óhmico es que bajo ciertas condiciones pueden presentarse cambios de consistencia, sabor y color en los productos tratados (Jaeger *et al.*, 2016).

### **II. 5.2.3 Luz Ultra Violeta (UV)**

La luz UV es una forma de radiación electromagnética con una longitud de onda más corta que la luz visible pero más larga que los rayos X. Debido a los efectos de la radiación sobre la salud humana se divide en UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm), UV-C (200-280 nm) y Vacío -UV (100-200 nm) (Villarroel *et al.*, 2015).

La industria alimentaria inicialmente utilizó la luz UV-C para la desinfección de materiales inertes como cintas transportadoras, tapas, envases, agua, entre otros. Posteriormente se amplió su uso hacia la descontaminación de los alimentos debido a que es capaz de ejercer un efecto perjudicial sobre el ADN de diversos microorganismos (254 nm para una desinfección efectiva) sin alterar las propiedades sensoriales del producto. Por lo anterior, es considerada una tecnología de conservación no térmica ya que el tiempo de aplicación (aproximado de 1 a 5 min dependiendo de la matriz alimentaria y la dosis de radiación) no incrementa significativamente la temperatura del tejido (1-3 °C) (Villarroel *et al.*, 2015).

En los últimos años, se ha estudiado la aplicación de luz UV-C como tratamiento alternativo en la preservación de frutas como la fresa, uva de mesa, limón, entre otras (Villarroel *et al.*, 2015).

En 2012, Kim y Hung lograron reducir de 10<sup>9</sup> UFC/g a 5.8 UFC/g de *E. coli* O157:H7 en arándano. Birmpa *et al.* (2013), aplicaron luz UV-C a fresas inoculadas con un cóctel de cuatro bacterias (*E. coli*, *S. aureus*, *S. Enteritidis* y *L. innocua*), logrando reducciones de 1 – 1.4 Log UFC/g. Viñas *et al.* (2020) demostraron que la aplicación de luz UV-C en

fresas tenía un efecto similar a la desinfección con hipoclorito de sodio en la reducción de mesófilos, mohos, levaduras y *L. innocua*.

#### **II. 5.2.4 Irradiación gamma**

La irradiación utilizada en los alimentos emplea una forma de energía electromagnética, la radiación ionizante. Esta expresión se utiliza para todos los tipos de radiaciones que provocan la aparición de partículas eléctricamente cargadas denominadas iones en el material irradiado, entre ellas tenemos a los rayos X (energía arriba de 5 MeV), alfa, beta y gamma (radioisótopos de Co-60 o Cesio-137) (OMS, 1989).

El proceso de irradiación de los alimentos tiene el mismo objetivo que otros métodos de tratamientos: reducir las pérdidas por alteraciones y descomposición del alimento y eliminar patógenos causantes de enfermedades de transmisión alimentaria (OMS, 1989).

El efecto biológico de la irradiación sobre los microorganismos se basa en la lesión del material genético impactando directamente la viabilidad celular. Los tipos de daño incluyen cambios químicos en las bases nitrogenadas, inserciones o deleciones de nucleótidos, rompimiento de una o ambas cadenas de ADN y la creación de nuevos enlaces covalentes entre nucleótidos. Por lo tanto, la sensibilidad de cada microorganismo a este tratamiento dependerá principalmente del tamaño de su ADN y la velocidad a la cual puedan reparar el daño. Es así como organismos más complejos y con mayor cantidad de ADN como parásitos e insectos serán rápidamente eliminados con dosis bajas de irradiación (0.1 kGy o menos), seguidos por bacterias no esporuladas (0.3-0.7 kGy) (Lacroix & Follett, 2015).

Su aplicación en frutas frescas y hortalizas ha demostrado tener un efecto positivo sobre los procesos biológicos de maduración como un retraso en la maduración de plátanos verdes y la inhibición de germinación de papas y cebollas, no obstante, al igual que otros tratamientos, la irradiación puede inducir cambios químicos o físicos sobre el alimento. Por ejemplo, el ablandamiento, en especial de las frutas. Otra de sus limitaciones es la dosis máxima permitida, la comisión FAO/OMS del Codex Alimentarius recomienda no exceder de 10 kGy (OMS, 1989).

El uso de irradiación en alimentos hasta el momento es limitado pero autorizado en 55 países de todo el mundo (Parlato *et al.*, 2014) aunque se ha demostrado que el consumo de comida irradiada es seguro, su aceptación por parte de los consumidores ha sido lenta y controversial.

### **II. 5.2.5 Plasma frío a presión atmosférica**

El plasma frío a presión atmosférica (CAPP, por sus siglas en inglés) se considera como el cuarto estado de la materia después del sólido, líquido y gas. Este se describe como el estado de más alta energía donde las estructuras intramoleculares e intraatómicas de los gases (que son moléculas como N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, etc., o átomos individuales He, Ne, Ar) se descomponen, liberando electrones e iones libres. Es así que el plasma puede ser definido como un gas ionizado que consiste en moléculas neutras, electrones e iones (Bovi *et al.*, 2019).

Dentro de los tipos de plasmas se encuentran los no térmicos o fríos, en donde las especies químicas que se generan dependen de la composición química del gas y de la fuente de energía utilizada (Niemira, 2012).

En la industria de alimentos, el plasma frío a presión atmosférica ha llamado la atención de los productores al ser una tecnología no térmica de descontaminación que tiene como ventajas ser un proceso libre de agentes químicos antimicrobianos y requerimientos mínimos de agua, además de poder operar a presión atmosférica de forma continua y la producción de agentes reactivos sin generación de subproductos, esto aunado a un impacto sensorial mínimo sobre el alimento. Su aplicación a probado ser eficiente en la eliminación e inactivación de bacterias, hongos y levaduras, así como esporas y biopelículas en diversas superficies (Bovi *et al.*, 2019., Niemira, 2012).

El mecanismo de inactivación microbiológica por CAPP, se basa en la oxidación de componentes vitales de la bacteria como la membrana celular lo que conlleva a la

degradación de lípidos, proteínas y el ADN que a su vez conduce a una lesión y/o a la muerte celular (Bovi *et al.*, 2019).

El efecto específico causado sobre los microorganismos dependerá de diversos parámetros como tiempo de tratamiento, el espacio de descarga, el método de aplicación el cual puede ser de forma directa, semi directa o indirecta, así mismo las fuentes pueden ser en forma de chorro, descarga en corona, en barrera dieléctrica y microondas laser, igualmente, los gases ocupados para el trabajo (aire o nitrógeno) definirán las especies reactivas que se generen (especies reactivas de oxígeno, de nitrógeno, iones radicales o fotones) (Lacombe *et al.*, 2015, Bovi *et al.*, 2019).

En un estudio realizado por Fernández y colaboradores en 2013 se evaluó el efecto de plasma gaseoso sobre *S. Typhimurium*, logrando una reducción de 1.76 Log. Por otra parte, Ziuzina *et al.* (2014) aplicaron CAPP durante 300 segundos a fresas frescas empacadas logrando una reducción de 3.5, 3.8 y 4.2 Log UFC/g de *E. coli*, *Salmonella* y *L. monocytogenes*, respectivamente.

En 2019 Lafarga *et al.*, reportaron la aplicación de CAPP como una tecnología con gran potencial para la descontaminación de frutillas comparada con las tecnologías existentes, por lo cual para explotar completamente su potencial es necesario realizar más estudios.



### III. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad los consumidores demandan productos hortofrutícolas listos para su consumo, inocuos, con apariencia fresca y con un alto valor nutricional. Desafortunadamente, el número de brotes de enfermedad vinculados al consumo de frutas frescas, incluidas las fresas, contaminadas con patógenos como *L. monocytogenes* y *S. enterica* se ha incrementado

Las frutillas mexicanas, incluidas las fresas son ampliamente apreciadas por su sabor y beneficios a la salud. Aproximadamente el 65% de la producción nacional de fresa se destina a la exportación a países como EE. UU., Chile y Canadá, entre otros. Su comercialización representa una fuente importante de recursos, sin embargo, el aseguramiento de su inocuidad sigue siendo un reto.

Debido a la fragilidad celular de las fresas frescas y a su susceptibilidad al deterioro asociado a causas microbianas, la aplicación de tratamientos de desinfección química para reducir o eliminar a los microorganismos patógenos que puedan estar presentes no es una opción viable. El posible daño a la salud de los consumidores y las consecuencias económicas de producir alimentos contaminados ha llevado a la búsqueda de tratamientos efectivos de descontaminación. El uso de nuevas tecnologías como el calentamiento óhmico puede ser una alternativa de descontaminación eficaz para alimentos frágiles. En este trabajo se planteó evaluar del calentamiento óhmico como una alternativa de descontaminación eficaz para fresas frescas que mantiene las características físicas y químicas del fruto.

## **IV. OBJETIVOS**

### **IV. 1 Objetivo general**

Evaluar la efectividad de la aplicación de calentamiento óhmico como alternativa para la descontaminación de fresas destinadas a la comercialización en fresco.

### **IV. 2 Objetivos específicos**

1. Determinar el perfil microbiológico y las características físicas y químicas de fresas frescas obtenidas en el estado de Querétaro.
2. Evaluar la efectividad del calentamiento óhmico sobre la inactivación de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresas frescas.
3. Evaluar el efecto de la aplicación de calentamiento óhmico en la vida de anaquel de fresas.
4. Efecto combinado de calentamiento óhmico y deshidratación sobre la inactivación de *L. monocytogenes* y *S. entérica*.

## V. MATERIALES

### V. 1 Equipos

- Agitador mecánico (Vortex Fisher Scientific)
- AquaLab LITE (Decagon Devises Inc.)
- Autoclave eléctrica de mesa (All american)
- Balanza analítica (Answorth 100)
- Baño María con termostato (RIOSSA)
- Campana de flujo laminar (Alder)
- Cámara de electroforesis (BIO-RAD)
- Campana de bioseguridad tipo II A/B3 (LABCONCO)
- Centrífuga 5702 (Eppendorf)
- Centrífuga de mesa (Sol-Bat 1300)
- Colorímetro (Minolta)
- Cuenta colonias (Quebec)
- Deshidratador 32100A (Hamilton Beach)
- Equipo de calentamiento óhmico, armado a partir de piezas
- Equipo de electroforesis (BIO-RAD)
- Espectrofotómetro, NanoDrop ND-1000
- Fotodocumentador de luz UV (Kodak DC290)
- Fuente de voltaje PowerPac 200 (BIO-RAD)
- Incubadoras (35 y 22°C) (Thermo Scientific)
- Micropipetas de 5-1000 µL (Labsystems)
- Olla de presión (Presto Steele)
- Plato caliente con agitación (Termo Fisher)
- Potenciómetro (Orión 410A)
- Refractómetro (ATAGO)
- Refrigerador (IEM)
- Stomacher 400 (Seward, London, England)

- Termoblock (Eppendorf)
- Termociclador (Techne TC-512)
- Texturometro (Brookfield)
- Ultra-Turrax T-25 (Basic)

## V. 2 Reactivos

- Ácido tartárico 10% (Sigma-Aldrich)
- Agarosa 2% (Bioline)
- Agua destilada
- Bromuro de etidio (BIO-RAD)
- Buffer TAE 1X
- Carbonato de sodio
- D-manitol
- D-xilosa
- Etanol 75%
- Iniciador InVA F (Sigma-Aldrich)
- Iniciador InVA R (Sigma-Aldrich)
- L-ramnosa
- Marcador de peso molecular DNA 100 pb (Promega)
- Máster Mix 2x GoTaq (Colorless)
- Metanol
- NaOH 0.01 N (Sigma-Aldrich)
- Reactivo de Folin
- Reactivo de Kovac (DIBICO)
- Reactivos de PCR para *Listeria*
- Reactivos de PCR para *Salmonella*
- Rifampicina
- Solución amortiguadora de fosfatos (BPW) (DIBICO)
- Solución de ácido nalidíxico 0.5% (Sigma-Aldrich)

- Solución de cicloheximida 1%
- Solución de clorhidrato de acriflavina 0.5% (Sigma-Aldrich)
- Solución de piruvato de sodio 10% (Sigma-Aldrich)
- Solución de verde brillante 1%
- Solución salina estéril (DIBICO)
- Sybr safe (Invitrogen)
- Tinta de carga azul/naranja 6X (Promega)
- Yoduro de potasio (Sigma-Aldrich)

### **V. 3 Medios de Cultivo**

- Agar Cuenta Estándar (ACE) (DIBICO)
- Agar Hierro Lisina (LIA) (DIBICO)
- Agar Oxford Modificado (MOX) (DIBICO)
- Agar PALCAM (DIBICO)
- Agar Papa Dextrosa (APD) (DIBICO)
- Agar SIM (DIBICO)
- Agar Soya Trypticasa (AST) (DIBICO)
- Agar Sulfito Bismuto (ASB) (DIBICO)
- Agar Triple Azúcar y Hierro (TSI) (BD Bioxon)
- Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD) (BD Difco)
- Agua Peptonada (AP) (DIBICO)
- Caldo BLEB (DIBICO)
- Caldo E.C (CEC) (DIBICO)
- Caldo Lactosa Bilis Verde Brillante (CLBVB) (DIBICO)
- Caldo Lactosado (CL) (DIBICO)
- Caldo Lauril Sulfato de sodio con MUG (DIBICO)
- Caldo lauril triptosa (DIBICO)
- Caldo Rappaport-Vassiliadis (RVS) (DB Difco)
- Caldo Soya Trypticasa (CST) (DIBICO)

- Caldo Base Tetracionato (CBT) (Sigma)
- Caldo Urea (DIBICO)
- Diluyente de Peptona (DP) (DIBICO)

## **V. 4 Material biológico**

### **V. 4.1 Cepas**

Se emplearon cepas de *S. enterica* y *L. monocytogenes* resistentes a rifampicina obtenidas del cepario del Laboratorio para la Evaluación y Control de Riesgos Microbianos en Alimentos (LECRIMA):

- *L. monocytogenes* ATCC 19115
- *L. monocytogenes* Scott A
- *L. monocytogenes* LCDC
- *L. monocytogenes* ATCC 389
- *S. Enteritidis* ATCC 13076
- *S. Typhimurium* ATCC 23595
- *S. Typhimurium* ATCC 14028
- *S. Thompson* 8391
- *S. Montevideo* 8387

## **VI. METODOLOGÍA**

### **VI. 1 Calidad microbiológica de las fresas**

#### **VI. 1.1 Muestreo**

Durante los meses de febrero y agosto de 2021 se obtuvieron un total de 140 *clams*. Se utilizaron 40 muestras de fresas de la variedad Albión en invernaderos de la Universidad Autónoma de Querétaro campus Amealco; su cosecha se realizó por trabajadores calificados, en madurez de consumo aparente. También se colectaron 30 muestras de fresas en el Mercado de “Lomas de Casa Blanca” de la ciudad de Querétaro.

Todas las muestras se mantuvieron en su empaque original y se transportaron en hieleras al Laboratorio LECRIMA de la Universidad Autónoma de Querétaro donde se almacenaron en refrigeración (4 °C) para llevar a cabo los análisis microbiológicos, físicos y químicos.

#### **VI. 1.2 Preparación de las muestras**

Las fresas se seleccionaron por su uniformidad de tamaño, color (90% de color característico), ausencia de defectos, firmeza y ausencia de suciedad aparente. Se pesaron asépticamente (25 g), se agregaron 225 mL de BPW y se homogenizaron durante 1 min en un homogeneizador mecánico, a partir de esta suspensión se realizaron diluciones decimales en tubos con 9 mL de BPW.

#### **VI. 1.3 Cuantificación de microorganismos indicadores**

- Bacterias mesófilas aerobias (BMA).

Se realizó la cuantificación de BMA mediante la técnica de vertido en placa en agar cuenta estándar; las placas se incubaron a  $35 \pm 2$  °C durante 48 h (Maturin *et al.*, 2021).

- Coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF) y *E. coli*.

La cuantificación del contenido de CT, CF y *E. coli* se realizó mediante la técnica de número más probable (NMP) (Feng *et al.*, 2020). Para la prueba presuntiva se utilizaron 9 tubos con caldo lauril triptosa (9 mL) los cuales se incubaron a  $35 \pm 0.5$  °C durante 48 h. De cada tubo positivo (aquellos que presentaron turbidez y gas) se tomó una alícuota de 100  $\mu$ L y se inoculó por separado en dos tubos con campana de Durham, uno con caldo CLBVB (3 mL) y otro con CEC (3 mL). Los tubos con CLBVB se incubaron a  $35 \pm 0.5$  °C por 48 h y los tubos con CEC se incubaron a 44.5 °C en un baño de precisión durante 48 h. La positividad de la prueba se evidenció por la presencia de turbidez y gas dentro de las primeras 48 h.

- Hongos y levaduras.

La cuantificación se realizó mediante la técnica de vertido en placa con APD acidificado con ácido tartárico al 10% a un pH de  $3.5 \pm 1$ ; las placas se incubaron a  $25 \pm 2$  °C por 72 a 120 h (NOM-111-SSA1-1994).

#### **VI. 1.4 Detección de *L. monocytogenes***

La detección de *L. monocytogenes* se realizó mediante la metodología propuesta por la FDA (Hitchins *et al.*, 2004).

En una bolsa estéril se pesaron 25 g de muestra en condiciones asépticas, se añadieron 225 mL de caldo BLEB de enriquecimiento para listeria suplementado y tamponado, se homogenizó la muestra mecánicamente a velocidad normal durante 1 min, se incubaron a 30 °C por 4 horas; al término de la incubación se agregaron los agentes selectivos (solución de acriflavina, solución de cicloheximida y solución de ácido nalidíxico), se homogenizaron las muestras y se continuo la incubación a 30 °C durante 24 a 48 h. Los cultivos se estriaron en agar MOX y PALCAM y se incubaron a 35 °C durante 48 h. Las colonias presuntivas (grises a negro con centro hundido y halo negro y colonias grises a negro con fondo rojo) se confirmaron mediante pruebas bioquímicas (fermentación de D-manitol, L-ramnosa, D-xilosa, movilidad) y por PCR.



Brevemente, para la confirmación mediante PCR se extrajo el ADN de las colonias sospechosas por choque térmico (95 °C/ 15 min y 4 °C/10 min), la mezcla de reactivos del PCR consistió en 10 µL de Master Mix 2X Go Taq Colorless, 1 µL de cada iniciador (LMA1, LMA2, NA1, NA2 y NA3) 2 µL de ADN y 3 µL de agua grado molecular para dar un volumen final de reacción de 20 µL. El programa de amplificación para *L. monocytogenes* consistió en una etapa inicial de desnaturalización a 95 °C durante 5 min, seguido por 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 30 s, alineamiento a 60 °C durante 90 s y extensión a 72 °C durante 90 s, extensión final de 72 °C por 5 min. El producto de esta PCR se sometió a electroforesis en un gel de agarosa al 2% a 100 V/ 15 min, transcurrido el tiempo de electroforesis se observó el gel de agarosa en cámara de luz UV para analizar el tamaño del amplicón generado (Aznar *et al.*, 2002).

#### **VI. 1.4 Detección de *S. enterica***

La detección de *Salmonella* se llevó a cabo mediante el procedimiento descrito por la FDA (Andrews *et al.*, 2018).

En una bolsa estéril se pesaron 25 g de muestra en condiciones asépticas, se añadieron 225 mL de BPW y se incubaron a 35 °C durante 24 ± 2 h. A partir de esta suspensión se tomó una alícuota de 1 mL y se inoculó en un tubo con caldo TT (10 mL) y 0.1 mL a caldo RVS los cuales se incubaron a 35 °C y 41.5 °C respectivamente por 24 ± 2 h. Posteriormente, de cada tubo se realizó el estriado en placas de XLD, ASB y AVB. Las colonias presuntivas del género *Salmonella* se confirmaron mediante pruebas bioquímicas en agar TSI y LIA, ambos fueron incubados a 35 °C durante 24 ± 2 h.

La confirmación de *S. enterica* se realizó mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). Brevemente, se extrajo el ADN mediante el calentamiento en un Termobloque (95 °C por 15 min) y congelación durante 10 min, la mezcla de reacción de PCR fue de 10 µL de Máster Mix 2x GoTaq, 1 µL primer InVA F (5´-CGCGCGTTGATGAGCTTTACC-3´) (1.25 mM), 1 µL InVA R primer (5´CTCGTAATTCGCCGCCATTG-3´) (1.25 mM), 1 µL de ADN y 7 µL de agua grado molecular para dar un volumen final de reacción de 20 µL. El programa de amplificación

consistió en una etapa inicial de desnaturalización a 94 °C durante 3 min, seguido por 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 20 s, el alineamiento a 55 °C durante 30 s, extensión a 72 °C durante 30 s y extensión final de 72 °C por 2 min para el gen blanco InVA. El tamaño del amplicón fue de 437 pb, el producto de esta PCR se reveló en un gel de agarosa (2 %) a 100 V /15 min, transcurrido el tiempo de electroforesis se observó en un fotodocumentador de luz UV.

## **VI. 2 Caracterización física y química de fresas**

Para reducir la variación en los resultados de la evaluación del calentamiento óhmico, se trabajó únicamente con fresas obtenidas del invernadero. Por lo tanto, la caracterización de los parámetros de calidad (color, firmeza, sólidos solubles totales y acidez total titulable) solo se realizó en esos frutos (Martínez *et al.*, 2008). Semanalmente se cosecharon fresas en cinco ocasiones, y en cada ocasión se adquirió una caja de aproximadamente 500 g. A partir de cada caja se tomaron 3 fresas para un total de 15 frutos. Las fresas restantes de estos lotes se utilizaron para experimentos preliminares de calentamiento térmico convencional y calentamiento óhmico.

### **VI. 2.1 Selección de las muestras**

Se seleccionaron fresas por su uniformidad de tamaño, ausencia de defectos, firmeza y color (90% de color característico) niveles 5 y 6 de acuerdo a la Figura 1.

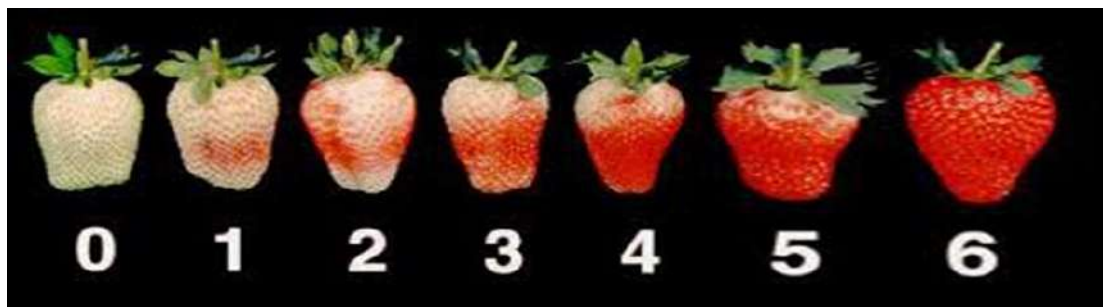


Figura 1. Clasificación de niveles de madurez de fresa según su color de acuerdo a la norma NMX- FF- 062- SCFI- 2002.

## VI. 2.2 Color

Para la medición del color se utilizó un equipo Minolta usando la escala CIE (Ecuación 2).

$$\text{CIE: } L^*, a^*, b^* \quad \text{(Ec. 2)}$$

Donde  $L^*$  define luminosidad,  $a^*$  denota rojo/verde y  $b^*$  valores amarillos/azul.

Se realizaron tres lecturas de cada fruto cambiando la posición de cada frutilla para obtener medidas de color representativas.

El equipo se configuró para iluminar el ángulo del observador  $D_{65}$  y  $10^\circ$  y se calibró utilizando placas reflectoras negra y blanca estándar.

La variable considerada para la evaluación del cambio de color fue la diferencia total de color (TCD por sus siglas en inglés) o  $\Delta E$ . La cual cuantifica la diferencia de color global de una muestra en comparación con una muestra de referencia ( $L_0, a_0, b_0$ ), de acuerdo con la Ecuación 3.

$$\Delta E = \sqrt{(a - a_0)^2 + (b - b_0)^2 + (L - L_0)^2} \quad \text{(Ec. 3)}$$

Donde el índice "0" es un indicativo de frutilla de referencia sin tratar.

Actualmente no hay una norma o restricción que delimite los valores colorimétricos para los productos alimenticios, por lo que se tomó como referencia a la norma ISO 12647-2 de especificaciones técnicas y tolerancias para la reproducción del color para impresión, prensa, huecograbado, serigrafía, flexografía e impresión de pruebas digitales, la cual indica los umbrales de tolerancia de  $\Delta E$  (Tabla 8).

Tabla 8. Umbrales de tolerancia de  $\Delta E$  según la ISO 12647-2.

$\Delta E$	Calidad
1	Excelente
1-2	Buena
2-4	Normal
4-5	Suficiente
>5	Mala

Valores superiores a 5 se proponen como inaceptables en la mayoría de procesos ya que indican que la diferencia de color es especialmente evidente respecto a un control.

### VI. 2.3 Firmeza

Para la evaluación de la firmeza se utilizó un equipo TexturePro CT V1.8 Build 31. Las condiciones del equipo para fresa fresca fueron una sonda cilíndrica de 2 mm (TA39) con una distancia de penetración de 5 mm y velocidad de 2 mm/s y una carga de activación de 0.05 N. Se realizaron dos mediciones por cada fresa.

Para la evaluación de la dureza de la fresa deshidratada se realizó un test de ruptura donde se utilizó una sonda de corte (TA7), una carga de activación de 1.0 N y velocidad de 10 mm/s.

### VI. 2.4 Sólidos solubles totales

Los sólidos solubles se determinaron por el método AOAC 932.12 con la medición del índice de refracción en un refractómetro previamente calibrado con agua destilada.

De cada muestra se tomaron gotas de jugo y se colocaron en el refractómetro para realizar la lectura, serán reportados como grados Brix ( $^{\circ}$ Brix). Las mediciones se realizaron por triplicado y se obtuvo el promedio.

### VI. 2.5 Acidez total titulable (ATT)

La medición de ATT se realizó con base en la metodología reportada por González *et al.* (2018) con algunas modificaciones.

Se pesó una fresa, se le adicionó agua destilada en relación 1:1 y se licuó; para la fresa deshidratada la relación de dilución fue de 1:4. Se transfirieron alícuotas de 5 mL de cada muestra a un matraz las cuales se titularon con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N hasta un pH final de 8.2. Se realizaron 3 repeticiones del análisis por muestra y en cada una se calculó el porcentaje de acidez con relación al ácido cítrico (meq= 0.064) mediante la Ecuación 4:

$$(\%) \text{ácidocitríco} = \left( \frac{(V_{\text{NaOH}})(N_{\text{NaOH}})(0.064)}{(V_{\text{Muestra}})} \right) \times 100 \quad \text{(Ec. 4)}$$

Donde  $V_{\text{NaOH}}$  es el volumen de NaOH gastado durante la titulación,  $N_{\text{NaOH}}$  la normalidad del NaOH utilizado y  $V_{\text{muestra}}$  el volumen de la alícuota utilizada.

#### **VI. 2.6 Fenoles totales (FT)**

Para la determinación de FT se utilizó el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu debido a su carácter reductor.

El extracto utilizado para las muestras de fresa fresca se obtuvo al pesar 5 g de cada muestra a los cuales se le añadieron 25 mL de etanol (1:25, p/v) a 25 °C, se mezcló en Ultra-Turrax durante 15 min y se centrifugó durante 10 min a 5000 rpm, el sobrenadante se colectó en un matraz, el residuo se volvió a homogenizar, este procedimiento se repitió dos veces por muestra y se combinaron los sobrenadantes. Para la fresa deshidratada se pesó 1 g y se siguió el procedimiento ya descrito (Zitouni *et al.*, 2021).

Del sobrenadante se tomó una alícuota de 50 µL a la que se adicionaron 125 µL de reactivo de Folin y 400 µL de carbonato de sodio 7.1 % (p/v) y se ajustó con agua destilada hasta 1000 µL. Posteriormente se realizó la lectura espectrofotométrica a 760 nm y se comparó con una curva patrón usando como estándar ácido gálico (ácido fenólico). Las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mg equivalentes de Ácido gálico/ g de frutilla (Zapata *et al.*, 2013).

### **VI. 3 Optimización de los tratamientos de descontaminación con calentamiento óhmico**

Se realizaron pruebas preliminares para determinar los parámetros de cada tratamiento y se seleccionaron aquellos que no afectaron la calidad de las fresas.

#### **VI. 3.1 Fresas**

Se obtuvieron fresas variedad Albión provenientes de invernaderos de la U.A.Q campus Amealco, ubicados en Querétaro, su cosecha se realizó por trabajadores calificados y en madurez de consumo aparente.

Se mantuvieron en su empaque original y se transportaron en hieleras (4 °C) al laboratorio LECRIMA de la U.A.Q., donde se seleccionaron por su uniformidad de tamaño, color (90% de color característico), firmeza, ausencia de defectos y suciedad aparente.

#### **VI. 3.2 Condiciones del tratamiento de calentamiento óhmico**

Los estudios de calentamiento óhmico se llevaron a cabo en un equipo desarrollado por el grupo de investigación del Dr. Eduardo Morales en el laboratorio de Tecnología de Alimentos (CICATA-IPN, unidad Querétaro). El equipo de calentamiento óhmico consta de un medidor/controlador de temperatura marca Autonics, un controlador de voltaje marca VARIAC de 120 VAC, un transformador de voltaje de 120 VAC /440VAC, un medidor de voltaje AC, un medidor de corriente AC y un plato agitador magnético. La celda está fabricada de acrílico y sus dimensiones son de 10 cm x 10 cm x 10 cm. Los electrodos son de acero inoxidable y son de 10 cm x 10 cm (Figura 2).

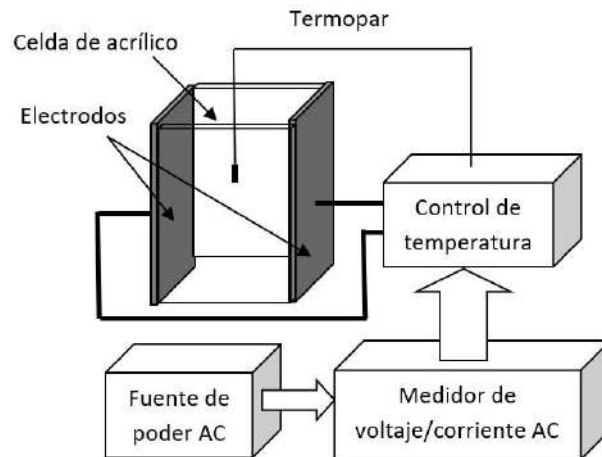


Figura 2. Diagrama esquemático del equipo de calentamiento óhmico utilizado.

Se establecieron las condiciones de tiempo y temperatura del calentamiento óhmico. Para ello, las fresas se trataron con temperaturas de 50, 55, 60 y 65 °C y un voltaje de 120 V, las muestras se retiraron a los 2 y 3 minutos de tratamiento. Después de cada tratamiento, las muestras se enfriaron en baño de hielo para posteriormente evaluar el color, firmeza, ATT y °Brix, como se indicó en apartado VI. 2. Cada tratamiento se realizó por triplicado y la temperatura y tiempo elegidos fueron aquellos en donde no se encontraron diferencias significativas con respecto a un control sin tratar (Barrón, 2017).

#### **VI. 4 Efecto del calentamiento óhmico sobre la inactivación de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresas**

##### **VI. 4.1 Obtención y preparación de las fresas**

Las muestras se obtuvieron de invernaderos pertenecientes al campus Amealco de la U.A.Q., se transportaron y seleccionaron como se menciona en el apartado VI. 3.1.

##### **VI. 4.2 Preparación del inóculo**

Se prepararon dos mezclas de cepas, una a partir de las cepas de *L. monocytogenes* y otra con las cepas de *S. enterica*. Brevemente, a partir de las cepas almacenadas a -70 °C en CST con glicerol al 15 %, se prepararon cultivos de trabajo en

tubos de agar nutritivo inclinado que se incubaron a 35 °C por 24 h para posteriormente refrigerarse. A partir de estos cultivos se tomó una asada de biomasa de cada cepa y se transfirió a un tubo Eppendorf con 1 mL de CST y se incubaron a 35 ± 2 °C por 24 h, este procedimiento se realizó dos ocasiones consecutivas y a partir del último cultivo se realizó un tercer pase que se incubó a 35 °C por 18 h. El último cultivo se centrifugó a 12500 rpm durante 2 min y se lavó dos veces con solución salina isotónica estéril (0.085 %); las células lavadas se suspendieron en BPW y se mezclaron volúmenes iguales de cada una de las cepas de *L. monocytogenes* y *Salmonella enterica*. El contenido de células en las suspensiones bacterianas se cuantificó mediante la técnica de extensión en superficie en AST con rifampicina (ASTR); las placas se incubaron a 35 °C por 24 h.

#### **VI. 4.3 Inoculación de las muestras**

Se tomaron 6 fresas para cada tratamiento y se colocaron espaciadas en charolas estériles dentro de una campana de bioseguridad. Cada pieza se inoculó por goteo con 100 µL (8 Log UFC mL<sup>-1</sup>) de cada suspensión celular y se dejaron secar dentro de una campana de bioseguridad durante 30 min. Se cuantificaron las poblaciones después del secado mediante la técnica de extensión en superficie en ASRT; las placas se incubaron a 35 °C durante 24 h.

#### **VI. 4.4 Aplicación de calentamiento óhmico**

Las muestras de cada frutilla ya inoculadas se colocaron dentro de una bolsa de tela y se llevaron a la celda para la aplicación del calentamiento óhmico, los tratamientos evaluados fueron, tiempos de 1 y 2 min, voltajes de 200, 250 y 290 V y temperatura de 60 °C. Las fresas se mantuvieron sumergidas en el agua con agitación para distribuir uniformemente la temperatura (Figura 3). Una vez alcanzado el tiempo, las fresas se retiraron y se enfriaron en baño de hielo durante 2 min, se drenó el exceso de agua y se colocaron de forma aséptica en contenedores estériles para transportarlas a la campana de bioseguridad donde se dejaron secar por 50 min. Se incluyeron como controles fresas con tratamiento de calentamiento convencional, así como un lote de fresas sin inocular de cada tratamiento para evaluar el efecto del calentamiento óhmico en las



características de calidad de la fresa (color, firmeza, ATT y °Brix) siguiendo la metodología descrita en apartado VI. 2.

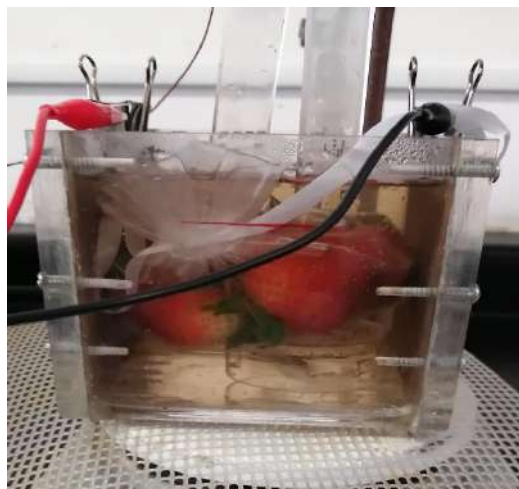


Figura 3. Celda de acrílico de 10 x 10 x 10 cm para la aplicación del calentamiento óhmico.

#### **VI. 4.5 Cuantificación de microorganismos sobrevivientes**

Después de la aplicación del tratamiento se realizó la cuantificación de *L. monocytogenes* y *S. enterica*. A cada pieza de fresa tratada se le adicionó BPW en relación 10:90 y se homogenizó de forma mecánica en Stomacher durante 1 min a velocidad normal. A partir de cada suspensión se prepararon diluciones decimales y se cuantificaron las poblaciones de las bacterias en ASRT. Las placas de ASRT se incubaron a  $35 \pm 2$  °C por 24 h, se calcularon los valores de reducción de las poblaciones microbianas.

#### **VI. 5 Evaluación del efecto de la aplicación de calentamiento óhmico en la vida de anaquel de las fresas**

Se seleccionaron las condiciones de voltaje y tiempo del calentamiento óhmico que mostraron el mayor efecto en la inactivación de *L. monocytogenes* y *S. enterica*.

A partir de dos lotes de fresas, se seleccionaron fresas frescas como se mencionó previamente. A las fresas de cada lote se les aplicó calentamiento térmico (FCT) (60 °C/ 2 min) y calentamiento óhmico (FCO) (60 °C/ 2 min/ 250 V). Los frutos fueron

almacenados a  $4 \pm 2$  °C durante 8 días y se monitorearon periódicamente los cambios en las variables de calidad (pH, sólidos solubles, acidez y firmeza), y en las coordenadas de color y su diferencia total de color. También se determinaron microorganismos indicadores de calidad microbiana (mesófilos aerobios, hongos y levaduras). El día 0 corresponde al momento posterior a la aplicación del tratamiento y en la fresa fresca al momento previo a su almacenamiento.

## **VI. 6 Efecto combinado de calentamiento óhmico y deshidratación en fresa**

### **VI. 6.1 Condiciones de deshidratación**

Para establecer las condiciones de deshidratación se utilizaron dos temperaturas, 50 y 60 °C y láminas de fresa con grosor de 3 y 6 mm; cada hora se registró la actividad de agua ( $A_w$ ) de las fresas hasta obtener 3 valores constantes. Se seleccionó la temperatura de 50 °C y el grosor de cada lamina de fresa de 6 mm, y se realizó la curva de secado registrando periódicamente la pérdida de peso (agua) de la muestra hasta obtener al menos tres valores constantes. Los datos obtenidos fueron transformados a humedad libre utilizando las ecuaciones 5 y 6, se graficó la humedad en equilibrio respecto al tiempo.

$$MR_t = \frac{W_f - W_s}{W_s} \quad (\text{Ec. 5})$$

Donde,  $MRT$  es la relación entre el peso del agua y el peso del sólido seco en un tiempo determinado,  $W_f$  es el peso del sólido húmedo y  $W_s$  es el peso del sólido seco.

Se calculó el contenido de humedad libre ( $X$ ) de acuerdo con la ecuación 6:

$$MR = MR_t - MR_e \quad (\text{Ec. 6})$$

Donde,  $MR_e$  es la humedad del producto en equilibrio (humedad al final del proceso).

## **VI. 6.2 Efecto combinado de calentamiento óhmico y deshidratación sobre la inactivación de *L. monocytogenes* y *S. enterica***

Se seleccionaron fresas y se inocularon como se mencionó anteriormente (apartado VI. 4.3); A las fresas se les aplicó el tratamiento de calentamiento óhmico seleccionado (60 °C/ 2 min/ 250 V) y posteriormente los frutos se rebanaron asépticamente en láminas de 6 mm de grosor y se sometieron a deshidratación a 50 °C durante 7 h. Al inicio y al final de la deshidratación se realizó la cuantificación de *S. enterica* y *L. monocytogenes* como se mencionó en el apartado VI. 4.5.

Se utilizó un lote sin inocular para determinar los parámetros de calidad con la metodología descrita en el apartado VI.2 (color, ATT, firmeza y °Brix y fenoles totales) y se cuantificaron las poblaciones de mesófilos aerobios, hongos y levaduras.

## **VI. 7 Métodos estadísticos**

Los resultados del contenido de microorganismos indicadores se transformaron a Log UFC g<sup>-1</sup> y se calcularon las medianas. Se aplicó una comparación no paramétrica de las poblaciones microbianas mediante la prueba de Wilcoxon/Kruskal-Wallis.

Para los tratamientos de calentamiento óhmico, se seleccionaron las mejores condiciones de aplicación en un diseño completamente aleatorizado con tres repeticiones, siendo temperatura y tiempo los factores de estudio de acuerdo con un modelo factorial completamente al azar donde las variables de respuesta fueron los parámetros de calidad de la fresa.

El efecto del calentamiento óhmico y la deshidratación sobre *L. monocytogenes* y *S. enterica*, se evaluó mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey.

Todos los análisis se realizaron en el Programa estadístico JMP 8.0 (SAS Institute Inc.). Los gráficos se modelaron en el programa GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software).

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VII.1 Caracterización microbiológica de fresa fresca

Durante los meses de septiembre-octubre del 2020 y marzo-agosto del 2021 se realizaron muestreos en el mercado público “Lomas de Casa Blanca” de la ciudad de Querétaro y en invernaderos del municipio de Amealco Querétaro, recolectando 30 y 40 muestras, respectivamente. En cada muestra se cuantificaron microorganismos indicadores y se determinó la presencia de patógenos (*L. monocytogenes* y *S. enterica*). El contenido de BMA, mohos, levaduras, coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Microorganismos indicadores presentes en fresa fresca colectada en invernadero y mercado.

Sitio de muestreo	Bacterias mesófilas aerobias	Levaduras	Mohos	Coliformes totales	Coliformes fecales	E. coli
	Log UFC g <sup>-1</sup>			Log NMP g <sup>-1 (3)</sup>		
Invernadero <sup>1</sup>	6.43 <sup>a</sup> (4.81-7.46)	5.39 <sup>a</sup> (1.99-6.26)	5.69 <sup>a</sup> (2.39-6.69)	0.71 <sup>a</sup> (<0.47-3.04)	0.47 <sup>a</sup> (<0.47-3.04)	0.47 <sup>a</sup> (<0.47-1.36)
Mercado <sup>2</sup>	6.36 <sup>a</sup> (5.01-7.14)	6.85 <sup>b</sup> (2.99-8.18)	5.12 <sup>a</sup> (1.99-6.36)	1.10 <sup>b</sup> (<0.47-3.04)	0.86 <sup>b</sup> (<0.47-3.04)	0.55 <sup>b</sup> (<0.47-3.04)

<sup>1</sup> Mediana (límite inferior-límite superior) de 40 muestras de invernadero.

<sup>2</sup> Mediana (límite inferior-límite superior) de 30 muestras de mercado.

<sup>3</sup> El límite de detección de la técnica fue 0.47 Log NMP g<sup>-1</sup>

Los valores seguidos de letras iguales en la misma columna indican que no existen diferencias según la prueba de Wilcoxon (p<0.05).

En los puestos del mercado se observó que las fresas se encontraban almacenadas en cajas de madera o plástico, a temperatura ambiente y sin ningún tipo de protección. En cuanto a las fresas obtenidas del invernadero, como se mencionó previamente, estas fueron cosechadas por personal que labora en la empresa.

La mediana del contenido de BMA en las muestras de fresa fresca obtenidas de invernadero y en el mercado “Lomas de casa blanca” fue superior a los 6 Log UFC g<sup>-1</sup>. En México no existe una Norma Oficial que haga referencia a los límites permisibles en este tipo de producto, sin embargo, de acuerdo con lo decretado por la legislación española, el límite de mesófilos aerobios en productos mínimamente procesados es de 7 Log UFC g<sup>-1</sup>, mientras que en EE.UU. es de 6 Log UFC g<sup>-1</sup> (Ministerio de la Presidencia, 2000). Basados en esa información, los valores de la mediana de las muestras de ambos sitios de muestreo se encontraron dentro solo del criterio español, es decir, de acuerdo con la legislación estadounidense no serían aceptadas.

Es importante mencionar que conteos altos de mesófilos aerobios (en ambos puntos de muestreo) podrían estar relacionados con un manejo deficiente del producto.

Con respecto al contenido de levaduras, las muestras obtenidas en el mercado mostraron conteos más altos (6.85 Log UFC g<sup>-1</sup>) que las provenientes del invernadero (5.39 Log UFC g<sup>-1</sup>). Caso contrario, el contenido de mohos fue mayor en las fresas del invernadero (5.69 Log UFC g<sup>-1</sup>) que en las fresas del mercado (5.12 Log UFC g<sup>-1</sup>) (Tabla 9, Figura 4). Un criterio microbiológico recomendado por la FDA en frutas mínimamente procesadas es que el límite máximo de levaduras debe ser 10<sup>3</sup> UFC g<sup>-1</sup> (Dermesonlouoglou, 2018); sin embargo, en este trabajo, ambas medianas sobrepasan esta recomendación, además se observó que, las fresas provenientes del mercado presentaron un rápido deterioro.

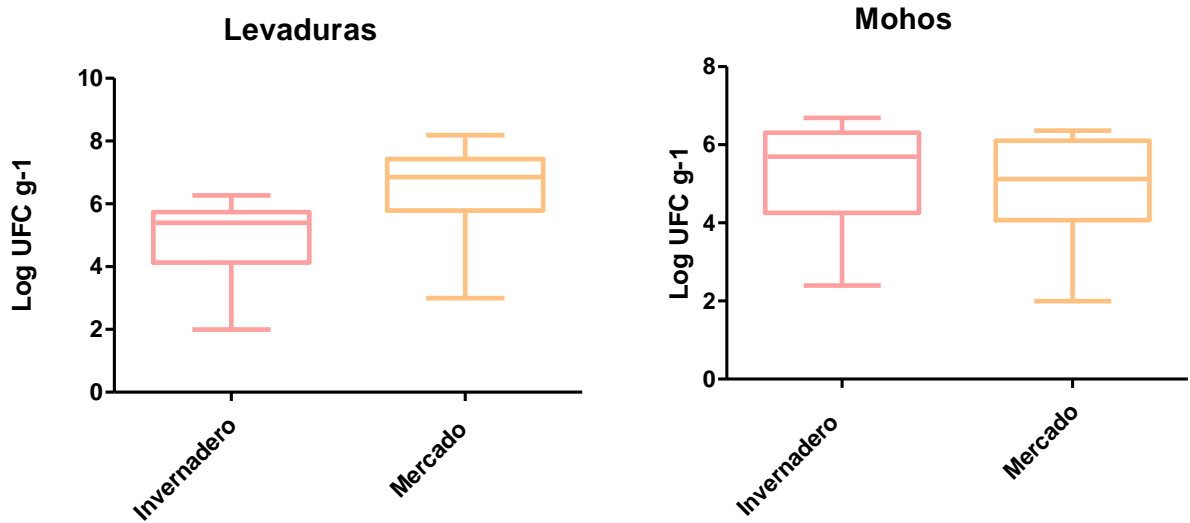


Figura 4. Contenido de levaduras y mohos en fresa fresca en función del sitio de muestreo.

Las elevadas concentraciones de hongos en las fresas provenientes del mercado pueden asociarse a contaminación ambiental ya que, en los diferentes puntos de venta, las fresas se encontraban expuestas a corrientes de aire. En el caso de las fresas del invernadero, estas no exhibieron una descomposición aparente, pero si la presencia de mohos (Figura 5). Por otro lado, la importancia de la presencia de hongos en los alimentos se debe a su capacidad para producir deterioro; sin embargo, desde el punto de vista de la inocuidad, la importancia de la cuantificación de los hongos filamentosos radica en su potencial capacidad de producir metabolitos tóxicos (micotoxinas) cuando su contenido es mayor de  $10^6$  UFC  $g^{-1}$  (Dermesonlouoglou, 2018). Se ha reportado que en fresas el principal hongo filamentosos causante de deterioro es *Botrytis cinerea* (France, 2013).



Figura 5. Moho presente en fresa fresca proveniente de invernadero.

Los valores de coliformes totales, fecales y *E. coli* fueron ligeramente mayores en las muestras de mercado respecto a las de invernadero (Tabla 9, Figura 6). En general, en los alimentos conteos elevados de coliformes totales indica malas prácticas higiénicas o agrícolas, así como la presencia de *E. coli* demuestra contaminación fecal. En las fresas los coliformes totales pueden ser parte del microbiota nativa. Claro está que, como en el caso de las fresas de invernadero que son empacadas en contenedores de plástico, la exposición a las fuentes de contaminación se reduce. En contraste, en las muestras de mercado se puede inferir un mal manejo sanitario ya que como se mencionó, estaban expuestas a diversas fuentes de contaminación desde insectos (moscas, hormigas, etc.), otros alimentos, hasta la manipulación de los clientes y de los mismos trabajadores de los puestos.

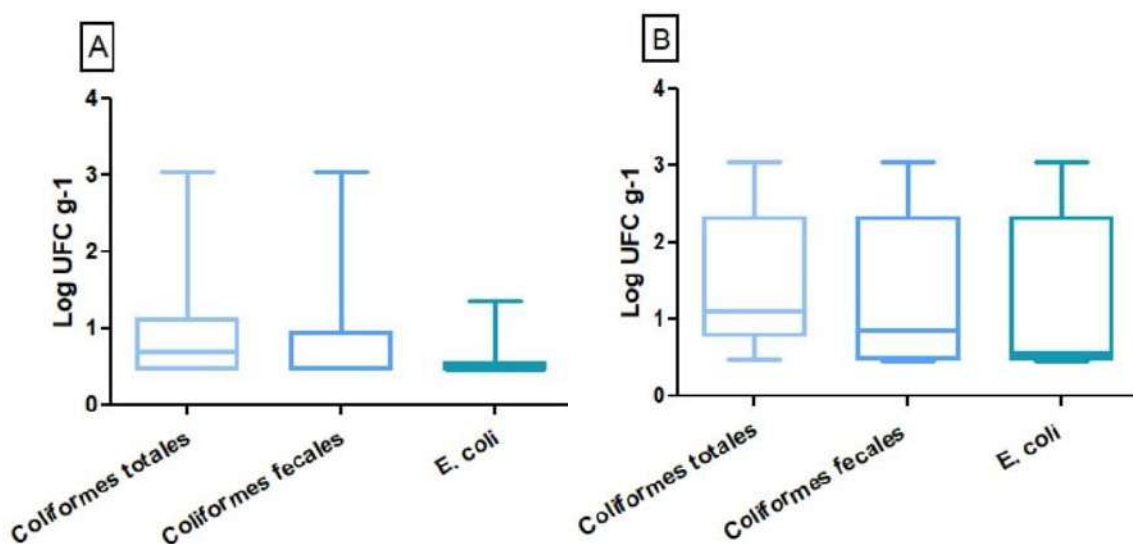


Figura 6. Contenido de coliformes totales, fecales y *E. coli* en fresas de invernadero (A) y mercado (B).

Aunque el contenido de coliformes fecales y la presencia de *E. coli* en las fresas del invernadero (Tabla 9, Figura 6), fue menor (valores por debajo del límite de detección de la técnica o muy cercanos), no deja de representar un hallazgo importante ya que se han reportado casos de enfermedades causadas por el consumo de fresas frescas contaminadas con *E. coli* O157:H7 y *E. coli* O26 (Palumbo *et al.*, 2013).

Por otro lado, aunque en la cuantificación de coliformes totales y fecales de ambos lugares se obtuvieron límites inferiores y superiores similares (Tabla 9), los datos observados en la Figura 6, demuestran que en el caso de las fresas de mercado los resultados presentaron una dispersión homogénea dentro de estos rangos, sin embargo, las fresas de invernadero mostraron una tendencia hacia los límites inferiores. En el caso de *E. coli*, en las fresas del mercado también se observó que el límite superior mostró valores más elevados (3.04 Log NMP g<sup>-1</sup>) en comparación con las muestras de invernadero (1.36 Log NMP g<sup>-1</sup>) y que más de la mitad de las muestras (30 muestras) se ubican en el límite de detección de la prueba. Es importante enfatizar que la presencia de *E. coli* es indicativa de contaminación fecal, por lo que, a pesar de encontrarse en una baja concentración, su detección en las fresas de invernadero, evidencia de malas prácticas agrícolas e higiénicas.



## VII. 2 Prevalencia de microorganismos patógenos

En la Tabla 10, se muestra la prevalencia de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en las fresas de invernadero y mercado. Ambos microorganismos fueron detectados en las muestras de invernadero, mientras que en las provenientes de mercado solo se detectó a *S. enterica*.

Tabla 10. Prevalencia de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresa fresca colectada de invernadero y mercado.

Sitio de muestreo	<i>L. monocytogenes</i> % (+/n) <sup>1</sup>	<i>S. enterica</i>
Invernadero	12.5 (5/40)	20.0 (8/40)
Mercado	0 (0/30)	56.7 (17/ 30)

<sup>1</sup> Porcentaje de positividad (número de muestras positivas/número de muestras analizadas).

En ambos sitios de muestreo, la prevalencia de *S. enterica* en fresas fue sorprendentemente elevada. En mercado fue de 56.7 %y en invernadero de 20 %. Los resultados obtenidos en las fresas de mercado sugieren que las condiciones de transporte, almacenamiento y venta a las cuales son expuestas las fresas, son higiénicamente cuestionables. Si bien, el número de muestras positivas a *S. enterica* (8/40) en las fresas obtenidas en el invernadero fue menor, es claro que dentro de las instalaciones existen fuentes de contaminación del patógeno.

La presencia de *S. enterica* en fresas para consumo en fresco representa un riesgo a la salud del consumidor, ya que es un microorganismo capaz de sobrevivir en el ambiente ácido de la fresa, de desarrollar en productos y ha sido implicado en brotes asociados al consumo de frutas ácidas (Knudsen *et al.*, 2001).

En relación a *L. monocytogenes*, se detectó en el 12.5 % de las muestras provenientes del invernadero y estuvo ausente en las fresas del mercado (Tabla 10). *L. monocytogenes* es una bacteria ambiental y de carácter psicrótrofo, por lo cual, en caso de que la contaminación de la fresa se produjera durante su cultivo o cosecha, el

mantener las muestras en refrigeración puede influir en su sobrevivencia (Flessa *et al.*, 2005). Por otro lado, se ha demostrado que la sobrevivencia y crecimiento de *L. monocytogenes* en diferentes productos agrícolas (melones, hongos y germinados) puede verse afectada por la concentración inicial de la microbiota o su aumento (Marik *et al.*, 2020).

Es importante tener en cuenta que detectar de forma esporádica o no encontrar microorganismos patógenos en los alimentos, recién cosechados como las fresas de los invernaderos, no es garantía de que estos no se contaminen a lo largo de la cadena de comercialización. Por ello es indispensable implementar controles para evitar la contaminación y garantizar la inocuidad. Los resultados obtenidos muestran claramente que el consumo de fresa fresca puede implicar un riesgo para el consumidor. Desafortunadamente, la información que existe acerca de la capacidad de patógenos a humanos para sobrevivir y/o crecer en esta matriz alimentaria es escasa.

Como se mencionó previamente, en las fresas también se detectó la presencia de *E. coli*, microorganismo indicador de contaminación fecal e “índice” de *Salmonella* (Holvoet *et al.*, 2014). En la Tabla 11, se observa la relación de la presencia de ambos microorganismos en las fresas.

*E. coli* y *S. enterica* no se detectaron en 26 (65 %) y 6 (20 %) muestras de invernadero y mercado, respectivamente. Sin embargo, ambos fueron detectados en 5 (12.5 %) muestras de invernadero y en 11 (36.6 %) muestras de mercado. Por otro lado, *S. enterica* fue detectada en ausencia de *E. coli* en 3 (7.5 %) muestras del invernadero y 6 (20 %) de mercado.

Tabla 11. Presencia o ausencia de *E. coli* y *S. enterica* en fresas frescas obtenidas en invernadero y mercado.

Procedencia	Microorganismo	<i>S. enterica</i>		
		Ausencia	Presencia	Total
Invernadero	Ausencia	26 <sup>a</sup>	3	29
	Presencia	6	5	11
	Total	32	8	40
Mercado	Ausencia	6	6	12
	Presencia	7	11	18
	Total	13	17	30

<sup>a</sup> Número de muestras.

Leal-Cervantes *et al.* (2018) observaron que en jitomate Cherry proveniente de supermercados y mercados, la correlación de *E. coli* como microorganismo índice de *Salmonella* funcionó mejor en las muestras provenientes de mercado ya que solo en 20 % de las muestras no se encontraron ambos microorganismos. Orozco *et al.* (2018), analizaron la relación entre estos dos microorganismos en 681 muestras de tomate, detectando *E. coli* en 5 muestras y *Salmonella* en 19, con una correlación de 98 % entre ambos microorganismos. Estos estudios indican que la correlación entre *E. coli* y *Salmonella* puede variar dependiendo del lugar de procedencia y de las condiciones de almacenamiento del alimento.

En este estudio la correlación entre la presencia de *E. coli* y *S. enterica* fue de 62.5 % y 64.8 % en las muestras de invernadero y mercado respectivamente, por lo cual, el lugar de procedencia de las muestras parece no ser un factor relevante. Aunque el porcentaje de correlación es mayor del 50% no es suficiente para sugerir que en fresas frescas *E. coli* cumple su papel de microorganismo índice de *Salmonella*. Esto puede deberse a las características propias de las fresas a las cuales *S. enterica* es capaz de sobrevivir, como el bajo nivel de pH el cual podría afectar la viabilidad de *E. coli* (Knudsen *et al.*, 2001).

### VII.3 Caracterización física y química de fresa fresca

La caracterización física y química de los frutos se llevó a cabo en fresas colectadas en invernadero. En la Tabla 12, se muestran los resultados obtenidos de algunas de las propiedades cualitativas que se evalúan en fresas frescas para determinar su calidad de exportación.

Tabla 12. Características físicas y químicas de fresa fresca variedad Albión.

Parámetro	Valor
Sólidos solubles (°Brix)	4.87 ± 0.94
pH	3.26 ± 0.17
Ácido cítrico (%)	0.48 ± 0.09
Firmeza (N)	1.09 ± 0.20
L*	28.37 ± 2.02
a*	26.58 ± 3.56
b*	16.48 ± 3.51

<sup>1</sup> Promedio de 15 mediciones ± desviación estándar.

Existen diversos atributos que son deseables en una fresa para clasificarla como de alta calidad, los más específicos son, la madurez (la cual está dada por el color, los sólidos solubles y la firmeza), el tamaño, sabor (determinado por la relación entre los sólidos solubles y la acidez total titulable) y el nivel promedio de defectos. De acuerdo a lo reportado por el Ministerio de Agroindustria Argentino (2012), una fresa de calidad debe presentar, mínimo 7 ° Brix. López *et al.* (2018) reportaron en la misma variedad 5.94 °Brix, sin embargo, estos valores son menores que lo reportado por González y colaboradores (2018), quienes indicaron en fresa variedad Chandler 7.33 °Brix de sólidos solubles, sin embargo, su contenido de ácido cítrico fue mayor (0.69 %). En este estudio, las fresas de invernadero presentaron una media de 4.87 °Brix, por lo cual se esperaría que debido a la baja concentración de sólidos solubles el sabor de la fresa sería ligeramente ácido. En cuanto al color, se determinaron tres componentes de color: L\* (0=negro a 100=blanco), a\* (-a\*=verde hasta +a\*=rojo) y b\* (-b\*=azul hasta +b\*=amarillo). Se observó que los

frutos presentaron un color rojo luminoso con un ligero toque amarillento que podría asociarse a la selección de frutos con un nivel 5 de madurez de acuerdo a su clasificación por color. Los resultados de los parámetros de color y el contenido de sólidos solubles indican que las fresas colectadas para llevar a cabo este estudio no se clasifican como de alta calidad.

#### VII. 4 Optimización del tratamiento de descontaminación

Las evaluaciones del mejor tratamiento de calentamiento óhmico que pudiera ser aplicado a las fresas sin afectar sus características físicas y químicas, se iniciaron con un voltaje de 120 V y a temperaturas de 50, 55, 60 y 65 °C, cada tratamiento se aplicó durante 2 y 3 min. Al término de la aplicación de cada uno de los tratamientos se evaluaron las características físicas y químicas (Tabla 13). Como control se incluyeron fresas a las que no se les aplicó ningún tratamiento.

Tabla 13. Efecto del calentamiento óhmico en las características físicas y químicas de fresa tratada con 120 V.

Tratamiento	Sólidos solubles (°Brix)*	Ácido cítrico* (%)	pH*	ΔE
Control	4.5 ± 0.50 <sup>a</sup>	0.409 ± 0.036 <sup>a</sup>	3.04 ± 0.03 <sup>ab</sup>	
50 °C/ 2 min	3.83 ± 0.57 <sup>a</sup>	0.375 ± 0.007 <sup>a</sup>	3.10 ± 0.01 <sup>ab</sup>	40.83 <sup>a</sup>
55 °C/ 2 min	4.33 ± 0.57 <sup>a</sup>	0.354 ± 0.029 <sup>a</sup>	3.03 ± 0.01 <sup>ab</sup>	41.13 <sup>a</sup>
60 °C/ 2 min	3.66 ± 0.28 <sup>a</sup>	0.379 ± 0.019 <sup>a</sup>	3.30 ± 0.00 <sup>ab</sup>	41.25 <sup>a</sup>
65 °C/ 2 min	4.60 ± 0.52 <sup>a</sup>	0.332 ± 0.012 <sup>b</sup>	3.26 ± 0.02 <sup>ab</sup>	41.93 <sup>a</sup>
50 °C/ 3 min	3.66 ± 0.57 <sup>a</sup>	0.349 ± 0.026 <sup>a</sup>	3.23 ± 0.11 <sup>ab</sup>	41.98 <sup>a</sup>
55 °C/ 3 min	4.33 ± 0.57 <sup>a</sup>	0.392 ± 0.029 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.06 <sup>ab</sup>	41.77 <sup>a</sup>
60 °C/ 3 min	4.33 ± 0.57 <sup>a</sup>	0.349 ± 0.041 <sup>a</sup>	3.45 ± 0.10 <sup>a</sup>	43.28 <sup>a</sup>
65 °C/ 3 min	4.30 ± 0.57 <sup>a</sup>	0.268 ± 0.021 <sup>b</sup>	3.39 ± 0.02 <sup>ab</sup>	44.62 <sup>a</sup>

\* Promedio de tres mediciones  $\pm$  desviación estándar. Dentro de las columnas los valores seguidos de la misma letra indica que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por prueba de Tukey.

La determinación de sólidos solubles, acidez, pH y el cambio total de color ( $\Delta E$ ) posteriores al tratamiento óhmico no mostraron diferencias significativas en las temperaturas de 50 °C y 60 °C durante 2 y 3 min ( $p \geq 0.05$ ), sin embargo, en el tratamiento de 65 °C en ambos tiempos produjo una disminución en el porcentaje de ácido cítrico. Aunque este cambio estadísticamente no fue detectable ( $p \geq 0.05$ ), en todos los tratamientos con duración de 3 min y el tratamiento de 65 °C/ 2 min, se observó un ligero oscurecimiento y decaimiento del cáliz, lo cual corresponde con el aumento del  $\Delta E$  (Figura 7). Por lo tanto, estos tratamientos fueron descartados y se eligió como tiempo de tratamiento y temperatura máxima, 2 min y 60 °C, respectivamente.

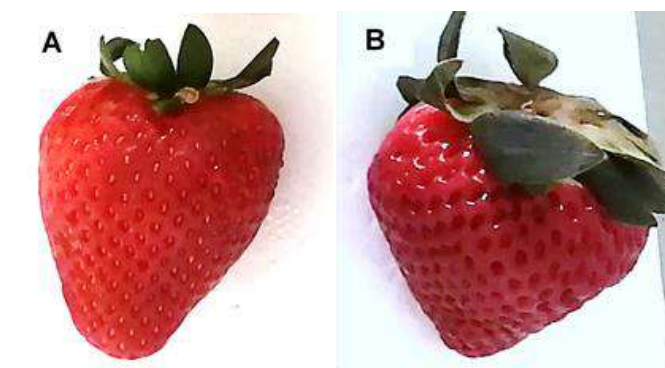


Figura 7. Fresas tratadas con 120 V a diferentes temperaturas.  
A) Control sin tratamiento; B) 65 °C/ 2 min.

#### **VII. 4 Efecto del calentamiento óhmico sobre la inactivación de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresas**

Para evaluar el efecto del calentamiento óhmico en la inactivación *S. enterica* y *L. monocytogenes* se realizó la inoculación de las fresas con 8.97 UFC/mL y 8.63 UFC/mL respectivamente. Después del secado las poblaciones de *S. enterica* y *L. monocytogenes* fueron de 6.60 Log UFC/fresa y 7.05 Log UFC/fresa, respectivamente; estas cifras fueron las poblaciones microbianas iniciales para evaluar el efecto de los tratamientos óhmicos.

Inicialmente se evaluó el efecto de la aplicación del calentamiento térmico convencional sobre la viabilidad de ambos microorganismos. Se aplicaron tratamientos térmicos a 25 °C (control), 50, 55 y 60 °C durante 2 min, también se incluyó un tratamiento de 90 °C durante 5 s para simular una condición de escaldado (Figura 8).

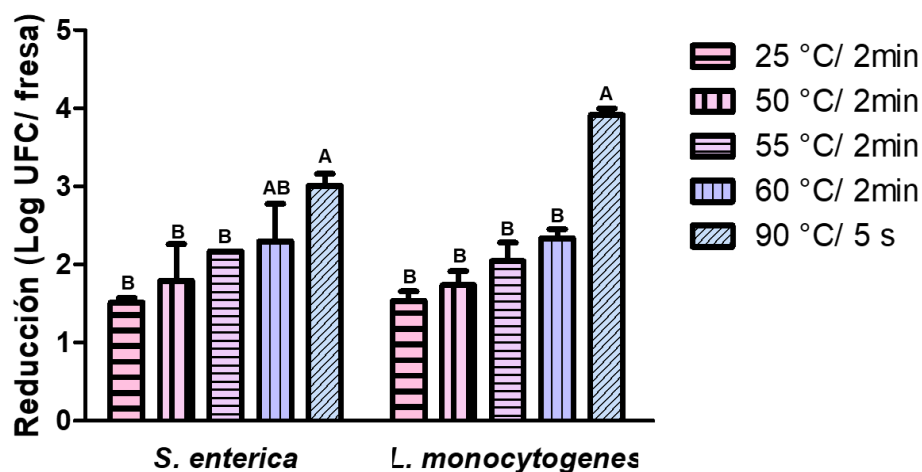


Figura 8. Reducción de poblaciones de *L. monocytogenes* y *S. enterica* por la aplicación de calentamiento convencional en fresa fresca.

El tratamiento de 90 °C fue el que causó mayor reducción de las poblaciones de *S. enterica* (3.01 UFC/fresa) y *L. monocytogenes* (3.91 Log UFC/fresa), sin embargo, este tratamiento también fue el que generó más afectación física al fruto, como oscurecimiento, decaimiento del cáliz y pérdida de la firmeza aparente (Figura 9). Por lo tanto, se decidió descartar el tratamiento de 90 °C/ 5 s como opción para la descontaminación de fresa para su venta en fresco. El tratamiento a 60 °C/ 2 min fue el que redujo la mayor población de ambos microorganismos y por lo tanto se eligió esta temperatura. En ensayos posteriores se disminuyó el tiempo de aplicación y se aumentó el voltaje de los tratamientos para tratar de obtener mayores reducciones en las poblaciones microbianas sin afectar la calidad de las fresas.

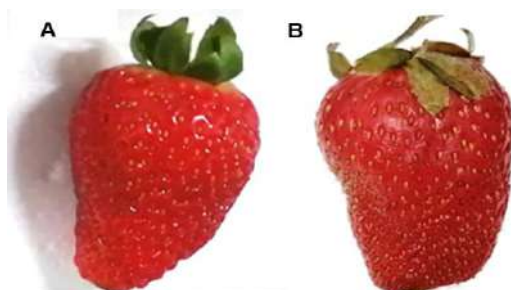


Figura 9. Fresas tratadas a diferentes temperaturas sin voltaje.  
A) Control sin tratamiento, B) 90 °C/ 5 s.

Las fresas se trataron con calentamiento óhmico a 60 °C durante 1 y 2 min con voltajes de 200, 250 y 290 V. Las características físicas y químicas de las fresas tratadas y las poblaciones sobrevivientes de *S. enterica* y *L. monocytogenes* se presentan en la Tabla 14 y Tabla 15, respectivamente.

Tabla 14. Efecto del calentamiento óhmico en las características físicas y químicas de fresas tratadas a 60 °C con diferentes voltajes y tiempos.

Tratamiento	Sólidos solubles* (°Brix)	Ácido cítrico* (%)	pH*	$\Delta E^*$	Firmeza ** (N)
Control	5.15 ± 0.94 <sup>a</sup>	0.522 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.31 ± 0.09 <sup>a</sup>		1.12 ± 0.10 <sup>a</sup>
200V/ 1 min	4.62 ± 0.95 <sup>a</sup>	0.519 ± 0.06 <sup>a</sup>	3.27 ± 0.06 <sup>a</sup>	7.26 ± 3.26 <sup>a</sup>	0.43 ± 0.19 <sup>b</sup>
200V/ 2 min	4.95 ± 0.64 <sup>a</sup>	0.535 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.30 ± 0.11 <sup>a</sup>	5.90 ± 4.49 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.08 <sup>b</sup>
250V/ 1 min	5.40 ± 0.90 <sup>a</sup>	0.578 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.28 ± 0.12 <sup>a</sup>	8.05 ± 3.38 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.16 <sup>b</sup>
250V/ 2 min	5.08 ± 0.60 <sup>a</sup>	0.539 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.22 ± 0.10 <sup>a</sup>	7.29 ± 3.57 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.10 <sup>b</sup>
290V/ 1 min	4.46 ± 0.50 <sup>a</sup>	0.523 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.07 <sup>a</sup>	8.31 ± 3.56 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.08 <sup>b</sup>
290V/ 2 min	4.91 ± 0.69 <sup>a</sup>	0.576 ± 0.08 <sup>a</sup>	3.19 ± 0.13 <sup>a</sup>	7.96 ± 3.27 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.10 <sup>b</sup>

\*Promedio de nueve mediciones ± desviación estándar.

\*\*Promedio de 18 mediciones ± desviación estándar.

Dentro de las columnas los valores seguidos de la misma letra indican que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por prueba de Tukey.



En las fresas tratadas, los sólidos solubles, la acidez total y el pH no mostraron diferencias significativas en relación al control., Maraei y colaboradores (2017), reportaron resultados similares en cuanto al pH y la acidez titulable en fresas cultivar Festival al aplicar irradiación y. En relación a la diferencia total de color, todos los valores de  $\Delta E$  sobrepasan las 5 unidades, por lo que, según la ISO 12647-2 todos los tratamientos indujeron cambios en el color de las fresas con respecto a las fresas control, los cuales serán perceptibles por los consumidores. Adicionalmente en los tratamientos en los cuales se aplicó el calentamiento óhmico durante 1 min se observó una  $\Delta E$  mayor que en los tratamientos de 2 min, esto puede deberse a diferentes causas ya que en las fresas el principal componente responsable de su color son las antocianinas las cuales son sensibles a diversos factores como la temperatura, pH, enzimas, oxígeno, etc. (Lacombe *et al.*, 2015).

Por otro lado, la evaluación de la firmeza no mostró diferencias entre las fresas control y los tratamientos ( $p \geq 0.05$ ); sin embargo, si fue posible observar algunas afectaciones al fruto como decaimiento y pérdida del color del cáliz, principalmente en los tratamientos de 290 V (Figura 10).

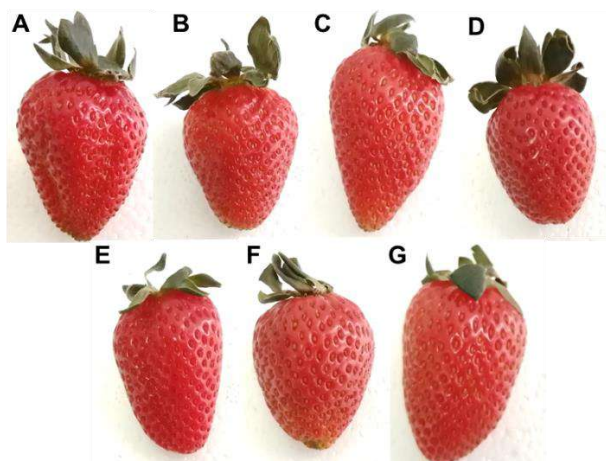


Figura 10. Fresas tratadas a 60 °C con diferentes voltajes y tiempos. De izquierda a derecha: A) control, B) 200 V/ 1 min, C) 200 V/ 2 min, D) 250 V/1 min, E) 250 V/ 2 min, F) 290 V/ 1min, G) 290 V/ 2 min.

Los seis tratamientos con calentamiento óhmico causaron una disminución significativa ( $p \geq 0.05$ ) de las poblaciones de *L. monocytogenes* y *S. enterica* (Tabla 15). Estos resultados demostraron que el voltaje al cual se aplicó el calentamiento óhmico si tiene un efecto en la inactivación de los microorganismos y que se correlaciona positivamente con el voltaje aplicado y el tiempo de exposición.

Tabla 15. Población sobreviviente de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresa fresca tratada con calentamiento óhmico.

Tratamiento	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. enterica</i>
	Log UFC/ fresa	
Control (60 °C/ 2min)	4.20 ± 0.50 <sup>a</sup>	3.88 ± 0.43 <sup>a</sup>
200 V/ 1 min	2.99 ± 0.49 <sup>b</sup>	3.23 ± 0.21 <sup>b</sup>
200 V/ 2 min	2.64 ± 0.40 <sup>bc</sup>	2.80 ± 0.42 <sup>bcd</sup>
250 V/ 1 min	2.87 ± 0.47 <sup>bc</sup>	2.93 ± 0.44 <sup>bc</sup>
250 V/ 2 min	2.73 ± 0.85 <sup>bc</sup>	2.56 ± 0.44 <sup>cd</sup>
290 V/ 1 min	2.42 ± 0.42 <sup>bc</sup>	2.48 ± 0.41 <sup>cd</sup>
290 V/ 2 min	2.13 ± 0.25 <sup>c</sup>	2.26 ± 0.53 <sup>d</sup>

Promedio de nueve mediciones ± desviación estándar.

Dentro de las columnas los valores seguidos de la misma letra indica que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por prueba de Tukey.

La inactivación de los microorganismos se debe principalmente a la formación de poros en la membrana celular (electroporación) cuando son expuestos a campos eléctricos de alto voltaje. Según la teoría de Zimmerman, la electroporación se produce debido a que en el interior de la célula existe una constante dieléctrica baja en relación con la del medio en el que se encuentran lo cual genera una diferencia de potencial (aproximadamente de 10 mV), también denominado potencial transmembrana. Si en estas condiciones se aplica un campo eléctrico externo, se producirá un incremento de cargas de diferente signo en ambos lados de la de membrana, de este modo, las cargas se atraerán entre si provocando su compresión, cuando el campo eléctrico aplicado

alcance un potencial transmembrana de 1 V, la fuerza de compresión de membrana provocará la formación de poros y dependiendo del tamaño y número de poros, la permeabilización de la membrana será reversible o irreversible. El incremento en la permeabilidad de la célula provoca un desequilibrio osmótico teniendo como consecuencia la ruptura de la membrana (Tomás *et al.*, 2000).

En el caso de *S. enterica*, los seis tratamientos aplicados no mostraron diferencias estadísticas ( $p \geq 0.05$ ); sin embargo, el tratamiento de 290 v/ 2 min fue el que mostró una mayor reducción (4.33 Log UFC/fresa) (Figura 11). En relación a *L. monocytogenes*, el tratamiento de 290 V/ 2 min redujo 4.91 Log UFC/fresa y solo fue diferente al tratamiento de 200 V/ 1 min que solo redujo 3.90 Log UFC/fresa. Sin embargo, debido a las afectaciones observadas en las fresas tratadas a 290 V, estos tratamientos se descartaron. Aunque el tratamiento de 250 V/ 2 min no alcanzó los 5 Log UFC de reducción establecidos por la FDA, se seleccionó el como mejor tratamiento ya que presentó reducciones de *S. enterica* (4.03 Log UFC/fresa) y *L. monocytogenes* (4.31 Log UFC/fresa) similares a los tratamientos con 290 V y, además provocó menos afectaciones a las fresas.

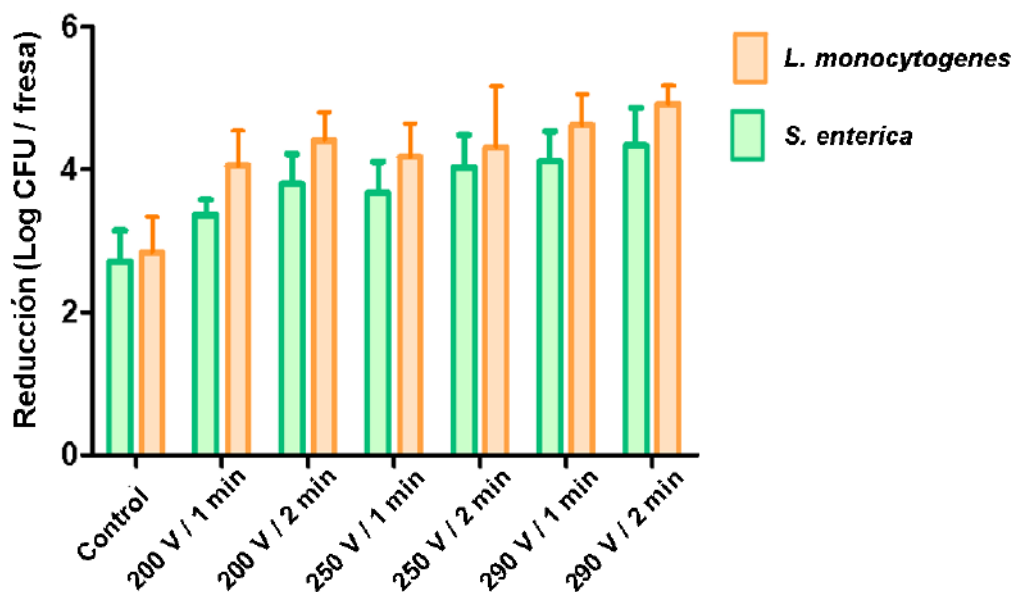


Figura 11. Reducción de las poblaciones de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresa tratada con calentamiento óhmico.

## VII. 5 Efecto de la aplicación de calentamiento óhmico en la vida de anaquel de fresas frescas

Una vez definidas las mejores condiciones de calentamiento óhmico para las fresas, se procedió a evaluar su efecto en la vida de anaquel durante su almacenamiento a 4 °C. La evolución de los cambios en las variables de calidad (pH, sólidos solubles, acidez y firmeza) de las fresas tratadas con calentamiento térmico y calentamiento óhmico y posteriormente almacenadas a 4 °C se muestran en la Figura 12.

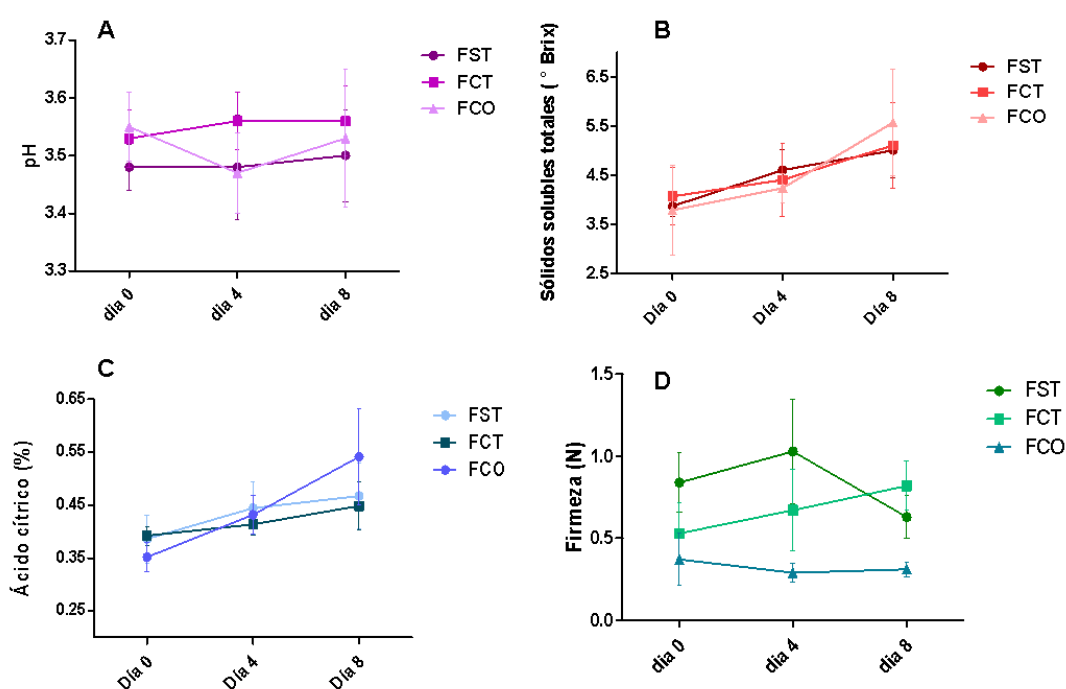


Figura 12. Efecto del calentamiento óhmico en las características de calidad de fresa almacenada a 4 °C. A) pH; B) Sólidos solubles totales; C) Acidez total titulable y D) Firmeza. Fresa fresca sin tratamiento (FST), fresa tratada con calentamiento térmico (60 °C/ 2min) (FCT), fresa tratada con calentamiento óhmico (60 °C/ 2 min y 250 V) (FCO).

Los valores de pH en las fresas tratadas y no tratadas oscilaron entre 3.4 y 3.7 y no mostraron diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ) (Figura 12 A). Los sólidos solubles aumentaron del día 0 al día 8 en las fresas sin tratamiento y en ambos tratamientos, siendo el tratamiento FCO el que presentó el mayor incremento (1.78 °Brix) (Figura 12 B). En relación a los cambios en la acidez total, éstos tampoco mostraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y las fresas sin tratamiento en cada día de

evaluación respectivamente ( $p \geq 0.05$ ), sin embargo, las fresas tratadas con calentamiento óhmico presentaron la mayor concentración (0.54 %) con un incremento a través del tiempo de 0.19 % (Figura 12 C). González *et al.* (2018) mencionan que una fresa de sabor aceptable debe presentar un mínimo de 7% de sólidos solubles y una acidez máxima de 0.8 %. Por lo anterior, podría esperarse una buena aceptación sensorial de las fresas tratadas con calentamiento óhmico ya que su contenido de acidez y °Brix se encuentran dentro de estos valores.

Independientemente del tratamiento, la firmeza de las fresas cambio de manera significativa ( $p < 0.05$ ) durante el almacenamiento (Figura 12 D). Los valores de firmeza del día 0 para las fresas tratadas con calentamiento térmico, calentamiento óhmico y las no tratadas fueron, 0.53, 0.37 y 0.84 N respectivamente. Las fresas tratadas con calentamiento óhmico mantuvieron una firmeza relativamente constante durante el cuarto día (0.29 N) y el octavo día (0.31 N) de almacenamiento. Por otro lado, las fresas tratadas con calentamiento convencional mostraron un aumento en la firmeza con el paso del tiempo, mientras que las fresas que no recibieron ningún tratamiento mostraron un decremento en su firmeza el día 4 (1.03 N) y al día 8 (0.82 N). Estos cambios se pueden deber principalmente a la pérdida de agua, ya que como se muestra en la Figura 13, las fresas tratadas con calentamiento óhmico presentaron exudado del zumo a partir del cuarto día de almacenamiento.

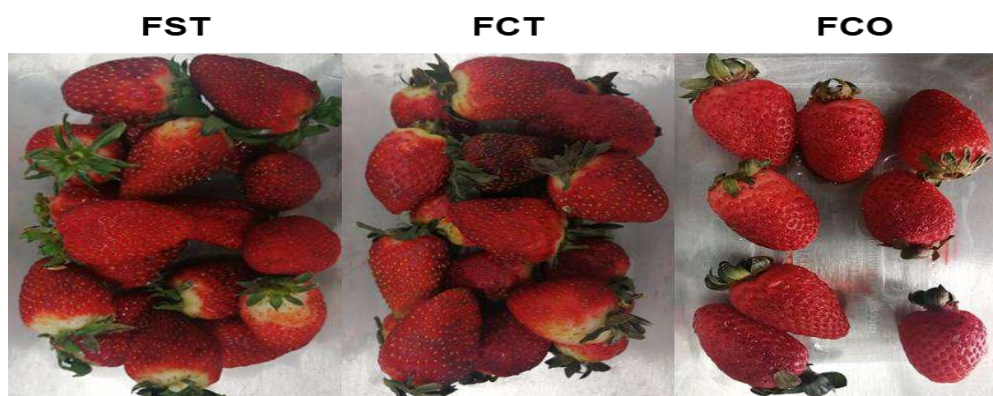


Figura 13. Fresas almacenadas a 4 °C durante 4 días. FST: fresas sin tratamiento; FCT: fresas con calentamiento térmico; FCO: fresa con calentamiento óhmico.

También se evaluó el efecto de los tratamientos en el color de las fresas durante el almacenamiento a 4 °C. En la Tabla 16 se muestran los cambios en las coordenadas L\*, a\* y b\* del espacio del color en fresas frescas sin tratamiento, fresas a las que se les aplicó calentamiento térmico y fresas con calentamiento óhmico.

Se observó que después de la aplicación del calentamiento óhmico, las fresas no mostraron diferencias en la luminosidad, pero sí disminuyeron sus valores de a y b, por lo que el consumidor podría percibir la fresa menos rojiza o con tonalidades ligeramente oscuras. Estos valores se mantuvieron constantes hasta el día 4 de almacenamiento y para el día 8 se observó un descenso significativo en la luminosidad con respecto a una fresa fresca.

Tabla 16. Efecto del calentamiento óhmico sobre las coordenadas de color en fresa almacenada a 4 °C.

Almacenamiento (Días)	Tratamiento	Coordenadas		
		L*	a*	b*
0	FST	30.05 ± 3.31 <sup>a</sup>	25.07 ± 3.31 <sup>a</sup>	15.83 ± 3.70 <sup>a</sup>
	FCT	28.01 ± 2.68 <sup>a</sup>	23.03 ± 4.27 <sup>ab</sup>	13.35 ± 3.26 <sup>b</sup>
	FCO	30.00 ± 3.31 <sup>a</sup>	20.60 ± 2.32 <sup>b</sup>	12.11 ± 1.72 <sup>b</sup>
4	FCT	28.04 ± 3.74 <sup>a</sup>	22.13 ± 3.51 <sup>b</sup>	14.41 ± 4.89 <sup>ab</sup>
	FCO	28.31 ± 2.45 <sup>a</sup>	21.50 ± 2.02 <sup>b</sup>	12.86 ± 1.28 <sup>b</sup>
8	FCT	27.79 ± 2.65 <sup>b</sup>	20.28 ± 2.55 <sup>b</sup>	14.14 ± 3.23 <sup>a</sup>
	FCO	27.75 ± 2.84 <sup>b</sup>	20.96 ± 1.98 <sup>b</sup>	11.04 ± 1.51 <sup>b</sup>

FST: fresa sin tratamiento; FCT: fresa con calentamiento térmico; FCO: fresa con calentamiento óhmico.

Promedio de 18 mediciones ± desviación estándar.

Dentro de cada columna por día y el control, los valores seguidos de la misma letra indica que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por prueba de Tukey.

La diferencia total de color muestra las variaciones absolutas de las coordenadas de color entre las fresas frescas y las fresas tratadas (Figura 14). Se observó que ambos tratamientos afectaron el color, sin embargo, el tratamiento de calentamiento térmico ocasionó un cambio mayor al cuarto día de almacenamiento ( $\Delta E$  6.58), mientras que con

la aplicación de calentamiento óhmico la mayor diferencia de color se observó al octavo día de almacenamiento ( $\Delta E$  7.04).

Simpson *et al.* (2007), señalaron que los tratamientos térmicos convencionales pueden causar pardeamiento y cambios en el sabor del producto, Guida *et al.* (2013) mencionan que el calentamiento óhmico aumenta la luminosidad del producto presentando una apariencia más fresca. Los efectos señalados por estos autores se observaron en las fresas tratadas con calentamiento térmico y calentamiento óhmico, principalmente en el cuarto día de almacenamiento (Tabla 16, Figura 14).

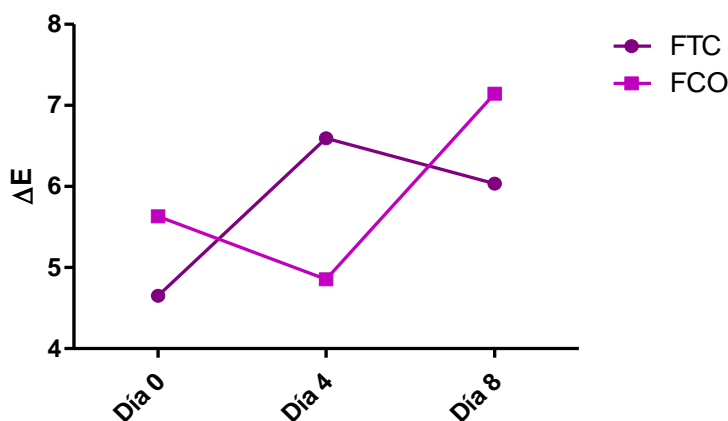


Figura 14. Efecto del calentamiento óhmico sobre la diferencia total de color ( $\Delta E$ ) en fresa almacenada a 4 °C. FCT: fresa sometida a calentamiento térmico; FCO: fresa sometida a calentamiento óhmico.

La fresa fresca presenta una vida de anaquel que va de 6 a 9 días dependiendo del cultivar y la forma de almacenamiento (Restrepo *et al.*, 2009). En este estudio, el almacenamiento de las fresas tratadas se detuvo al octavo día debido a que las características de las fresas tratadas con calentamiento óhmico presentaron grandes alteraciones en su firmeza y color, por tanto, su calidad para venta en fresco ya no era viable (Figura 15). Los cambios drásticos observados pudieron deberse a que además del efecto de electroporación, puede presentarse un efecto llamado electroplasmólisis, en el cual se produce la pérdida de integridad del tejido vegetal con el consiguiente desbalance del equilibrio osmótico (Simpson *et al.*, 2007).

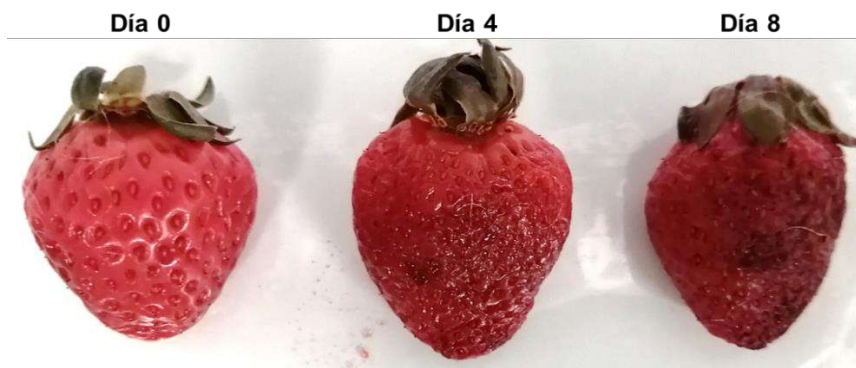


Figura 15. Fresas tratadas con calentamiento óhmico y almacenadas a 4 °C durante 8 días.

Además de medir las características físicas y químicas de las fresas tratadas, también se cuantificó el efecto de los tratamientos sobre microorganismos indicadores de calidad. La aplicación de calentamiento óhmico redujo las poblaciones de bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras de forma significativa ( $\sim 3$  Log) (Tabla 17, Figura 16) en comparación con las fresas tratadas con calentamiento y las fresas control (sin tratamiento).

Independientemente del tratamiento, el contenido de bacterias mesófilas disminuyó de manera constante hasta los ocho días de almacenamiento. En contraste, las fresas tratadas con calentamiento óhmico mostraron un aumento en el contenido de levaduras y hongos a los ocho días de almacenamiento (Tabla 17). Este comportamiento podría asociarse al efecto de electroplasmólisis ya que la pérdida de integridad de la pared celular de la fresa permite la salida y disponibilidad de sólidos solubles y agua que pueden ser utilizados por las levaduras y los hongos para desarrollar.



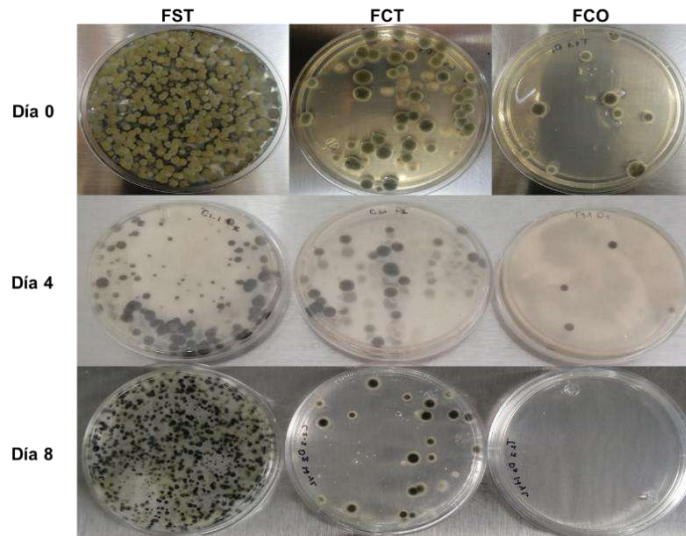


Figura 16. Hongos y levaduras nativas en: FST: fresas sin tratamiento; FCT: fresas con calentamiento térmico; FCO: fresas con calentamiento óhmico y almacenadas a 4 °C durante ocho días.

Tabla 17. Contenido de mesófilos aerobios, hongos y levaduras en fresas tratadas con calentamiento óhmico y almacenadas a 4 °C.

Microorganismo (Log UFC/g <sup>-1</sup> )	Tratamiento	Almacenamiento (Días)		
		0	4	8
Bacterias mesófilas aerobias	FST	6.38 ± 0.26 <sup>a</sup>	6.0 ± 0.56 <sup>a</sup>	5.04 ± 0.93 <sup>a</sup>
	FCT	5.57 ± 0.72 <sup>a</sup>	4.57 ± 1.19 <sup>b</sup>	3.94 ± 1.41 <sup>a</sup>
	FCO	3.57 ± 0.58 <sup>b</sup>	3.52 ± 0.89 <sup>b</sup>	2.15 ± 0.14 <sup>b</sup>
Hongos	FST	5.81 ± 0.79 <sup>a</sup>	5.35 ± 0.33 <sup>a</sup>	5.77 ± 0.34 <sup>a</sup>
	FCT	4.04 ± 0.52 <sup>b</sup>	3.17 ± 0.77 <sup>b</sup>	3.64 ± 0.80 <sup>b</sup>
	FCO	2.56 ± 0.53 <sup>c</sup>	2.44 ± 0.57 <sup>b</sup>	2.70 ± 0.19 <sup>c</sup>
Levaduras	FST	4.50 ± 0.83 <sup>a</sup>	4.39 ± 1.54 <sup>a</sup>	4.63 ± 0.56 <sup>a</sup>
	FCT	3.69 ± 1.29 <sup>ab</sup>	2.70 ± 0.75 <sup>b</sup>	3.73 ± 0.95 <sup>a</sup>
	FCO	2.41 ± 0.38 <sup>b</sup>	2.09 ± 0.10 <sup>b</sup>	2.35 ± 0.38 <sup>b</sup>

FST: fresa sin tratamiento; FCT: fresa con calentamiento térmico; FCO: fresa con calentamiento óhmico.

Promedio de seis mediciones ± desviación estándar.

Dentro de cada fila de microorganismo y columnas por día, los valores seguidos de la misma letra indica que no existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por prueba de Tukey.

## VII. 6 Deshidratación de fresas tratadas con calentamiento óhmico

Debido a que el tratamiento de calentamiento óhmico seleccionado (250 V / 60 °C/ 2 min) probó ser efectivo para la descontaminación de fresas, pero causó alteraciones a las características de calidad del fruto, se decidió someter las fresas tratadas con calentamiento óhmico a deshidratación con aire caliente para evaluar si el calentamiento óhmico pudiera ser una opción para garantizar la inocuidad de fresas deshidratadas. Se evaluaron dos condiciones de temperatura de deshidratación (50 y 60 °C) y dos grosores de la rebanada de fresa (3 y 6 mm).

La deshidratación por aire caliente generalmente muestra dos etapas. La primera etapa se produce de forma rápida ya que aquí se elimina la mayor parte del agua libre, y en la segunda etapa se elimina el agua que se encuentra ligada al alimento y esto puede tardar hasta dos terceras partes del tiempo de deshidratación (Karam *et al.*, 2016). Este efecto se puede apreciar en la Figura 18, donde se muestran la pérdida de  $A_w$  de los tratamientos de deshidratación. En el tratamiento a 50 °C en rebanadas de 3 y 6 mm de grosor, la eliminación del agua libre tardó aproximadamente 3 y 4 horas, y para llegar a una  $A_w$  final de 0.42 y 0.48, fueron necesarias 5 y 6 horas, respectivamente. En el tratamiento a 60 °C, la primera etapa de deshidratación se produjo a las 2 y 3 horas de tratamiento en las rebanadas de 3 y 6 mm y la eliminación del agua ligada, independientemente del espesor de la rebanada de fresa, requirió 4 horas para tener una  $A_w$  de 0.44 (Figura 17).

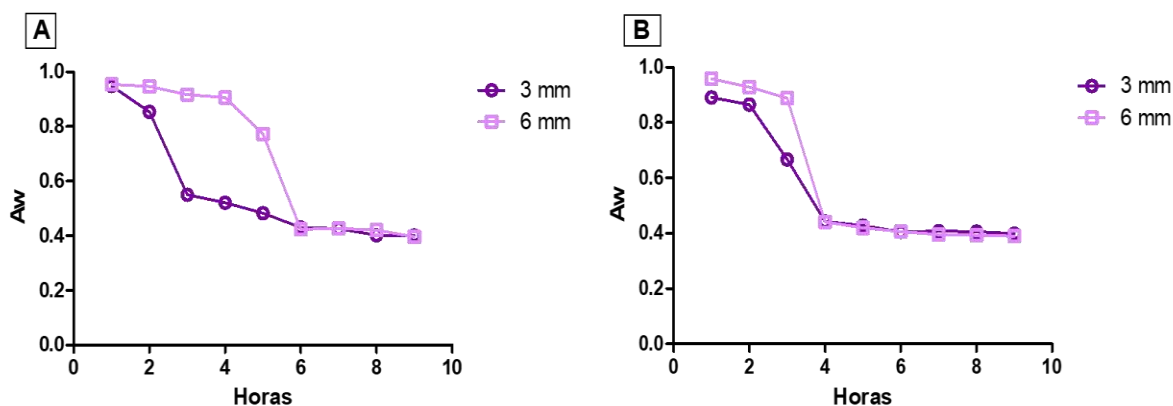


Figura 17. Curva de deshidratación con aire caliente de rebanadas de fresa tratadas con calentamiento óhmico. A) 50 °C; B) 60 °C.

Un aspecto a considerar durante la deshidratación es la temperatura utilizada ya que la aplicación de aire a altas temperaturas puede producir efectos sobre el color, el contenido de fenoles, la actividad antioxidante y otros compuestos bioactivos (Sehrawat *et al.*, 2018). En los alimentos deshidratados, entre las características de calidad que se miden con frecuencia, se encuentran el contenido de sólidos solubles, la acidez y el pH, estas características y otras como el color y la textura tienden a variar dependiendo del proceso (tiempo, temperatura y velocidad del aire) (Moreno *et al.*, 2014). Esto se pudo observar en el tratamiento de 60 °C, donde, a partir de la quinta hora de tratamiento, las láminas de fresa presentaron un color más oscuro en comparación con las fresas tratadas a 50 °C (Figura 18).

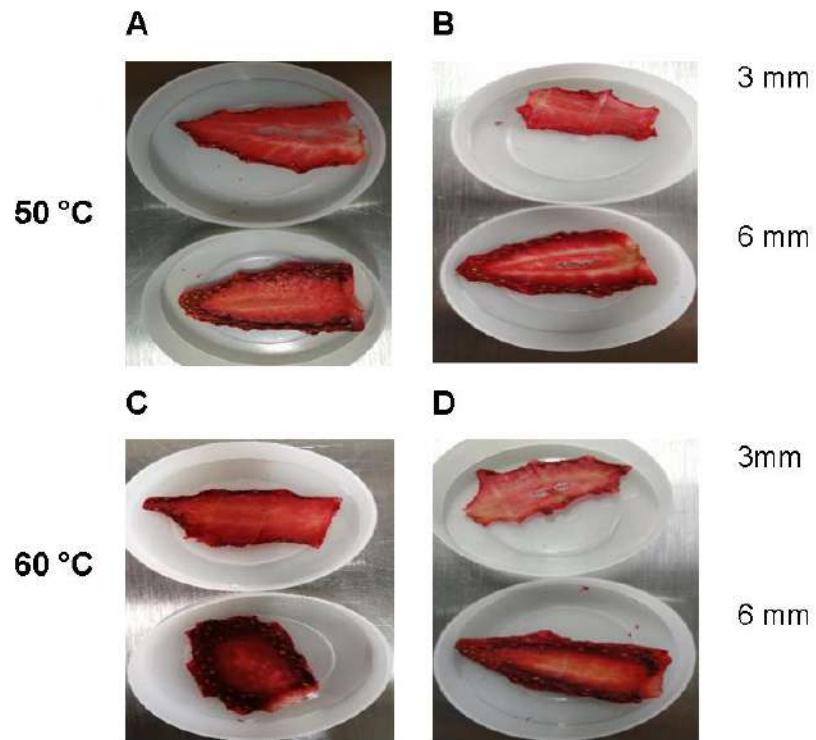


Figura 18. Deshidratación con aire caliente de láminas de fresa tratadas con calentamiento óhmico. A) 6 horas; B) 7 horas; C) 5 horas; D) 6 horas

Por lo anterior para continuar con la evaluación del efecto combinado de calentamiento óhmico y deshidratación con aire caliente sobre la viabilidad de los microorganismos, se seleccionó el tratamiento de deshidratación a 50 °C durante 7 horas en láminas de fresas de 6 mm de grosor con una  $A_w$  final de 0.40 y 1.41 % de humedad (Figura 19).

Los cambios producidos por la aplicación de ambos tratamientos en la calidad de láminas de fresa se muestran en la Tablas 18 y 19.

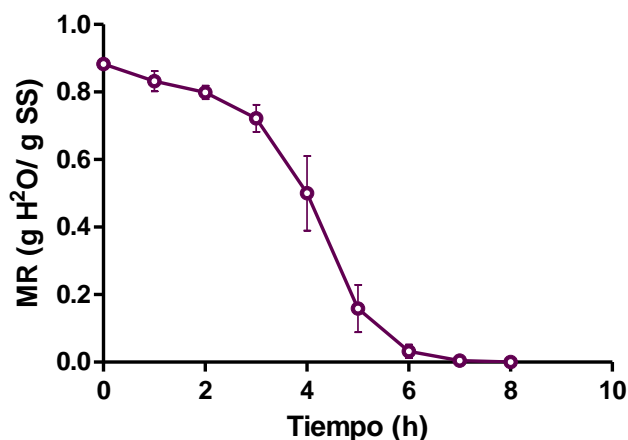


Figura 19. Cinética de deshidratación con aire caliente (50 °C) de láminas de fresa tratadas con calentamiento óhmico. Cada punto representa la media  $\pm$  desviación estándar de cinco datos.

Tabla 18. Efecto de la combinación de calentamiento óhmico y deshidratación con aire caliente en las características físicas y químicas de fresa fresca.

Parámetro	Valor
Sólidos solubles (°Brix)	11.23 $\pm$ 1.29
pH	3.29 $\pm$ 0.02
Ácido cítrico (%)	1.04 $\pm$ 0.13
Firmeza (N)	11.78 $\pm$ 2.33

<sup>1</sup> Promedio de 6 mediciones  $\pm$  desviación estándar.

Las láminas de fresa deshidratadas registraron un aumento de aproximadamente 6 °Brix con respecto a la fresa fresca (4.87 °Brix), esto se debe a que, durante el proceso de pérdida de agua, los azúcares y otros nutrientes se concentran y están presentes en una mayor cantidad en igualdad de peso, como el contenido de ácido cítrico, el cual presentó un aumento de aproximadamente 0.50 %; el pH de las fresas tratadas no mostró

diferencias en comparación con la fresa fresca. También se produjo un aumento en la firmeza de las láminas de fresa deshidratada, (10.69 N); esto puede deberse a que, durante la deshidratación, la pérdida de agua provoca alteraciones en la conformación espacial del tejido, produciendo rigidez en la estructura del producto (Sanabria *et al.*, 2018).

Con relación al color, las láminas de fresa deshidratada mostraron cambios con respecto a la fresa fresca, principalmente disminuyendo la luminosidad (L\*) y aumentando en la coordenada (a\*) (Tabla 19).

Tabla 19. Efecto de la combinación de calentamiento óhmico y deshidratación en el color interno de fresa (corte transversal).

Coordenadas de color	Fresa Fresca	Fresa deshidratada
L*	45.7 ± 7.13 <sup>a</sup>	37.7 ± 7.33 <sup>b</sup>
a*	19.45 ± 7.15 <sup>b</sup>	33.01 ± 3.86 <sup>a</sup>
b*	16.90 ± 5.79 <sup>a</sup>	17.32 ± 1.86 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Promedio de 18 mediciones ± desviación estándar. los valores seguidos de la misma letra indica que no existen diferencias significativas (p< 0.05) por prueba de Tukey.

En cuanto a la coordenada b\*, no se observaron diferencias significativas entre la fresa fresca y la fresa deshidratada, resultados que concuerdan con lo reportado por Ruiz *et al.* (2005) en fresas variedad Chandler. Los resultados indicaron que la fresa deshidratada presenta un color más oscuro y con un pigmento rojo más fuerte, estos cambios de color en alimentos sometidos a procesos térmicos pueden estar asociados a diversas causas, como la degradación de pigmentos (antocianinas, carotenoides y clorofila), así como la oxidación del ácido ascórbico y pardeamientos por reacciones de Maillard (Moreno *et al.*, 2014).

Otra característica de la fresa que puede influir en las variaciones del color es su contenido de compuestos fenólicos, debido a que algunos de estos son los responsables de su color característico. La aplicación de los tratamientos a las fresas frescas afectó el

contenido de compuestos fenólicos (Figura 20). El contenido de fenoles totales en fresas frescas (2.03 mg EAG/g fresa en peso húmedo), en fresas tratadas con calentamiento óhmico (1.74 mg EAG/g fresa en peso húmedo) y en fresas que recibieron el tratamiento de calentamiento óhmico y posteriormente se deshidrataron (1.00 mg EAG/g fresa en peso húmedo) se redujo. Los valores de fenoles totales que se obtuvieron en este estudio son mayores a los obtenidos por otros autores, quienes reportaron 1.71 mg EAG/g en peso húmedo de fresas frescas (Cao *et al.*, 2019), y 1.85 y 0.64 mg EAG/g en peso húmedo de fresas frescas y deshidratadas respectivamente (López *et al.*, 2017). Estas variaciones pueden deberse al genotipo analizado, el grado de madurez del fruto y al tiempo y temperatura de cosecha y almacenamiento (Gündüz *et al.*, 2014). Por otro lado, el descenso en el contenido de fenoles entre los tratamientos puede deberse a que, dentro de los compuestos fenólicos presentes, algunos son hidrosolubles y termosensibles por lo que pudieron verse afectados.

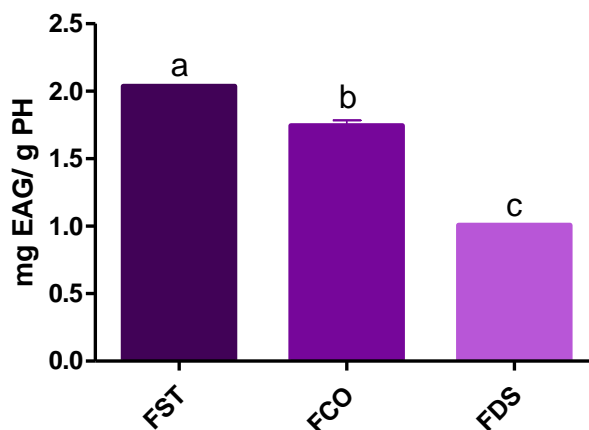


Figura 20. Cambios en el contenido de fenoles totales en fresas sin tratamiento (FST), fresas con calentamiento óhmico (FCO) y fresas con calentamiento óhmico y deshidratación con aire caliente (FDS). Cada barra representa la media  $\pm$  desviación estándar de tres datos. Letras diferentes representan diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) por prueba de Tukey.

### VII. 6.1 Inactivación de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresas tratadas con calentamiento óhmico y deshidratadas

La  $A_w$ , es la cantidad de agua libre en el alimento que se encuentra disponible para el crecimiento de microorganismos y diversas reacciones enzimáticas. La

deshidratación por flujo de aire caliente es una tecnología que elimina el agua libre disponible en el alimento mediante la evaporación; a  $A_w$  inferiores a 0.4, las reacciones microbiológicas y enzimáticas se ven disminuidas (Moreno *et al.*, 2014). Sin embargo, el proceso de deshidratación también puede generar un ambiente selectivo para el desarrollo de microorganismos resistentes a condiciones de baja  $A_w$ , como hongos levaduriformes y filamentosos los cuales pueden representar un riesgo a la salud por su capacidad para producir micotoxinas (Fernández Escartín, 2008), además de microorganismos patógenos que puedan estar presentes y sean capaces de sobrevivir y causar enfermedades. En 2016 en Estados Unidos, el Centro para el Control y prevención de Enfermedades reportó 17 brotes con 511 enfermos, asociados al consumo de productos de baja  $A_w$ , dentro de los cuales se encontraban semillas, granos, frijoles y nueces (CDC, 2016), y en 2017 se reportó un brote de *S. Typhimurium* vinculado al consumo de coco deshidratado (CDC, 2017 b).

Por lo anterior y habiendo analizado los cambios producidos por los tratamientos se continuo con la evaluación de la aplicación del tratamiento de calentamiento óhmico previamente seleccionado y su combinación con el tratamiento de deshidratación sobre la inactivación de los microorganismos patógenos. Las fresas se inocularon con aproximadamente  $8.97 \text{ Log UFC mL}^{-1}$  y  $8.63 \text{ Log UFC mL}^{-1}$  de *L. monocytogenes* y *S. enterica*, respectivamente, y se dejaron secar durante 50 min; después del secado del inóculo, la población de *L. monocytogenes* fue de  $7.20 \text{ Log UFC g}^{-1}$  y la de *S. enterica* de  $7.27 \text{ Log UFC g}^{-1}$ . Cuando se aplicó el calentamiento óhmico se logró una reducción de 4.44 y  $4.51 \text{ Log UFC g}^{-1}$ , de *L. monocytogenes* y *S. enterica* respectivamente. Sin embargo, al aplicar el tratamiento de calentamiento óhmico en combinación con la deshidratación con aire caliente, no fue posible cuantificar microorganismos viables, es decir las poblaciones de los microorganismos patógenos se encontraron por debajo del límite de detección de la técnica empleada ( $< 10 \text{ UFC}$ ). En otras palabras, la combinación de ambos tratamientos redujo las poblaciones de *L. monocytogenes* y *S. enterica* aproximadamente  $5.25$  y  $5.31 \text{ Log UFC g}^{-1}$ , respectivamente (Figura 21).



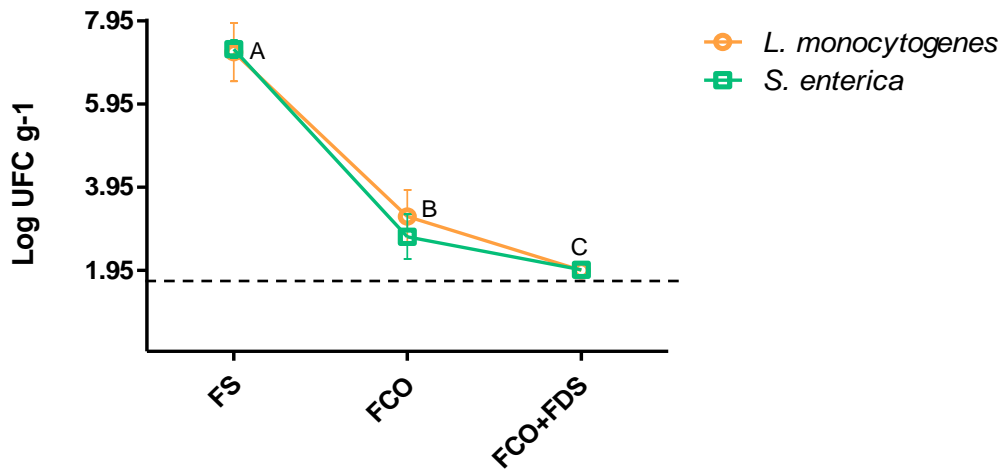


Figura 21. Reducción de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresa fresca inoculada (FS) por la aplicación de calentamiento óhmico (FCO) y calentamiento óhmico y deshidratación (FDS). Cada punto representa la media  $\pm$  desviación estándar de seis datos.

Estos resultados contrastan con lo reportado por DiPersio y colaboradores en 2005 y 2007 que alcanzaron reducciones de 0.81 y 2.6 log UFC g<sup>-1</sup> de *Salmonella* en rebanadas de papa y zanahoria deshidratadas a 60 y 80 °C, respectivamente. En otro trabajo Torres. (2021) reportó reducciones de aproximadamente 3 logaritmos de *S. enterica* en rebanadas de mango y jitomate deshidratadas a 50 °C durante 11 horas con aire caliente. Estos resultados parecen indicar que la sola aplicación de deshidratación con aire caliente no logra reducciones significativas de microorganismos patógenos como *S. enterica*. Por otro lado, en fresa, la combinación del calentamiento óhmico y la deshidratación con aire caliente como técnicas de barrera resultaron una buena opción que mejora la calidad del producto final y reduce efectivamente las poblaciones de *L. monocytogenes* y *S. enterica*. Estos resultados son similares a los obtenidos por Bai *et al.* (2020) que reportaron reducciones de ~6 Log UFC g<sup>-1</sup> mediante la combinación de deshidratación osmótica y deshidratación con aire caliente a 100 °C/1 h en moras azules.

Después de la aplicación de ambas tecnologías se realizó la cuantificación de los microorganismos indicadores de calidad. Si bien, en esta serie de experimentos no se cuantificó el contenido de bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras, si se compararon con los datos obtenidos previamente en las fresas frescas tratadas con

calentamiento óhmico (Tabla 17), donde, en el día cero la media poblacional de estos microorganismos fue de 3.57, 2.56 y 2.41 Log UFC g<sup>-1</sup> respectivamente. Al octavo día después de la aplicación de los tratamientos la mediana del contenido de bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras fue de 1.95 Log UFC g<sup>-1</sup>, valor que corresponde al límite de detección de la técnica (Tabla 20). Es decir, la aplicación de calentamiento óhmico y deshidratación reduce a un nivel mínimo las poblaciones microbianas que suelen usarse como indicadores de calidad sanitaria de los alimentos.

Tabla 20. Contenido de mesófilos aerobios, hongos y levaduras en fresa tratada con calentamiento óhmico y deshidratación y almacenada a 25 °C durante 8 días.

Bacterias mesófilas aerobias	Hongos	Levaduras
Log UFC g <sup>-1</sup>		
1.95 (1.95 – 2.00)	1.95 (1.95 – 2.30)	1.95 (1.95 – 2.00)

<sup>1</sup>Mediana (límite inferior-límite superior) de 9 muestras. El límite de detección de la técnica fue 1.95 Log UFC g<sup>-1</sup>.

Estos resultados reiteran que la aplicación combinada de calentamiento óhmico y deshidratación con aire caliente logra reducciones importantes no solo de microorganismos patógenos que representen un riesgo al consumidor, también de hongos y levaduras, los cuales son los principales deterioradores de la calidad y vida de anaquel de la fresa (Bovi *et al.*, 2019).

## VIII. CONCLUSIONES

Este trabajo proporciona información sobre el perfil microbiológico de fresas provenientes un mercado y de invernaderos, y destaca la necesidad de implementar medidas de control que mejoren la inocuidad de los frutos.

La elevada prevalencia de *L. monocytogenes* y *S. enterica* en fresas frescas evidencia la necesidad de establecer normas oficiales mexicanas que regulen su calidad microbiológica debido al riesgo de contraer enfermedades asociadas a su consumo.

El calentamiento óhmico (60 °C / 250 V durante 2 min) aplicado a fresas frescas logró reducciones significativas de *L. monocytogenes* y *S. enterica* (~ 4 Log UFC/ fresa), por lo cual, esta tecnología se perfila como una alternativa para garantizar la inocuidad de las fresas; sin embargo, debido a que las características de calidad de la fresa fueron afectadas durante el almacenamiento a 4 °C, la aplicación de calentamiento óhmico en fresa fresca se recomienda cuando su consumo sea inmediato o como un tratamiento de descontaminación previo a la aplicación de un método de conservación como congelación o deshidratación.

La combinación de calentamiento óhmico a 60 °C y 250 V durante 2 min y la deshidratación con aire caliente a 50 °C durante 7 horas en fresas logró reducciones de ~ 5 Log UFC g<sup>-1</sup>, por lo cual, esta combinación de tratamientos se considera efectiva para la descontaminación y conservación de fresa, además, al ser técnicas que no modifican su composición, el producto final conserva su clasificación de fruto mínimamente procesado.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Almenar, E., Del Valle, V., Catala, R., & Gavara, R. (2007). Active package for wild strawberry fruit (*Fragaria vesca* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), (pp. 2240-2245).
- Althaus, D., Hofer, E., Corti, S., Julmi, A., & Stephan, R. (2012). Bacteriological survey of ready-to-eat lettuce, fresh-cut fruit, and sprouts collected from the Swiss market. *Journal of Food Protection*, 75(7), (pp. 1338-1341).
- Alzamora, S., Guerrero, S., Nieto, A., & Vidales, S. (2004). Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Manual de capacitación. FAO. Italia, (pp. 7-9).
- Alzamora, S.M., Cerrutti, P., Guerrero, S. et López-Malo, A. (1995). Minimally processed fruits by combined methods. *Food preservation by moisture control, fundamentals and applications*. Eds. Welti-Chanes, J. & Barbosa-Cánovas, G., Technomic Pub. Co. Lancaster, USA, (pp. 463-492).
- Andrews, W. H., Jacobson, A., & Hammack, T. (2018). Bacteriological Analytical Manual (BAM) chapter 5: *Salmonella*. *Bacteriological Analytical Manual*. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-5-salmonella>. Consultado [10/2021]
- AOAC. (1990). AOAC Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., 15<sup>th</sup> (Volume 1), (pp.136–138).
- Artés-Hernández F., Gómez P.A., Artés F. (2013) Unit Processing Operations in the Fresh-Cut Horticultural Products Industry: Quality and Safety Preservation. Lima G., Vianello F. Eds. Food Quality, Safety and Technology. Springer, Vienna, (pp. 35-52).
- Aznar, R., & Alarcon, B. (2002). On the specificity of PCR detection of *Listeria monocytogenes* in food: a comparison of published primers. *Systematic and Applied Microbiology*, 25(1), (pp. 109-119).
- Bai, X., Campagnoli, M., Butot, S., Putallaz, T., Michot, L., & Zuber, S. (2020). Inactivation by osmotic dehydration and air drying of *Salmonella*, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, hepatitis A virus and selected surrogates on blueberries. *International Journal of Food Microbiology*, 320, 108522.

- Barba, F. J., Ahrné, L., Xanthakis, E., Landerslev, M. G., & Orlien, V. (2018). Innovative Technologies for Food Preservation. *Innovative Technologies for Food Preservation*, 2(3), (pp. 25–51).
- Barba, F. J., Mariutti, L. R. B., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., BarbosaCánovas, G. V., & Orlien, V. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science and Technology*, 67, (pp. 195–206).
- Barreto, M., Castillo-Ruiz, M., & Retamal, P. (2016). *Salmonella enterica*: una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Revista Chilena de Infectología*, 33(5), (pp. 547-557).
- Barrón, Y. (2017). Heat stability on enzyme activity of tyrosinase from *Agaricus bisporus* during ohmic heating. Instituto Politécnico Nacional. CICATA-IPN Unidad Querétaro. Querétaro, México.
- Beuchat, L. R., & Scouten, A. J. (2002). Combined effects of water activity, temperature and chemical treatments on the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157: H7 on alfalfa seeds. *Journal of Applied Microbiology*, 92(3), (pp. 382-395).
- Birmpa, A., Sfika, V., & Vantarakis, A. (2013). Ultraviolet light and ultrasound as non-thermal treatments for the inactivation of microorganisms in fresh ready-to-eat foods. *International Journal of Food Microbiology*, 167(1), (pp. 96-102).
- Bovi, G. G., FRÖHLING, A. N. T. J. E., Pathak, N., Valdramidis, V. P., & SCHLÜTER, O. L. I. V. E. R. (2019). Safety Control of Whole Berries by Cold Atmospheric Pressure Plasma Processing: A Review. *Journal of Food Protection*, 82(7), (pp. 1233-1243).
- Buchanan, R. L., Gorris, L. G., Hayman, M. M., Jackson, T. C., & Whiting, R. C. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: an update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, (pp.1-13).
- Butz, P., & Tauscher, B. (2002). Emerging technologies: Chemical aspects. *Food Research International*, 35(2–3), (pp. 279–284).
- Cámara de Comercio de Bogotá (CCB). (2015). Manual Fresa. Programa de Apoyo Agrícola y Agroindustrial, Vicepresidencia de Fortalecimiento Empresarial. Cámara de Comercio de Bogotá - Núcleo Ambiental S.A.S, Bogotá, Colombia, (pp. 13-39).

- Cao, X., Huang, R., & Chen, H. (2019). Evaluation of food safety and quality parameters for shelf-life extension of pulsed light treated strawberries. *Journal of Food Science*, 84(6), (pp. 1494-1500).
- CDC. (Centers for Disease Control and Prevention) (2017). Surveillance for foodborne disease outbreaks United States, 2015: Annual Report. In CDC. Disponible en: [https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/2015FoodBorneOutbreaks\\_508.pdf](https://www.cdc.gov/foodsafety/pdfs/2015FoodBorneOutbreaks_508.pdf)
- CDC. (Centers for Disease Control and Prevention) (2017b). Multistate Outbreak of *Salmonella* Typhimurium Infections Linked to Dried Coconut (Final Update). Disponible en: <https://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-03-18/index.html>
- CDC. (Centers for Disease Control and Prevention). (2016). Annual Summaries of Foodborne Outbreaks, Foodborne Outbreak Surveillance System, Food Safety, CDC. Disponible en: <https://www.cdc.gov/fdoss/annual-reports/index.html>
- Cosby, D. E., Cox, N. A., Harrison, M. A., Wilson, J. L., Buhr, R. J., & Fedorka-Cray, P. J. (2015). *Salmonella* and antimicrobial resistance in broilers: A review. *Journal of Applied Poultry Research*, 24(3), (pp. 408-426).
- Departamento de Agricultura de EE. UU., Servicio de Investigación Agrícola. USDA national nutrient for standard references, release 23. Fruits and fruit juices. (2010). Disponible en: <http://www.ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=8964>. Consultado [01/10/ 2011].
- Dermesonlouglou, E. K. (2018). Minimally Processed Fresh-Cut Peach and Apricot Snacks of Extended Shelf-Life by Combined Osmotic and High-Pressure Processing. 2016.
- De São José, J. F. B., & Vanetti, M. C. D. (2015). Application of ultrasound and chemical sanitizers to watercress, parsley and strawberry: Microbiological and physicochemical quality. *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), (pp. 946–952).
- DiPersio, P. A., Kendall, P. A., Yoon, Y., & Sofos, J. N. (2007). Influence of modified blanching treatments on inactivation of *Salmonella* during drying and storage of carrot slices. *Food Microbiology*, 24(5), (pp. 500–507)
- DiPersio, P. A., Yoon, Y., Sofos, J. N., & Kendall, P. A. (2005). Inactivation of *Salmonella* during drying and storage of carrot slices prepared using commonly recommended methods. *Journal of Food Science*, 70(4), (pp. 2–7).

- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2014). Scientific Opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 2 (Salmonella and Norovirus in berries). *EFSA Journal*, 12(6), (pp. 3706).
- Elikagaien, N. (2013). *Listeria monocytogenes*. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Arkaute, Araba, España. Disponible en: <http://www.elika.net/datos/riesgos/Archivo21/Listeria.pdf> . Consultado [04/2020]
- Elikagaien, N. (2013). *Salmonella*. Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Arkaute, Araba, España. Disponible en: [http://www.elika.net/datos/pdfs\\_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf](http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento82/1.Salmonella.pdf). Consultado [04/2020].
- Eng, S. K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N. S., Ser, H. L., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015). *Salmonella*: a review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), (pp. 284-293).
- FatSecret Platform API. (2008). Base de datos de alimento y contador de calorías. Frambuesa. Disponible en: <https://www.fatsecret.com.mx/calor%C3%ADas-nutrici%C3%B3n/gen%C3%A9rico/frambueas?portionid=58696&portionamount=100,000>. Consultado [03/2020]
- FatSecret Platform API. (2007). Base de datos de alimento y contador de calorías. Zarzamora. Disponible en: <https://www.fatsecret.com.mx/calor%C3%ADas-nutrici%C3%B3n/gen%C3%A9rico/zarzamora>. Consultado [03/2020]
- Fernández Escartín, E. (2008). *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. Segunda Edición. Querétaro.
- Feng, P., Weagant, S. D., Grant, M. A., Burkhardt, W., Shellfish, M., & Water, B. (2002). BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. *Bacteriological Analytical Manual*, 13(9), (pp. 1-13). Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>. Consultado [03/2021].
- Fernández, A., Noriega, E., & Thompson, A. (2013). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology. *Food Microbiology*, 33(1), (pp. 24-29).

- Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. (2021) Las fresas, frutas en forma de corazón que tienen un gran impacto nutricional. Disponible en: <https://www.gob.mx/fnd/articulos/las-fresas-frutas-en-forma-de-corazon-que-tienen-un-gran-impacto-nutricional?idiom=es> . Consultado [12/2021]
- Fideicomiso de Riesgo Compartido. (2017) Frutillas producidas en México con calidad exportación. Gobierno de México. Disponible en: <https://www.gob.mx/firco/articulos/frutillas-producidas-en-mexico-con-calidad-exportacion/> . Consultado [03/2020]
- Flessa, S., Lusk, D. M., & Harris, L. J. (2005). Survival of *Listeria monocytogenes* on fresh and frozen strawberries. *International Journal of Food Microbiology*, 101(3), 255-262.
- Fraile Fernández, I. (2019). Infecciones transmitidas por consumo de frutas y verduras frescas mínimamente procesadas. Ed. Universidad de La Laguna. España. (pp. 4-12).
- France, A. (2013). Manejo de enfermedades en frutilla. Manual de Frutilla. INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias), Eds. Undurraga P, Vargas S. Chile, (pp. 61-71).
- García, C. E. N. (2020). Inactivación de *Salmonella enterica* y *Listeria monocytogenes* en piña (*Ananas comosus* L.) mínimamente procesada mediante la aplicación de desinfectantes químicos y calentamiento óhmico.
- Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., & Battino, M. (2012). The strawberry: Composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, 28(1), (pp. 9-19).
- Gil, M. I., Selma, M. V., López-Gálvez, F., & Allende, A. (2009). Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. *International Journal of Food Microbiology*, 134(1-2), (pp. 37-45).
- González, L. C. J., Matas, A. J., & Mercado, J. A. (2018). Caracterización de indicadores de la calidad del fruto en líneas de fresa transgénicas con genes silenciados que codifican para enzimas pectinolíticas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), (pp. 42-50).
- Greig, J. D., Todd, E. C., Bartleson, C. A., & Michaels, B. S. (2007). Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 1. Description of the problem, methods, and agents involved. *Journal of Food Protection*, 70(7), (pp. 1752-1761).



- Guida, V., Ferrari, G., Pataro, G., Chambery, A., Maro, A. Di, & Parente, A. (2013). LWT - Food Science and Technology The effects of ohmic and conventional blanching on the nutritional, bioactive compounds and quality parameters of artichoke heads. *LWT - Food Science and Technology*, 53(2), (pp. 569–579).
- Gündüz, K., & Özdemir, E. (2014). The effects of genotype and growing conditions on antioxidant capacity, phenolic compounds, organic acid and individual sugars of strawberry. *Food chemistry*, 155, (pp. 298-303).
- Hitchins, A. D., Jinneman, K., & Chen, Y. (2004). BAM Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in foods and environmental samples, and enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods. Washington, DC: US Food Drug Administration. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-10-detection-listeria-monocytogenes-foods-and-environmental-samples-and-enumeration>. Consultado [10/2021].
- Holvoet, K., Sampers, I., Seynaeve, M., & Uyttendaele, M. (2014). Relationships among hygiene indicators and enteric pathogens in irrigation water, soil and lettuce and the impact of climatic conditions on contamination in the lettuce primary production. *International Journal of Food Microbiology*, (171), (pp. 21 – 31).
- ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications) (2006) Frutas y productos de fruta. Microorganismos de los Alimentos 6. Ecología microbiana de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Infoagro (2015a). Curso especialista en fruticultura. Cultivo de frambuesa. Disponible en: [https://www.infoagro.com/documentos/el\\_cultivo\\_frambuesa.asp](https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_frambuesa.asp). Consultado [03/2020]
- Infoagro (2015b). Curso especialista en fruticultura. Cultivo de fresa. Disponible en: [https://www.infoagro.com/documentos/el\\_cultivo\\_fresa.asp](https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_fresa.asp). Consultado [06/2020]
- Infoagro (2015c). Curso especialista en fruticultura. Cultivo de la mora. Disponible en: [https://www.infoagro.com/documentos/el\\_cultivo\\_mora.asp](https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_mora.asp). Consultado [03/2020]
- Jaeger, H., Roth, A., Toepfl, S., Holzhauser, T., Engel, K. H., Knorr, D., Steinberg, P. (2016). Opinion on the use of ohmic heating for the treatment of foods. *Trends in Food Science and Technology*, 55, (pp. 84–97).

- Johannessen, G. S., Loncarevic, S., & Kruse, H. (2002). Bacteriological analysis of fresh produce in Norway. *International Journal of Food Microbiology*, 77(3), (pp. 199-204).
- Karam, M. C., Petit, J., Zimmer, D., Baudelaire Djantou, E., & Scher, J. (2016). Effects of drying and grinding in production of fruit and vegetable powders: A review. *Journal of Food Engineering*, 188, (pp. 32–49).
- Kim, C., & Hung, Y. C. (2012). Inactivation of *E. coli* O157: H7 on blueberries by electrolyzed water, ultraviolet light, and ozone. *Journal of Food Science*, 77(4), (pp. 206-211).
- Knudsen, D. M., Yamamoto, S. A., & Harris, L. J. (2001). Survival of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157: H7 on fresh and frozen strawberries. *Journal of Food Protection*, 64(10), (pp. 1483-1488).
- Kuskoski, E. Marta, Asuero, Agustín G., Troncoso, Ana M., Mancini-Filho, Jorge, & Fett, Roseane. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25(4), (pp. 726-732).
- Lacombe, A., Niemira, B. A., Gurtler, J. B., Fan, X., Sites, J., Boyd, G., & Chen, H. (2015). Atmospheric cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. *Food Microbiology*, 46, (pp. 479-484).
- Lacroix, M., & Follett, P. (2015). Combination irradiation treatments for food safety and phytosanitary uses. *Stewart Postharvest Review*, 11(3). ISSN: 1745-9656.
- Leal-Cervantes, M. G., Arvizu-Medrano, S. M., Martínez-Peniche, R., Martínez-González, N. E., & Hernández-Iturriaga, M. (2018). Microbiological Quality and Incidence of *Salmonella* on Cherry Tomatoes at Retail in Querétaro, México. *Journal of Food Protection*, 81(4), (pp 614 – 618).
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 88(5), (pp. 1269-127).
- López-Herrera, Amelia, Castillo-González, Ana María, Trejo-Téllez, Libia Iris, Avitia-García, Edilberto, & Valdez-Aguilar, Luis Alonso. (2018). Respuesta de fresa cv. Albión a dosis crecientes de zinc. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(8), (pp 1591-1601).

- López, J. (2017). Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico. (Tesis). *Universidade da Coruña*. Coruña, España (pp. 12-20).
- Maraei, R. W., & Elsayy, K. M. (2017). Chemical quality and nutrient composition of strawberry fruits treated by  $\gamma$ -irradiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 10(1), (pp. 80-87).
- Marik, C. M., Zuchel, J., Schaffner, D. W., & Strawn, L. K. (2020). Growth and Survival of *Listeria monocytogenes* on Intact Fruit and Vegetable Surfaces during Postharvest Handling: A Systematic Literature Review. *Journal of Food Protection*, 83(1), (pp. 108-128).
- Martínez-Bolaños, M., Nieto-Angel, D., Téliz-Ortiz, D., Rodríguez-Alcazar, J., Martínez-Damian, M. T., Vaquera-Huerta, H., & Carrillo Mendoza, O. (2008). Comparación cualitativa de fresas (*Fragaria x ananassa* Duch.) de cultivares mexicanos y estadounidenses. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 14(2), (pp. 113-119).
- Maturin, L., & Peeler, J. T. (2021). BAM chapter 3: aerobic plate count. United States Food and Drug. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam>. Consultado [03/2021]
- Merchante, C., Vallarino, J. G., Osorio, S., Aragüez, I., Villarreal, N., Ariza, M. T., Martínez, G. A., Medina-Escobar, N., Civello, M. P., Fernie, A. R., Botella, M. A., & Valpuesta, V. (2013). Ethylene is involved in strawberry fruit ripening in an organ-specific manner. *Journal of Experimental Botany*, 64(14), (pp. 4421–4439).
- Mexicana, N. NMX-FF-062-SCFI-2002. (2002). Productos alimenticios no industrializados para consumo humano. Fruta fresca. Fresa (*Fragaria x ananassa*, Dutch). Especificaciones y método de prueba.
- Ministerio de Agroindustria Argentino, Secretaría de Agregado de Valor, Subsecretaría de Alimentos y Bebidas (2012). Protocolo de Calidad para frutilla fresca y congelada. Resolución SAGyP N°: 866/2012.
- Ministerio de la Presidencia. (2000). Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. Boletín Oficial Del Estado, 11, 1435–1441. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/pdf/2001/BOE-A-2001-809-consolidado.pdf>

- Molleda Román. (2016). Frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista "La Parada". Ed. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú, (pp. 45-50).
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., Cuadrado, C. (2013). Tablas de composición de alimentos. Editorial Pirámide. 16° edición. España (pp. 259-260).
- Moreno, D. C., Sierra, H. M., & Moreno, C. D. (2014). Evaluación de parámetros de calidad físico-química, microbiológica y sensorial en tomate deshidratado comercial (*Lycopersicum esculentum*). UDCA Actualidad & Divulgación Científica, 17(1), (pp. 131-138.)
- Moubarac, J.-C. (2017). Ultra-processed foods in Canada: consumption, impact on diet quality and policy implications. Disponible en: [https://mma.prnewswire.com/media/615078/Fondation\\_des\\_maladies\\_du\\_c\\_ur\\_et\\_d\\_e\\_l\\_AVC\\_Les\\_aliments\\_ultra\\_tr.pdf](https://mma.prnewswire.com/media/615078/Fondation_des_maladies_du_c_ur_et_d_e_l_AVC_Les_aliments_ultra_tr.pdf). Consultado [06/2020]
- Nicolau-Lapeña, I., Abadias, M., Bobo, G., Aguiló-Aguayo, I., Lafarga, T., & Viñas, I. (2019). Strawberry sanitization by peracetic acid washing and its effect on fruit quality. *Food Microbiology*, 83, (pp. 159-166).
- Niemira, B. A. (2012). Cold plasma decontamination of foods. *Annual review of Food Science and Technology*, 3, (pp. 125-142).
- NOM-111-SSA1-1994. (1994). Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Diario Oficial de La Federación
- Ochoa, I. M. F., & Rodríguez, A. V. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 47(1-2), (pp. 25-42).
- OMS. (1989). La irradiación de los alimentos: una técnica para conservar y preservar la inocuidad de los alimentos. Ginebra: Organización Mundial de la Salud, (pp. 18-46).
- Orozco, R. L., M. Iturriaga, M. Tamplin, P. M. Fratamico, J. E. Call, J. B. Luchansky, and Escartin E. F. (2008). Animal and environmental impact on the presence and distribution of *Salmonella* and *Escherichia coli* in hydroponic tomato greenhouses. *Journal of Food Protection*, 71(4), (pp. 676-683).
- Palumbo, M., Harris, L. J., & Danyluk, M. D. (2013). Outbreaks of foodborne illness associated with common berries, 1983 through May 2013. *Food Science and Human Nutrition Department, UF/IFAS*, (pp. 2-6).

- Pamplona R. J. D. (2006). Salud por los alimentos. 1ª Edición Safeliz S.L. Colmenar Viejo Madrid, España, (pp. 108-109).
- Park, S., Szonyi, B., Gautam, R., Nightingale, K., Anciso, J., & Ivanek, R. (2012). Risk factors for microbial contamination in fruits and vegetables at the preharvest level: a systematic review. *Journal of Food Protection*, 75(11), (pp. 2055-2081).
- Parlato, A., Giacomarra, M., Galati, A., & Crescimanno, M. (2014). ISO 14470: 2011 and EU legislative background on food irradiation technology: The Italian attitude. *Trends in Food Science & Technology*, 38(1), (pp. 60-74).
- Peña-Varela, G., Salinas-Moreno, Y., & Ríos-Sánchez, R. (2006). Contenido de antocianinas totales y actividad antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus L.*) con diferente grado de maduración. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 12(2), (pp. 159-163).
- Perkins-Veazie, P. (1995). Growth and ripening of strawberry fruit. *Horticultural reviews*, 17, (pp. 267-297).
- Puig Peña, Y., Leyva Castillo, V., Suárez, A., Carrera Vara, J., Molejón, P. L., Muñoz, Y., & Dueñas Moreira, O. (2014). Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 13(1), (pp. 111-119).
- Restrepo, A. M., Cortés, M., & Rojano, B. (2009). determinación de la vida útil de fresa (*Fragaria ananassa Duch.*) fortificada con vitamina E. *DYNA*, 76(159), (pp. 163–175).
- Rico, D., Martin-Diana, A. B., Barat, J. M., & Barry-Ryan, C. (2007). Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18(7), (pp. 373-386).
- Ríos Valadéz, R. (2018). Detección de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. en fresa en la región centro norte de México (Tesis de maestría). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, (pp.38-45).
- Rodríguez, B. M. R. (2014). Frutos silvestres de uso tradicional en la alimentación: evaluación de su valor nutricional, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante (Tesis doctoral), Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España, (pp. 167-192).

- Ruiz, L., Castro, L., & Quicazán, M. (2015). Influencia de las condiciones de secado en el color de fresas variedad Chandler. Encuentro Nacional de Investigación y Desarrollo (ENID), (pp. 1-4).
- Sáez, A. C., Marteache, A. H., Santos, M. R. M., López, A. M., Solé, R. M. P., & López, J. M. M. (2012). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre riesgos microbiológicos asociados al consumo de frutos obtenidos de *Fragaria* spp. y *Rubus* spp. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, (16), (pp. 57-69).
- Sanabria, N. S., Cova, A., Cueto, D., & Rodríguez, G. (2018). Textura y Microestructura en Semirodajas de Piña Deshidratada Variedad Roja Española. *Acta Microscópica*, 27(1), (pp. 1-7).
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2017) ¿Qué tanto conoces de berries o frutillas? SAGARPA. Gobierno de México. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/frutillas-mexicanas-las-favoritas-del-mundo> Consultado: [03/2020]
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2020) Busca la iniciativa privada invertir en el cultivo de fresa en el Estado. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/morelos/articulos/busca-la-iniciativa-privada-invertir-en-el-cultivo-de-fresa-en-el-estado?idiom=es> . Consultado [04/2021]
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. SIAP (2020). Panorama Agroalimentario 2020. Consultado [04/2021]
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA). SIAP (2016). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Fresa Mexicana. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257075/Potencial-Fresa.pdf> . Consultado [03/2020]
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (SAGARPA). SIAP (2016). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Frutas del Bosque. Arándano, Frambuesa Zarzamora Mexicanas. Disponible en: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257076/Potencial-Frutas\\_del\\_Bosque.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257076/Potencial-Frutas_del_Bosque.pdf). Consultado [03/2020]

- Sehrawat, R., Nema, P. K., & Kaur, B. P. (2018). Quality evaluation and drying characteristics of mango cubes dried using low-pressure superheated steam, vacuum and hot air-drying methods. *Lwt*, 92, (pp. 548–555).
- Seoane, M. (2013). *Listeria monocytogenes*. *Revista Chilena de Infectología*. 30(4), (pp. 405-406).
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2017) Berries, frutillas, frutos rojos, bayas mexicanas... entre lo común y lo biológico. Gobierno de México. Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/articulos/berries-frutillas-frutos-rojos-bayas-mexicanas-entre-lo-comun-y-lo-biologico-para-identificar-estos-frutos-que-se-posicionan-en-el-mercado-nacional-e-internacional?idiom=es> Consultado [03/2020]
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018). Atlas Agroalimentario 2012-2018. SAGARPA. Gobierno de México. Disponible en: [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2018/Atlas-Agroalimentario-2018). Consultado [03/2020]
- Simpson R. Ricardo, Jiménez P, Maite, Carevic G, Erica, & Grancelli M, Romina. (2007). Aceleración de la deshidratación osmótica de frambuesas (*Rubus idaeus*) por medio de calentamiento óhmico. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(2), (pp. 192-195).
- Smetanska, I., Hunaefi, D., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2013). Nonthermal technologies to extend the shelf life of fresh-cut fruits and vegetables. *Advances in Food Process Engineering Research and Applications*. Springer, Boston, MA, (pp. 375-413).
- Tomás, R. P., Sala, F. J., Raso, J., & Cano, I. Á. (2000). La conservación de los alimentos mediante pulsos eléctricos de alto voltaje. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 19(8), (pp. 143-152).
- Torres, V. J. A. (2021) “Sobrevivencia de células de *Salmonella enterica* subletalmente dañadas durante la deshidratación de jitomate y mango con aire caliente” (Tesis de maestría) Universidad Autónoma de Querétaro. Querétaro, Querétaro, (pp. 75-83).
- Velge, P., & Roche, S. M. (2010). Variability of *Listeria monocytogenes* virulence: a result of the evolution between saprophytism and virulence?. *Future Microbiology*, 5(12), (pp. 1799-1821).

- Vera, A., González, G., Domínguez, M., & Bello, H. (2013). Principales factores de virulencia de *Listeria monocytogenes* y su regulación. *Revista Chilena de Infectología*, 30(4), (pp. 407-416).
- Villarroel, D. M., González, L. R., Brito, M., & Ramos-Villarroel, A. Y. (2015). Luz ultravioleta: inactivación microbiana en frutas. *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 27(3), (pp. 454-469).
- Viñas Almenar, I., Valero, A., Gimeno Añó, V., López Fructuoso, M., Aguiló-Aguayo, I., Abadías i Sero, M. & Posada, G. D. (2020). Control de patógenos de transmisión alimentaria en fresas congeladas y listas para el consumo. *Biblioteca Horticultura*, 2020, vol. marzo 2020, (pp. 1-18).
- World Health Organization (WHO) (1998). Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review (No. WHO/FSF/FOS/98.2). World Health Organization.
- World Health Organization (WHO). (2008). Microbiological hazards in fresh fruits and vegetables. *Microbiological Risk Assessment series*, 1, (pp. 1-30).
- Zapata, K., Cortes, F. B., & Rojano, B. A. (2013). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*Psidium araca*). *Información Tecnológica*, 24(5), (pp. 103-112).
- Zitouni, H., Hssaini, L. H., Ouaabou, R., Viuda-Martos, M., Hernandez, F., Ercisli, S., & Hanine, H. (2021). Functionnal and technological properties of five strawberry (*Arbutus Unedo L.*) fruit as bioactive ingredients in functional foods. *International Journal of Food Properties*, 24(1), (pp. 380-399).
- Ziuzina, D., Patil, S., Cullen, P. J., Keener, K. M., & Bourke, P. (2014). Atmospheric cold plasma inactivation of *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh produce. *Food Microbiology*, 42, 109-116.