



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y  
POSGRADO EN ALIMENTOS  
(DIPA)**

**“Sobrevivencia de Células de *Salmonella enterica*  
Subletalmente Dañadas Durante la Deshidratación de  
Jitomate y Mango con Aire Caliente”**

TESIS

COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO  
DE:

**MAESTRO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

IQAL. JESÚS ANDRÉS TORRES VÉLEZ

DIRIGIDO POR

DRA. MONTSERRAT HERNÁNDEZ ITURRIAGA

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2021



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

“Sobrevivencia de Células de *Salmonella enterica* Subletalmente Dañadas Durante la Deshidratación de Jitomate y Mango con Aire Caliente”

## TESIS

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

### Presenta:

IQAL. Jesús Andrés Torres Vélez

### Dirigido por:

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga

### Sinodales:

Dra. Montserrat Hernández Iturriaga  
Presidente

Dr. Ramón Álar Martínez Peniche  
Secretario

Dr. Gerardo Vázquez Marrufo  
Vocal

M. en C. Angélica Godínez Oviedo  
Suplente

Dra. Marcela Gaytán Martínez  
Suplente

Centro Universitario  
Querétaro, Qro.  
Abril 2021

## **Declaración de responsabilidad del estudiante**

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 reproducidos 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.



---

IQAL. JESÚS ANDRÉS TORRES VÉLEZ

## RESUMEN

La tolerancia de *Salmonella enterica* ante condiciones adversas como alta temperatura y pH ácido puede influir en su supervivencia en frutas deshidratadas. En el presente trabajo se evaluó el efecto del estrés subletal causado a *S. enterica* en su supervivencia durante el secado con aire caliente y el almacenamiento de mango y jitomate. Rebanadas de jitomate y mango se sometieron a dos condiciones de secado con aire caliente: 50 °C/ 11 h y 70 °C/ 7 h, hasta que la actividad de agua fue ~0.40. No se observó diferencia entre los tratamientos de deshidratación respecto a las variables de calidad (color y firmeza) del mango deshidratado ( $p > 0.05$ ); sin embargo, el color y la humedad de los jitomates tratados a 70 °C si fueron afectados ( $p < 0.05$ ); por lo tanto, se seleccionó el tratamiento de 50 °C/11 h para los experimentos restantes en ambos frutos. Se inocularon de manera independiente cuatro cepas de *S. enterica* en extractos de mango y jitomate (10 % p/v) ajustados a pH 7.0 y en extractos manteniendo el pH del fruto (4.0 a 4.5); las células en los extractos se expusieron a estrés térmico (50 °C durante 0, 60 y 120 min). Se cuantificaron las células sobrevivientes y el daño a la membrana celular y la actividad de bombas de flujo mediante citometría de flujo. La mayor proporción de población estresada a pH neutro (50 a 70 %) y a pH ácido (50 a 90%) se obtuvo después de 60 min de exposición. La citometría de flujo mostró daño a la integridad de membrana y aumentó en la actividad de bombas de flujo en ambos casos, a pH 7.0 osciló entre 10 y 20 % y en condiciones ácidas entre 50 y 65 %; mientras que las reducciones oscilaron entre 2 y 4 Log UFC mL<sup>-1</sup> a pH ácido y entre 0.5 y 3 Log UFC mL<sup>-1</sup> a pH neutro. Rebanadas de jitomate y mango fueron inoculadas con *S. enterica* (6 Log UFC g<sup>-1</sup>) previamente estresada (50 °C/1 h, en los extractos frutales a ambos niveles de pH), y sin estresar (control) y se secaron con aire caliente. La población del patógeno en mango y jitomate se redujo en 2 y 4 Log UFC g<sup>-1</sup>, respectivamente. Las cepas más resistentes a la deshidratación se inocularon en los frutos deshidratados y se almacenaron a 25 °C. Las cepas aisladas de los frutos sobrevivieron hasta 260 días en mango y 60 días en jitomate. Este estudio resalta la importancia de evitar la contaminación de frutas con *Salmonella*, ya que el patógeno no se elimina con el tratamiento térmico (aire caliente) y, además, si fue estresado previamente, es capaz de sobrevivir por mayor tiempo.

## PALABRAS CLAVE

Estrés, deshidratación con aire caliente, jitomate, mango, *Salmonella*, supervivencia.

## ABSTRACT

Tolerance of *Salmonella enterica* to survive adverse conditions, such as high temperature and acidic pH, may influence its survival in dehydrated fruits. The aim of this work was to evaluate the effect of sublethal stress caused to *S. enterica* cells on its survival during hot air drying of tomato and mango slices and their storage. Tomato and mango slices were subjected to two conditions of hot air drying: 50 °C/11 h and 70 °C/7 h, until the final water activity was ~0.40. No difference was observed between treatments regarding the quality variables (color and firmness) of dehydrated mango ( $p > 0.05$ ), however color and moisture of tomatoes treated at 70°C was affected ( $p < 0.05$ ); therefore, treatment at 50 °C/11 h was selected for further experiments in both fruits. Four strains of *S. enterica* were inoculated in mango and tomato extracts (10 % w/v) adjusted to pH 7.0 and in fruit extracts maintaining the intrinsic acid pH (~4-4.5), then exposed to stress treatments (50°C for 0, 60 and 120 min). Survival populations were quantified and damage to cell membrane and flow pumps activity was measured by flow cytometry. The highest stressed population at neutral pH (50-70 %) and acid pH (50-90 %) were obtained after 60 min of exposure. Flow cytometry analysis showed damage in cell membrane integrity and flow pumps activity; in both the damage in cell suspensions adjusted to pH 7 oscillated from 10 to 20 %, and at acidic conditions from 50 to 65 % while the reductions ranged from 2-4 Log CFU mL<sup>-1</sup> at acid pH and 0.5-3 Log CFU mL<sup>-1</sup> at neutral pH. Fruit slices were inoculated with *S. enterica* (~6 Log CFU g<sup>-1</sup>) subjected to sublethal stress (50 °C/1 h) or not (control), and hot air drying. Populations of the pathogen in mango and tomato slices were reduced by 2 and 4 Log CFU g<sup>-1</sup>, respectively. The most resistant strains to dehydration were inoculated in hot air-dried fruits and stored at 35 °C. Strains isolated from fruits survived for up to 260 on mango and 60 days on tomato. This study highlights the importance of avoiding contamination with *Salmonella*, since the pathogen is not eliminated with heat treatment (hot air) and, furthermore, if it was previously stressed, it can survive longer.

## KEY WORDS

Stress, hot air-drying, mango, tomato, *Salmonella*, survival.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

*“No debemos tener miedo a equivocarnos,  
hasta los planetas chocan,  
y del caos nacen las estrellas”*

*Charles Chaplín*

## DEDICATORIAS

A Andrés Torres:

Porque si se pudo, fue un trabajo pesado y con mucho crecimiento, porque lograste grandes cambios en tu persona ¡Felicidades!

A mi familia:

Por su incondicional apoyo en cada una de las locuras que se me ocurrían.

A Cristian:

Porque fuiste mi antecesor y eres mi compañero de aventuras y locuras.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico brindado a través de la beca de manutención para poder llevar a cabo esta investigación.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, por haberme acogido durante ya casi 10 años, como alumno y trabajador, y permitir desarrollar muchas de las habilidades con las que cuento el día de hoy.

A la Dra. Montserrat Hernández Iturriaga, por la oportunidad de poder desarrollarme profesionalmente junto a ella, ser mi mentora durante ya bastante tiempo y poder compartirme mucho de su conocimiento y vivencias, las cuáles atesoro profundamente.

Al Dr. Eduardo Morales Sánchez y la Dra. Marcela Gaytán, por el apoyo brindado para la estancia en el CICATA-IPN para llevar a cabo los experimentos en sus instalaciones.

Al Dr. Vázquez Marrufo, por la oportunidad de trabajar con su persona y abrirme las puertas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo para poder desarrollar los experimentos de citometría en su laboratorio.

Al Dr. Peniche, por esas interesantes charlas/ clases, que me permitieron desarrollarme como profesionista y como persona, además de contribuir a mi disciplina.

A mis compañeros de maestría, comenzamos juntos esta aventura de aprendizaje y retos diarios durante, teóricamente, dos años, que se convirtieron en casi tres (en mi caso).

A las personas que tuve la fortuna de conocer más allá del compañerismo, y se convirtieron en amigos, sé que cuento con personas en algunos lugares de país (Monterrey, Zacatecas, Acapulco, etc.) y, por lo tanto, hospedaje gratis.

Por último, y no menos importante, a mi familia, por estar presente cada día durante este camino lleno de sorpresas, altibajos y mucho crecimiento personal.



## INDICE GENERAL

RESUMEN	IV
PALABRAS CLAVE .....	IV
ABSTRACT.....	V
DEDICATORIAS .....	VII
AGRADECIMIENTOS .....	VIII
INDICE GENERAL.....	IX
INDICE DE TABLAS.....	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	XV
1. INTRODUCCIÓN.....	XV
2. ANTECEDENTES .....	19
2.1. Consumo de alimentos hortofrutícolas.....	19
2.2. Jitomate.....	19
2.2.1. Producción y consumo de jitomate en México .....	20
2.3. Mango .....	22
2.3.1. Producción y consumo de mango en México.....	22
2.4. Deshidratación de productos hortofrutícolas.....	24
2.4.1. Proceso de deshidratación de frutos.....	26
2.4.2. Microbiología de frutos deshidratados .....	27
2.4.2.1. Prevalencia y sobrevivencia de <i>Salmonella enterica</i> en frutos deshidratados .....	28
2.4.3. Brotes asociados a alimentos de baja actividad de agua.....	29
2.5. <i>Salmonella</i> spp.....	30
2.5.1. Salmonelosis .....	30
2.5.2. Patogenicidad de <i>S. enterica</i> .....	31

2.5.3	Tolerancia de <i>S. enterica</i> a factores de estrés subletal.....	35
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>37</b>
3.1.	Objetivo general .....	37
3.2.	Objetivos específicos.....	37
<b>4.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>38</b>
4.1.	Material biológico.....	38
4.1.1.	Frutos .....	38
4.1.2.	Cepas.....	38
4.2.	Métodos.....	38
4.2.1.	Establecimiento de las condiciones de deshidratación .....	38
4.2.1.1.	Caracterización de los frutos antes y después de la deshidratación .....	38
4.2.1.1.1.	pH.....	39
4.2.1.1.2.	Acidez titulable.....	39
4.2.1.1.3.	Humedad .....	39
4.2.1.1.4.	Sólidos solubles.....	40
4.2.1.1.5.	Actividad de agua.....	40
4.2.1.1.6.	Índice de maduración.....	40
4.2.1.1.7.	Firmeza.....	41
4.2.1.1.8.	Color .....	41
4.2.1.2.	Preparación de la materia prima .....	41
4.2.1.3.	Deshidratación de los frutos .....	41
4.2.1.3.1.	Curvas de secado de los frutos.....	42
4.2.1.3.2.	.Modelado matemático de las cinéticas de secado de secado de los frutos .....	43
4.2.1.4.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	43

4.2.2. Exposición de las cepas de <i>S. enterica</i> a los tratamientos para causar estrés subletal .....	44
4.2.2.1. Preparación del inóculo .....	44
4.2.2.2. Preparación de los extractos de fruta .....	44
4.2.2.3. Tratamientos estresantes .....	44
4.2.2.4. Cuantificación de células estresadas mediante el cultivo en placa .....	45
4.2.2.5. Cálculo del porcentaje de células estresadas .....	45
4.2.2.6. Cuantificación del estrés subletal mediante citometría de flujo .....	46
4.2.2.6.1. Tinción de células de <i>S. enterica</i> .....	46
4.2.2.6.2. Cuantificación mediante citometría de flujo .....	46
4.2.2.7. Diseño experimental y análisis estadístico .....	47
4.2.3. Supervivencia de las <i>S. enterica</i> durante la deshidratación de los frutos ...	47
4.2.3.1. Inoculación de los frutos .....	47
4.2.3.2. Deshidratación de los frutos inoculados .....	47
4.2.3.2.1. Cuantificación de <i>S. enterica</i> .....	48
4.2.3.2.2. Modelado de las curvas de muerte de <i>S. enterica</i> .....	48
4.2.3.3. Análisis estadístico .....	48
4.2.4. Supervivencia de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento de los frutos deshidratados .....	48
4.2.4.1. Inoculación de los frutos deshidratados .....	48
4.2.4.2. Cuantificación de <i>S. enterica</i> .....	49
4.2.4.3. Modelado de las curvas de muerte de <i>S. enterica</i> .....	49
4.2.4.4. Análisis estadístico .....	50
<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>51</b>
5.1. Deshidratación de los frutos .....	51

5.1.1.	Caracterización física y química del mango y jitomate.....	51
5.1.2.	Cinética de deshidratación de los frutos .....	52
5.1.5.	Calidad de los frutos deshidratados.....	57
5.1.5.1.	Color.....	58
5.1.5.2.	Firmeza .....	61
5.2.	Estrés celular en células de <i>S. enterica</i> .....	63
5.2.1.	Daño a la membrana celular.....	71
5.2.2.	Análisis multivariable entre las células estresadas, la permeabilidad de membrana y la actividad de bombas de flujo .....	74
5.3.	Sobrevivencia a la deshidratación .....	77
5.4.	Sobrevivencia de <i>Salmonella</i> durante el almacenamiento de los frutos deshidratados.....	81
6.	<b>CONCLUSIONES</b> .....	86
7.	<b>REFERENCIAS</b> .....	88
8.	<b>ANEXOS</b> .....	102

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estimaciones de la producción nacional de jitomate .....	20
Tabla 2. Estimación de la producción nacional de mango .....	22
Tabla 3. Contenido nutrimental de jitomate y mango .....	26
Tabla 4. Sobrevivencia de patógenos en frutos deshidratados .....	28
Tabla 5. Tratamientos de deshidratación de jitomate y mango con aire caliente ....	42
Tabla 6. Tratamientos generadores de estrés subletal en células de <i>Salmonella</i> ...	45
Tabla 7. Caracterización física y química de mango y jitomate como materia prima para la elaboración de frutos deshidratados .....	51
Tabla 8. Contenido de humedad y actividad de agua en mango y jitomate deshidratados con aire caliente .....	54
Tabla 9. Variables del modelo de Midelli y difusión efectiva para el secado con aire caliente a 50 °C de mango y jitomate .....	56
Tabla 10. Cambios en los parámetros de color en frutos deshidratados .....	60
Tabla 11. Firmeza de los frutos deshidratados con aire caliente.....	61
Tabla 12. Valores D para cuatro cepas de <i>S. enterica</i> sometidas calentamiento a 50 °C por dos horas en extractos de mango y jitomate.....	65
Tabla 13. Reducción y velocidad de muerte de las cepas de <i>S. enterica</i> durante la deshidratación con aire caliente de mango y jitomate.....	80
Tabla 14. Parámetros del modelo de Weibull del comportamiento de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento a 25 °C de frutos deshidratados.....	84
Tabla 15. Análisis de varianza de los parámetros de secado de los frutos con aire caliente.....	103
Tabla 16. Análisis de varianza de los parámetros de calidad evaluados en los frutos deshidratados .....	104
Tabla 17. Análisis de varianza del valor $D_{50}$ de <i>S. enterica</i> durante el calentamiento a 50 °C en los extractos de fruta.....	105
Tabla 18. análisis de varianza del porcentaje de población estresada <i>S. enterica</i> sometida a calentamiento a 50 °C en extractos de frutas .....	106

Tabla 19. Análisis de varianza de la población permeable y con bombas de flujo comprometidas de <i>S. enterica</i> durante calentamiento a 50 °C en extractos fruta .	107
Tabla 20. Análisis de varianza de la velocidad de muerte y las reducciones de <i>S. enterica</i> durante la deshidratación de los frutos a 50 °C .....	108
Tabla 21. Análisis de varianza de los parámetros del modelo de Weibull de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados. ....	109

Dirección General de Bibliotecas UNQ

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Producción de jitomate por tipo y tecnología en 2015 (FIRA, 2016).....	21
Figura 2. Participación en el mercado de las principales variedades de mango producidas en México (Elaboración propia con datos de González Bernal, 2014). .	23
Figura 3. Representación esquemática del proceso infectivo de <i>Salmonella</i> (López <i>et al.</i> , 2012). .....	33
Figura 4. Localización de las islas de patogenicidad y genes de virulencia de <i>S. enterica</i> (Figuroa Ochoa & Verdugo Rodríguez, 2005) .....	34
Figura 5. Relación de la tolerancia al estrés respecto al estado fisiológico celular (Yousef & Juneja, 2003). .....	35
Figura 6. Cinéticas de deshidratación con aire caliente de los frutos. ....	53
Figura 7. Gráfica de interacción de la temperatura y el sulfitado sobre la difusión efectiva durante la deshidratación del jitomate. ....	56
Figura 8. Inactivación de <i>S. enterica</i> durante el calentamiento a 50 °C por dos horas en extractos de mango (A) pH 4.2, (B) pH 7.0 y jitomate (C) pH 4.2, (D) pH 7.0. ...	64
Figura 9. Impacto del calentamiento a 50 °C sobre la población estresada de <i>S. enterica</i> inoculada en los extractos de fruta. A) Mango y B) jitomate. ....	68
Figura 10. Correlación entre muerte celular y células estresadas de <i>S. enterica</i> durante los tratamientos estresantes. ....	70
Figura 11. Histogramas poblacionales de células teñidas, con yoduro de propidio, durante la exposición a 50 °C y pH ácido de ST a tiempo 0 (control), 1 y 2 horas. .	71
Figura 12. Impacto del calentamiento a 50 °C sobre la permeabilidad de membrana en <i>S. enterica</i> inoculada en extractos de fruta. A) Mango y B) jitomate. ....	72
Figura 13. Impacto del calentamiento a 50 °C sobre la actividad de bombas de flujo en <i>S. enterica</i> inoculada en extractos de fruta. A) Mango y B) jitomate. ....	74
Figura 14. Correlación durante los tratamientos estresantes en extracto de mango y jitomate de células estresadas, permeabilidad de membrana y actividad de bombas de flujo. ....	76
Figura 15. Cinética de inactivación de cepas de <i>S. enterica</i> estresadas durante el proceso de deshidratación con aire caliente a 50 °C en mango y jitomate. ....	78

Figura 16. Comportamiento de cepas de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados.....	83
Figura 17. Curvas de desarrollo de <i>S. enterica</i> .....	102
Figura 18. Gráficas de interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento de <i>S. enterica</i> en los extractos frutales. ....	110
Figura 19. Gráficas de interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento de <i>S. enterica</i> sobre la permeabilidad de membrana en los extractos frutales.....	111
Figura 20. Gráficas de interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento de <i>S. enterica</i> sobre la población con bombas debilitadas en los extractos frutales.....	112
Figura 21. Gráficas de interacciones entre la cepa y tipo de estrés sobre el valor $\delta$ de <i>S. enterica</i> durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados. A) Mango y B) Jitomate.....	113
Figura 22. Esquema del mecanismo de acción sobre la membrana celular del yoduro de propidio (círculos) y el bromuro de etidio (triángulos).....	114



## 1. INTRODUCCIÓN

México es uno de los principales productores y exportadores de frutas y hortalizas a nivel mundial. El jitomate y el mango se encuentran entre los productos agroalimentarios de mayor importancia dentro de la Planeación Agrícola Nacional rumbo al 2030, propuesta por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). Desafortunadamente, la vida de anaquel de estos productos en fresco es corta (entre 2 y 5 semanas), y por tanto el desperdicio por deterioro fisiológico y microbiológico sobrepasa el 20 % de la producción (Felipe Moreno, 2015; Fernández Valdés *et al.*, 2015). Ofrecer alternativas a los productores para prolongar la vida útil de los productos y disminuir pérdidas económicas es de gran interés en la actualidad.

La deshidratación es una alternativa tecnológica que alarga la vida útil de los frutos y facilita su comercialización en mercados en donde debido a las distancias y condiciones climáticas, la venta en fresco de este tipo de alimentos es complicada. Adicionalmente, la comercialización de frutos deshidratados permite abastecer al mercado en temporadas del año en las cuales no se producen (Luis *et al.*, 2013).

Las técnicas que se utilizan regularmente para la deshidratación de frutos incluyen la deshidratación osmótica, con aire caliente, por exposición al sol y liofilización; o la utilización de dos técnicas de manera secuencial, siendo las más utilizadas, la deshidratación osmótica seguida de un secado solar (García-Paternina *et al.*, 2015).

La deshidratación osmótica involucra la adición de azúcar al fruto para lograr la migración del agua, lo que genera que una parte del azúcar añadido se quede de manera irreversible en el fruto. Por otro lado, la deshidratación solar es un método que, si bien es barato y práctico, no permite tener los controles adecuados en la inocuidad de los productos, ya que éstos se exponen constantemente a diversas fuentes de contaminación como el aire, el polvo, animales e insectos, que pueden aportar microorganismos patógenos (Monsalve & Machado, 2007).

Actualmente se emplean otras técnicas como la deshidratación con aire caliente, la cual consiste en someter a los frutos a un ambiente con aire previamente calentado, que contribuye al intercambio de agua del fruto hacia el aire, disminuyendo el contenido de humedad hasta llegar a 10-15 %, elevando la concentración de nutrientes en el fruto. Entre las ventajas que ofrece este método de deshidratación se cuentan las dos siguientes: 1) se limita la exposición de los productos a las fuentes de contaminación y, por ende, existe un mayor control de la inocuidad y 2) al eliminar la adición de azúcar de la deshidratación osmótica, se reduce el aporte calórico al consumidor.

Los alimentos de baja actividad de agua ( $<0.85$ ) como cacahuates, pasas y chía, se han asociado a brotes de salmonelosis (Beuchat *et al.*, 2012). Recientemente, en Estados Unidos se han reportado brotes de salmonelosis asociados al consumo de pistaches (CDC, 2016b) y coco orgánico deshidratado (CDC, 2018), en ambos casos, el agente etiológico responsable fue *Salmonella enterica* y se desconoce la dosis infectante, sin embargo, se especula que pudo haber sido baja.

*S. enterica* es una bacteria capaz de adaptarse a condiciones estresantes como pH ácido, altas temperaturas y baja actividad de agua. Se tienen reportes de que este patógeno es capaz de sobrevivir hasta por 21 minutos a 100 °C durante el horneado de alimentos (Channaiah *et al.*, 2017), y por más de cuatro horas a pH de 3.5 (Lound *et al.*, 2017). Sin embargo, se desconoce la capacidad de sobrevivencia que pueden tener las células de *S. enterica* estresadas durante el proceso de deshidratación. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del estrés subletal previamente causado a cepas de *S. enterica* en su capacidad de sobrevivencia durante la deshidratación de jitomate y mango con aire caliente y su posterior almacenamiento.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Consumo de alimentos hortofrutícolas

El consumo de frutas y hortalizas actualmente es considerado un factor que puede prevenir riesgos a la salud contra enfermedades crónico-degenerativas, que son las causantes de 63 % de las muertes a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda el consumo de por lo menos 400 g/día de estos productos. También se señala que consumir las cantidades adecuadas de frutas y hortalizas se asocia a una menor incidencia de obesidad, *diabetes mellitus* tipo II y algunos tipos de cáncer. En México se ha incrementado el consumo *per cápita* de frutas y hortalizas en los últimos años, ya que en 1994 se consumían 198 g/día de frutas y verduras, mientras que en 2014 esta cifra aumentó a 258 g/día siendo los adultos mayores los que consumen más este tipo de alimentos (López & Alarcón, 2018).

Dentro de los productos hortofrutícolas, el jitomate es uno de los más consumidos, debido a su alto contenido en licopeno, el cual es un isómero del  $\beta$  caroteno responsable del pigmento rojo del jitomate. Se cuenta con diversos estudios en los que se demuestra el poder antioxidante del licopeno, capaz de reducir el estrés oxidativo en el organismo (Bojórquez *et al.*, 2013).

Otro de los productos hortofrutícolas más consumidos es el mango, debido a su perfil nutricional y funcional, el cual posee una gran cantidad de compuestos nutraceuticos, como el ácido clorogénico, ácido gálico, etc., útiles en el tratamiento de patologías, como distintos tipos de cáncer, debido a su bioaccesibilidad y biodisponibilidad (Wall-Medrano *et al.*, 2015).

### 2.2. Jitomate

El jitomate (*Lycopersicon esculentum* L.) es una baya perteneciente a la familia *Solanaceae*, la cual contiene más de 3000 especies diferentes, incluidas las berenjenas, las papas y el tabaco; pertenece al género *Solanum* (el más grande de la familia con alrededor de 1500 especies), el cual tiene la mayor importancia económica a nivel mundial (Bergougnoux, 2014). Posee un sabor ácido, es de forma

generalmente redonda alargada. Su consumo en fresco es principalmente como ingrediente de ensaladas y en jugo fresco, y de manera industrializada, como puré, conservas, frito o en salsas (SIAP, 2019).

### 2.2.1. Producción y consumo de jitomate en México

La producción de jitomate se lleva a cabo en zonas templadas y cálidas, con una temperatura óptima entre los 20 y 24°C; con suelos profundos, aireados, un alto porcentaje de materia orgánica y un pH ligeramente ácido.

De acuerdo con el Atlas Agroalimentario 2018, el consumo anual *per cápita* de jitomate fue de 15.2 kg/habitante (SIAP, 2019). El jitomate representó en 2016 3.46 % del producto interno bruto (PIB) agrícola y 22.55 % de la producción nacional de hortalizas. México es en principal proveedor de esta hortaliza a nivel mundial, con una participación internacional del 25.11 % de las exportaciones. Durante el periodo comprendido entre 2003 y 2016, se observó una reducción en la superficie sembrada de jitomate, sin embargo, se presentó un aumento del 54.25 % en la producción y del 77.87 % en las exportaciones, convirtiéndose en uno de los cultivos con mayor crecimiento productivo. Se tiene previsto que la tendencia de la producción continúe en aumento en los próximos años (Tabla 1). De acuerdo con las proyecciones, el aumento para 2030 de la producción nacional de jitomate será del 225 % respecto a la producción de 2016 (SAGARPA, 2017a).

Tabla 1. Estimaciones de la producción nacional de jitomate

Año	Producción (millones de toneladas)	Exportaciones (millones de toneladas)
2016	3.35	1.61
2018	3.95	2.17
2024	5.76	3.84
2030	7.56	5.50

(SAGARPA, 2017c)

En México la producción de jitomate se centra en tres variedades, de acuerdo con lo publicado por FIRA (2016):

- Jitomate tipo bola: Este tipo de hortaliza se caracteriza por su forma de globo o de “bola”, tiene un color rojo intenso en su etapa de madurez, principalmente por su alto contenido de licopeno y carotenos. La pulpa de este producto es carnosa y de sabor ácido en comparación con otras variedades. Es utilizado para exportación en fresco y para industrializarse en forma de concentrado, deshidratado o enlatado.
- Jitomate ‘cherry’: Este tipo de jitomate posee un sabor más dulce en comparación con los otros, es de color rojo intenso y su tamaño es pequeño, parecido a una cereza. Posee un alto contenido en potasio y magnesio, así como en vitaminas A, C y E; además de un alto poder antioxidante. Su principal uso es en ensaladas y para el consumo de la población infantil, debido a su sabor.
- Jitomate ‘saladette’: Es un fruto ovalado con pulpa abundante, posee un sabor ligeramente dulce y es menos carnoso que el jitomate bola. Es una importante fuente de minerales como el potasio y magnesio, así como de vitaminas B1, B2, B5 y C. Es el tipo de jitomate más utilizado y por tanto la variedad más producida en el país (Figura 1).

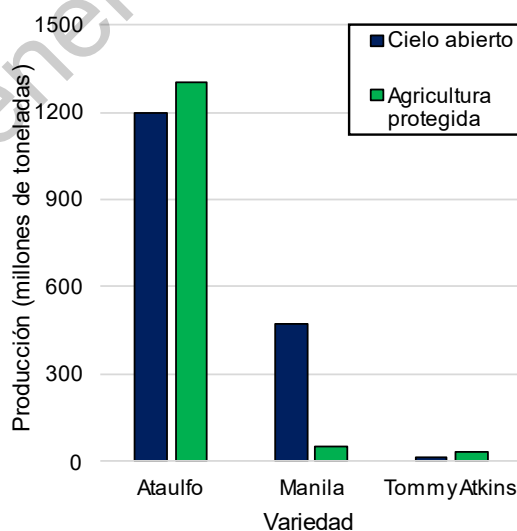


Figura 1. Producción de jitomate por tipo y tecnología en 2015 (FIRA, 2016).

### 2.3. Mango

El mango (*Manguiфера indica*) es una planta dicotiledónea tropical perteneciente a la familia *Anacardiaceae*, originario de la región Indo-Burmese y su fruto se clasifica como drupa, conteniendo una sola semilla grande rodeada de mesocarpio carnosos. Hasta 2015, la producción de mango se daba en 3.7 millones de hectáreas a nivel mundial, siendo la India el principal productor (Taylor *et al.*, 2007). De acuerdo con la FAO, México es el cuarto país a nivel mundial en la lista de comercio de mango, siendo superado por India, China y Tailandia, pero el número uno en cuanto a las exportaciones de este producto (Sahena *et al.*, 2015). El fruto de esta planta es succulento, carnosos, de forma oval de color verdoso amarillento, muy dulce y con un contenido de azúcar de hasta en 20 %. Su consumo es principalmente en fresco, aunque también se consume en jugos, helados y mermeladas (SAGARPA, 2017b).

#### 2.3.1. Producción y consumo de mango en México

La producción de mango se lleva a cabo en un clima cálido, con una temperatura entre 26 y 32 °C y con una precipitación entre 1000 y 1500 mm, el suelo debe ser profundo de textura media con un pH entre 6 y 8 (SAGARPA, 2017c). De acuerdo con el Atlas Agroalimentario 2018, el consumo *per cápita* de mango fue de 12.4 kg/habitante (SIAP, 2019). Se tenían establecidas 193 343 hectáreas de mango en 2016 y se prevé que esta cifra vaya en aumento con miras hacia 2030 (Tabla 2).

Tabla 2. Estimación de la producción nacional de mango

Año	Producción potencial (millones de toneladas)	Exportaciones (millones de toneladas)
2016	1.89	0.36
2018	2.00	0.44
2024	2.35	0.67
2030	2.69	0.89

(SAGARPA, 2017c)

En el año 2018, el mango mexicano aportó el 3.9 % de la producción mundial de esta fruta, produciendo 1.87 millones de toneladas (1 de cada 25 mangos a nivel mundial fue mexicano). En el terreno de las exportaciones, los principales clientes de este producto fueron Estados Unidos (310 millones de dólares), Canadá y Japón. Se

prevé que la siguiente década, la demanda de este producto continué creciendo (SIAP, 2019).

Las principales variedades de mango cultivadas y consumidas en México son 'Ataulfo' (el más producido), Tommy Atkins y Manila (González Bernal, 2014) (Figura 2).

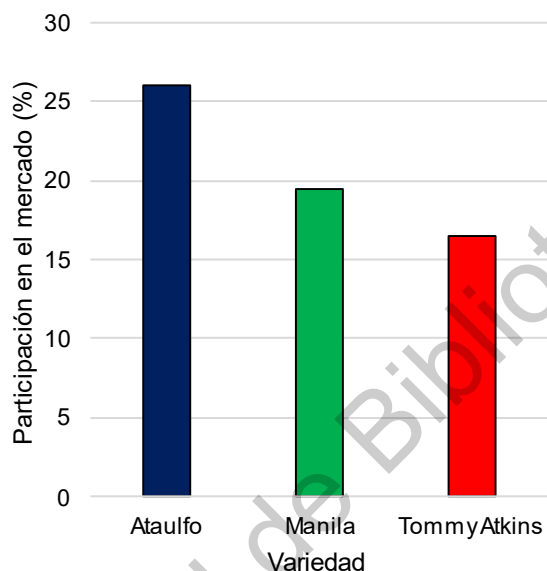


Figura 2. Participación en el mercado de las principales variedades de mango producidas en México (Elaboración propia con datos de González Bernal, 2014).

- 'Ataulfo': Presenta una forma alargada con un peso entre 180 y 260 g por pieza. Al madurar presenta cáscara firme de color amarillo y delgada. La pulpa es firme, jugosa, con poca fibra y de sabor ácido. Su cosecha se lleva a cabo durante el periodo de febrero a abril.
- 'Tommy Atkins': La forma de este fruto es oval con base redonda, su peso se encuentra entre 250 y 550 g por pieza. Al madurar presenta un color amarillo naranja con moteado rojizo. Su piel es gruesa. La pulpa presenta firmeza y jugosidad con poca fibra de color amarilla. Su cosecha se lleva a cabo en el mes de junio.
- 'Manila': La fruta es de color amarillo, con cáscara delgada. La pulpa presenta un color amarillo intenso una textura firme y un sabor dulce. Su contenido de

fibra es bajo y su vida de anaquel es relativamente corta, su producción ocurre entre los meses de febrero y abril.

#### 2.4. Deshidratación de productos hortofrutícolas

La deshidratación es la operación más utilizada para preservar frutas, hortalizas, carnes y pescados (Badui Dergal, 2006). Por definición, la deshidratación es el proceso en el cual se elimina el agua del alimento mediante un tratamiento artificial (aire forzado, superficies calientes, ósmosis); es importante no confundir el término deshidratación con el término secado o desecado, que se refiere a la eliminación de agua del alimento mediante el tratamiento con condiciones naturales (solar, viento) (De Michelis & Ohaco, 2015). El proceso de deshidratación consiste en la eliminación del agua libre contenida mediante la evaporación hasta valores de actividad de agua (Aa) menores a 0.6 con la intención de disminuir al máximo la actividad bioquímica y la acción de microorganismos, y por lo tanto, el producto se mantenga en buenas condiciones por un mayor tiempo (Monsalve & Machado, 2007). Durante el proceso intervienen dos factores para que se lleve a cabo satisfactoriamente: la transferencia de calor del medio hacia el alimento y la transferencia de masa del alimento al ambiente (Rosero Chamorro, 2018).

Los métodos para deshidratar alimentos son los siguientes:

- Secado solar: El método consiste en la exposición al sol del alimento durante periodos prolongados de tiempo, hasta obtener las características deseadas (Blanco *et al.*, 2018). Ha sido utilizado tradicionalmente por ser un método económico y accesible, sin embargo, no es posible mantener un control sobre la inocuidad de los productos en este proceso (Pérez-Alonso *et al.*, 2008).
- Deshidratación osmótica: Este método consiste en sumergir los trozos de los productos frescos en soluciones concentradas de azúcar (75-90 %), provocando dos flujos de transferencia de masa, el del agua que sale del producto y el del ingreso de solutos (azúcar) al alimento. Este tipo de deshidratación, no es capaz de disminuir la actividad de agua (Aa) hasta



niveles suficientes para lograr la estabilidad de los productos, por lo que es necesario utilizar un método adicional de deshidratado para eliminar el agua remanente y alcanzar el nivel adecuado de Aa (Carbajal, 2018).

- Deshidratación con aire caliente: Es una técnica en la que por medio de calor transmitido del aire al alimento, se elimina el agua presente gracias al fenómeno de evaporación (Pereira García *et al.*, 2013). La pérdida de agua contribuye a inhibir el desarrollo bacteriano; aunque es posible que se afecten las propiedades sensoriales y nutricionales del alimento durante el almacenamiento de los productos, por lo que la temperatura es el principal factor para llevar a cabo este tipo de proceso (Estrada *et al.*, 2018).
- Liofilización: El proceso consiste en la congelación del producto, la sublimación del agua, en el punto triple, al exponerse el producto a un sistema de presión modificada y finalmente en la evaporación del agua que se queda adsorbida en el interior del producto, aumentando la temperatura manteniendo las condiciones de vacío del liofilizador. Es un proceso industrializado utilizado para preservar de manera íntegra los productos alimenticios y farmacéuticos. Gracias a este método es posible la eliminación de hasta 99 % del agua inicial del producto (Ochoa *et al.*, 2004).

Las ventajas de la conservación de alimentos mediante la deshidratación respecto a otros métodos incluyen la disminución de costos de transporte al reducir el peso y el volumen y se evita la utilización de cámaras de refrigeración; además de ser un método muy barato, puede adaptarse en comunidades que no cuentan con otras posibilidades de conservación como la refrigeración. Este método de conservación es ampliamente utilizado para productos como sopas, alimentos infantiles, productos lácteos y condimentos (De Michelis & Ohaco, 2015).

Durante el proceso de deshidratación, los nutrientes de los productos se concentran y por lo tanto su contenido calórico aumenta considerablemente. En la Tabla 3 se observa este comportamiento en jitomate y mango. Se observa que la fibra (necesaria para una buena digestión) aumenta alrededor de 10 veces en el jitomate

y cinco veces en el mango. De igual manera, su capacidad antioxidante se ve aumentada ya que el contenido de vitamina A aumenta.

Tabla 3. Contenido nutrimental de jitomate y mango

Componente	Contenido por cada 100 g de producto			
	Jitomate fresco	Jitomate deshidratado*	Mango fresco	Mango deshidratado**
Agua	93.0 g	15.0 g	83.4 g	11.0 g
Azúcares	4.0 g	37.59 g	13.7 g	52.5 g
Proteínas	1.2 g	14.11 g	0.82 g	5 g
Lípidos	0.2 g	2.97 g	0.38 g	4 g
Fibra	1.1 g	12.3 g	1.6 g	5 g
Calcio	10 mg	110 mg	11 mg	50 mg
Vitamina C	13.7 mg	0 mg	36.4 mg	0 mg
Vitamina A	42 µg	874 mg	54 µg	600 g

\*Los productos fueron deshidratados utilizando aire caliente (USDA, 2019).

#### 2.4.1. Proceso de deshidratación de frutos

El proceso mediante el cual se lleva a cabo deshidratación con aire caliente de los frutos se describe a continuación (Monsalve & Machado, 2007):

- 1) Recepción: Se descargan los frutos de manera manual y se realiza un muestreo rápido para determinar las variables de calidad iniciales (porcentaje de sólidos totales, grado de madurez y acidez) en el producto.
- 2) Selección: Se lleva a cabo la inspección visual para desechar las unidades que presentaban apariencia extraña, tal como perforaciones, baja madurez y daños mecánicos.
- 3) Clasificación: Se toman en cuenta los parámetros reportados en el paso 1, para separar los productos en distintas clases.
- 4) Lavado: Se realiza con el objetivo de retirar impurezas del fruto, tales como polvo, hojas, palos y tierra. Se lleva a cabo mediante inmersión de los frutos en soluciones con detergentes.
- 5) Escaldado: Se realiza sumergiendo los frutos en agua a temperaturas entre 65 y 90 °C por 1-3 min con el objetivo de inactivar enzimas que puedan generar deterioro en el producto final.

- 6) Troceado/rebanado: Se lleva a cabo para facilitar el secado, debido al aumento del área para la transferencia de calor.
- 7) Aplicación de aire caliente: Dicha operación se lleva a cabo realizando combinaciones de temperatura, flujo del aire y humedad relativa; toma en cuenta características del fruto a deshidratar, tales como el tamaño, turgencia y el contenido de carbohidratos y pigmentos. El proceso termina cuando se alcanza un peso constante de la materia deshidratada, para lo cual es necesario llevar a cabo mediciones a cada cierto tiempo.
- 8) Envasado: Se realiza en condiciones herméticas, con la finalidad de proteger al producto; se utilizan materiales impermeables al vapor de agua y al oxígeno; y que puedan proteger al alimento del paso de la luz, para evitar procesos degradativos.

#### 2.4.2. Microbiología de frutos deshidratados

El proceso de deshidratación puede resultar muy agresivo para la integridad de células bacterianas, sin embargo, no garantiza la inocuidad de los productos. El bajo pH de los productos deshidratados, así como la presencia de ácidos orgánicos nativos, generan condiciones selectivas para el desarrollo de microorganismos resistentes a esas condiciones tales como: bacterias ácido lácticas (BAL), *Enterococcus faecalis*, bacterias del género *Staphylococcus* y esporas de *Bacillus* spp., así como hongos filamentosos y levaduriformes (Fernández Escartín, 2008). En el caso de las levaduras y las BAL, al no poseer los mecanismos necesarios para migrar dentro del producto, se mantienen en la superficie causando deterioro. Los hongos filamentosos, por otro lado, pueden encontrar las condiciones idóneas para producir micotoxinas en el alimento (Trucksess & Scott, 2008).

Además de contener microorganismos deterioradores, se ha visto que en los frutos deshidratados pueden sobrevivir microorganismos patógenos por largos periodos de tiempo tal como se observa en la Tabla 4.

Tabla 4. Supervivencia de patógenos en frutos deshidratados

Patógeno	Alimento	Supervivencia	Referencia
<i>E. coli</i> O157:H7	Polvo de manzana	El patógeno sobrevivió en el producto durante 19 semanas. La inactivación fue más rápida al disminuir el pH y aumentar la temperatura de almacenamiento.	(Deng <i>et al.</i> , 1998)
	Semillas de alfalfa	El patógeno reduce su población en 0.6-0.9 Log UFC/g en 52 semanas almacenado a 5°C, sin lograr la inactivación completa.	(Beuchat & Scouten, 2002)
<i>S. enterica</i>	Semillas de alfalfa	La población inicial se redujo a 0.3 Log UFC/g en almacenamiento a 5°C durante 52 semanas, mientras que a 37°C se observó supervivencia hasta por 42 semanas.	(Beuchat & Scouten, 2002)
	Rebanadas de papa	Las rebanadas se secaron a 60°C durante 6 h, logrando la reducción de 0.81 Log UFC/g.	(DiPersio <i>et al.</i> , 2007)
	Rebanadas de zanahoria	El producto fue calentado hasta los 80°C, y se almacenó a 25°C por 30 días, logrando la inactivación de 1.7–2.6 Log UFC/g.	(DiPersio <i>et al.</i> , 2005)

#### 2.4.2.1. Prevalencia y supervivencia de *Salmonella enterica* en frutos deshidratados

De acuerdo con Beuchat *et al.* (2012), la prevalencia de *S. enterica* en alimentos de baja actividad de agua no es un tema nuevo, ya que desde 1989 se tiene reporte de brotes de este microorganismo asociados al consumo de alimentos de baja actividad de agua.

De acuerdo con Aguilar-Vázquez (2015) la prevalencia de *S. enterica* en jitomate deshidratado fue de 56 %, mientras que la sobrevivencia en el producto fue de ocho días a temperatura ambiente. En otros estudios, se han reportado sobrevivencia de bacterias entéricas, como *Listeria monocytogenes*, hasta por un año en pasas y fresas deshidratadas almacenadas a 4 °C (Cuzzi *et al.*, 2021).

La posible contaminación de los alimentos deshidratados puede asociarse a las malas prácticas de manejo de los trabajadores o bien al uso incorrecto de los equipos de deshidratación (Ávila-Quesada *et al.*, 2009).

*S. enterica* sobrevive hasta por 18 meses en la superficie de la nuez pecana, y el secado con aire caliente del fruto posterior a la inoculación del patógeno hasta alcanzar la Aa inicial, reduce hasta dos logaritmos la concentración de la bacteria. Por otro lado, en almendras, la sobrevivencia del patógeno se prolongó hasta por 161 días, teniendo una velocidad de muerte muy baja (0.2 Log/mes) en el almacenamiento a 23 °C y que, si se cambia la temperatura de almacenamiento desde -20 hasta 35 °C, el tiempo de sobrevivencia oscila entre 171 hasta 550 días (Jarvis *et al.*, 2016).

Con los datos presentados anteriormente, en relación con la contaminación bacteriana durante el proceso de deshidratación surgen las interrogantes ¿las células de *S. enterica* estuvieron en el alimento desde el inicio de la deshidratación? o, ¿los productos se contaminaron durante el proceso debido a malas prácticas de manipulación? Cualquiera que sea la respuesta a estas preguntas, abre la posibilidad de que las células hayan adquirido características que les ayuden a sobrevivir durante el tiempo de almacenamiento de los productos deshidratados.

#### 2.4.3. Brotes asociados a alimentos de baja actividad de agua

La información etiológica en nuestro país es escasa, por lo cual se recurre a observar la información de los Estados Unidos, aun con las diferencias que existen entre la población de ambos.

Durante el año 2016, en Centro para el Control y Prevención de enfermedades de los Estados Unidos (CDC, por sus siglas en inglés) reportó 17 brotes asociados a productos hortofrutícolas de baja actividad de agua (incluyendo semillas, granos, frijoles y nueces) en los cuales se presentaron 511 enfermos (CDC, 2016).

Entre los brotes más recientes en alimentos de baja actividad de agua, se encuentra el ocurrido en 2018 en el cereal de *Kellogg's Honey Smacks*, en el cual ocurrieron 135 casos, con 34 hospitalizaciones en 36 estados. El agente etiológico asociado a este brote corresponde a *S. Mbandaka*, que fue determinada utilizando la huella genética encontrada en las muestras recolectadas (CDC, 2018).

### 2.5. *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* corresponde a un bacilo Gram negativo, perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, puede desarrollarse en medio aerobio o anaerobio y puede utilizar flagelos para desplazarse. Este género contiene dos especies: *S. enterica* y *S. bongori*. En *S. enterica* se conocen alrededor de 2500 serotipos, de los cuales menos de 100 son los responsables de las infecciones en el ser humano. El hábitat natural de esta bacteria es el tracto intestinal de los animales y el hombre, liberándose al medio en las heces; se desarrolla entre los 6 y los 46 °C, teniendo como temperatura óptima entre 35 y 37 °C; en rango de pH va desde 3.8 hasta 9, siendo el óptimo 7; su actividad de agua óptima es de 0.94 (Bartz *et al.*, 2014).

De acuerdo con el CDC, cada año este patógeno es el responsable de alrededor de 1.2 millones de enfermos, de 23 mil hospitalizaciones y de 450 muertes (CDC, 2016).

#### 2.5.1. Salmonelosis

La salmonelosis es la infección producida en los seres humanos por *S. enterica*, la cual puede ser adquirida por el consumo de alimentos o agua contaminados con la bacteria, es posible separar este padecimiento en cuatro tipos de cuadros clínicos de acuerdo con Mafi & Orenstein (2018):

- a) Fiebre tifoidea: Es el término que describe el padecimiento causado por *S. Typhi*. Los síntomas de esta enfermedad pueden ser dolor de cabeza y

abdominal, diarrea leve y estreñimiento; éstos se presentan entre una y dos semanas después de la infección. Si no se trata adecuadamente, el cuadro puede complicarse con la aparición sangrado y perforación intestinal, hepatoesplenomegalia y encefalopatía.

- b) Gastroenteritis: Este padecimiento es el más común de la salmonelosis no tifoidea, los síntomas que se presentan son: náuseas, vómito, diarrea acuosa y dolor abdominal; en casos más graves puede aparecer fiebre, mialgia y cefalea. La mayoría de los síntomas desaparecen al cabo de 7 días.
- c) Bacteriemia y otras infecciones extraintestinales: Estos padecimientos son resultado de complicaciones de la fiebre tifoidea y la gastroenteritis, y pueden ocurrir sin haber presentado síntomas como la diarrea. Se tiene reportado que aproximadamente 10 % de los pacientes bacterémicos presentan infecciones localizadas, tales como la endocarditis, aortitis, colangitis, meningitis, neumonitis, linfadenitis, artritis y, en raras ocasiones, abscesos hepáticos y esplénicos.
- d) Estado portador crónico: En este estado, a pesar de no presentar síntomas hasta por un año posterior a la infección, el paciente estará diseminando el microorganismo.

### 2.5.2. Patogenicidad de *S. enterica*

Para que ocurra la infección con *S. enterica*, es necesaria la configuración de una serie de pasos que se explicarán a continuación.

#### 1. Ingesta de alimentos contaminados

*Salmonella* ingresa al hospedante u hospedero al ingerir agua o alimentos contaminados (Figura 3). La acidez estomacal es la primer barrera del organismo contra la bacteria, ya que disminuye el número de células ingeridas, sin embargo, la población sobreviviente alcanza la luz intestinal donde puede infectar las células epiteliales. Después de superar la barrera epitelial y matar las células huésped, *Salmonella* puede propagarse a los órganos viscerales a través de las células

fagocíticas del sistema linfático, lo que causa la infección sistémica (López *et al.*, 2012).

## 2. Infección

Los pasos en la infección por *S. enterica* de acuerdo con López *et al.* (2012) son los siguientes:

- a. Adhesión: Este es el paso crucial de la infección que permite a las bacterias colonizar el intestino huésped (Figura 3C, Paso 1). Se ha demostrado que incluso cuando *S. enterica* puede infectar a un huésped sano, la probabilidad de colonización aumenta durante los períodos de inmunosupresión o estrés fisiológico. La presencia de patógenos activa las vías de señalización de las células huésped, induciendo respuestas de amplio rango, como las citocinas inflamatorias, que actúan como una barrera física para las nuevas infecciones.
- b. Invasión: Este paso se lleva a cabo mediante un mecanismo codificado y regulado por los genes de la isla de patogenicidad 1, donde muchos efectores conducen a una proceso que internaliza la célula bacteriana (Figura 3C, Paso 2). En las células epiteliales, *Salmonella* está encerrada dentro de un compartimento fagosómico intracelular denominado VCS (vacuola que contiene *Salmonella*).
- c. Modificación en vacuolas: Después de que la bacteria entra en VCS, estas vacuolas pasan por un proceso de maduración en el cual participa una serie de genes específicos. Mientras que la bacteria se encuentre dentro de VCS, estará protegida del medio citoplasmático (Figura 3C, Paso 3 y 4).
- d. Replicación bacteriana: La replicación bacteriana comienza después de que las VCS se encuentra en la región perinuclear y se ha incorporado la cantidad suficiente de nutrientes (Figura 3C, Paso 5). La característica principal de esta etapa de virulencia de *Salmonella* es la presencia de estructuras Sifs (filamentos inducidos por *Salmonella*) que



son extensiones tubulares de vesículas específicas. Estas estructuras son ricas en proteínas de membrana asociadas a lisosomas de endosomas / lisosomas tardíos.

- e. Muerte celular: Muchos estudios han postulado que el patógeno es capaz de causar la muerte celular y la diseminación sistémica después de la replicación, por mecanismos que involucran la isla de patogenicidad 1 en varios tipos de células (Figura 3C, Paso 6).

El proceso infeccioso se encuentra regulado por las islas de patogenicidad (SPI) de *S. enterica*, las cuales son grupos de genes involucrados en codificar los factores de virulencia. Se sabe que esta bacteria cuenta con 5 SPI en su cromosoma (Figura 4), las cuales de acuerdo con López *et al.* (2012) y Herrera & Jabib (2015) se describen a continuación:

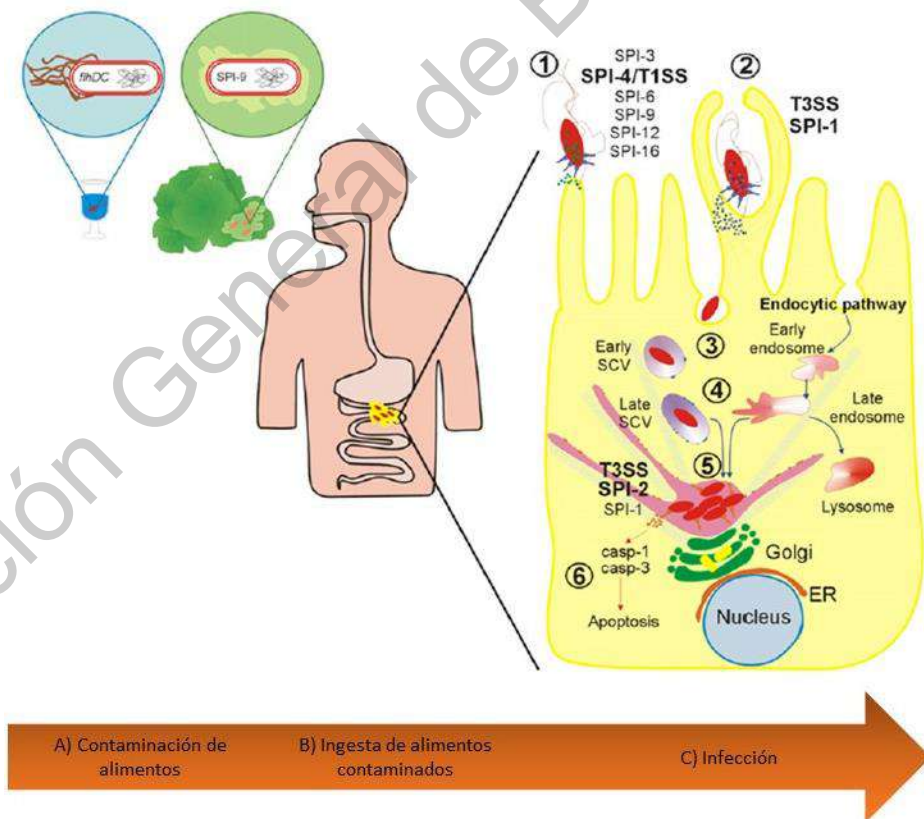


Figura 3. Representación esquemática del proceso infeccioso de *Salmonella* (López *et al.*, 2012).

- SPI-1: Es un segmento de 35-40 kb ubicado en el centisoma 63, contiene 31 genes que codifican proteínas que se relacionan con la capacidad de penetración de la bacteria en las células intestinales, translocando las moléculas efectoras y sus chaperonas dentro del citoplasma de la célula huésped, para dar comienzo con la infección. El gen más importante, es el gen *hilA*, al ser el promotor de esta isla.
- SPI-2: Segmento de 40 kb, localizado en el centisoma 31, contiene 32 genes que regulan la supervivencia y replicación de la bacteria dentro de los fagocitos y las células epiteliales.
- SPI-3: Se encuentra localizada en el centisoma 82 y su tamaño es de 17 kb. Su función es la supervivencia intracelular de la bacteria en macrófagos.
- SPI-4: Se encuentra localizada en el centisoma 92, su tamaño es de 27 kb y se compone de 18 genes asociados a la secreción de toxinas y la adaptación intracelular.
- SPI-5: Se localiza en el centisoma 20, su tamaño es de 7.5 kb y es la encargada de codificar proteínas involucradas en la secreción fluida y la reacción inflamatoria de la mucosa intestinal, además de secretar cloro para el flujo en los macrófagos.

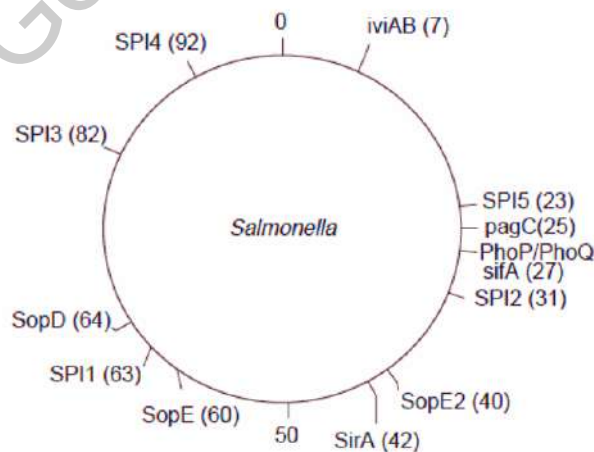


Figura 4. Localización de las islas de patogenicidad y genes de virulencia de *S. enterica* (Figuroa Ochoa & Verdugo Rodríguez, 2005)

### 2.5.3 Tolerancia de *S. enterica* a factores de estrés subletal

Las células de *Salmonella* en los alimentos de baja actividad de agua y en los ambientes de procesamiento, deben enfrentar cambios ambientales adversos. Para responder a estos cambios, las células activan respuestas a distintas señales ambientales, tales como la temperatura, el pH y la osmolaridad. Estas condiciones adversas continúan cuando las células entran al huésped, donde enfrentan péptidos antimicrobianos, estrés oxidativo y falta de nutrientes, por lo que, para lograr la sobrevivencia a estos factores de estrés, las bacterias deben contar con mecanismos para una rápida adaptación a estos escenarios. Dichos mecanismos son regulados por los genes de respuesta al estrés, lo que provoca la expresión de los genes de virulencia (Shen & Fang, 2012), es decir, al exponer a células aun tipo de estrés subletal, estas células obtendrán resistencia a este mismo factor de estrés o a algún otro (Figura 5) (Yousef & Juneja, 2003).



Figura 5. Relación de la tolerancia al estrés respecto al estado fisiológico celular (Yousef & Juneja, 2003).

Los principales factores de estrés a los cuales se enfrenta *S. enterica* durante el procesamiento de alimentos son el pH, la temperatura y la baja actividad de agua. Se ha encontrado que la exposición a pH de 3.5 se genera tolerancia a la inactivación térmica de células de *Salmonella* en albúmina de huevo deshidratada (Lound *et al.*,

2017). En otro estudio, se analizó la tolerancia térmica de *S. Enteritidis* generada por la combinación de estrés ácido y osmótico, obteniendo que 1-3 % de NaCl con pH entre 4.5 y 5.4, la velocidad de inactivación bacteriana, sin embargo, llega un punto, después de 4 días de almacenamiento, en el cual la población bacteriana se mantiene constante por al menos 30 días más (Kang *et al.*, 2018).

El cambio en las respuestas celulares y bioquímicas, como consecuencia de la exposición a factores estresantes, que son producidas por los cambios en los niveles de transcripción, se encuentra regulado por el factor sigma de transcripción, también llamado control maestro del estrés, que en el caso de las bacterias Gram negativas, es el gen *rpoS*, ya que es el encargado de desencadenar las cascadas de señalización que generarán las respuestas ante factores ambientales adversos (Gómez-Baltazar *et al.*, 2019; Shen & Fang, 2012).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del estrés subletal previamente causado a cepas de *S. enterica* en la sobrevivencia del patógeno en dos escenarios de la producción de jitomate y mango deshidratado con aire caliente.

#### 3.2. Objetivos específicos

- Establecer las condiciones óptimas de deshidratación con aire caliente de jitomate y mango que generan la mejor calidad.
- Generar estrés subletal en cepas de *S. enterica* mediante la exposición a pH ácido y calor.
- Evaluar el efecto del estrés subletal de cepas de *S. enterica* sobre la sobrevivencia del patógeno durante la deshidratación con aire caliente de jitomate y mango y su posterior almacenamiento.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Material biológico

#### 4.1.1. Frutos

Jitomate 'saladette' fresco

Mango 'Tommy Atkins' fresco

#### 4.1.2. Cepas

Se utilizaron cuatro cepas de *S. enterica* resistentes a rifampicina (200 ppm), aisladas en trabajos previos en el Laboratorio para la Evaluación y Control de Riesgos Microbianos en Alimentos (LECRIMA), y se enlistan a continuación:

- *S. Typhimurium* ATCC 23595 (ST)
- Cepa aislada de jitomate 'saladette' fresco (JF)
- Cepa aislada de jitomate 'saladette' deshidratado (JD)
- Cepa aislada de mango 'Ataulfo' fresco (MF)

### 4.2. Métodos

#### 4.2.1. Establecimiento de las condiciones de deshidratación

##### 4.2.1.1. Caracterización de los frutos antes y después de la deshidratación

Se seleccionaron mangos de la variedad 'Tommy Atkins' y jitomates tipo saladette que cumplieran con las características adecuadas para someterse al proceso de deshidratación (un aspecto fresco, tamaño homogéneo, no sobremadurados, limpios y sin daños mecánicos) adquiridos en supermercados de la ciudad de Querétaro. Los frutos se lavaron por inmersión en agua con detergente comercial y posteriormente se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio a 100 ppm.

En condiciones asépticas los mangos se deshuesaron empleando un deshuesador de mangos, se retiró el epicarpio y se obtuvieron rebanadas de 0.5 cm de espesor;

siguiendo un proceso similar se obtuvieron rebanadas de jitomates. Los frutos se caracterizaron de acuerdo con los métodos referidos a continuación.

#### 4.2.1.1.1. pH

El pH se midió utilizando un potenciómetro de vidrio (Jenway, 3510 pH Meter, USA), previamente calibrado, de acuerdo con lo establecido en el método AOAC 981.12. La determinación se realizó por triplicado y se expresó el resultado como la media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.2.1.1.2. Acidez titulable

Esta determinación se basó en lo establecido en la NMX-FF-011-1982. Se extrajeron 5 mL del jugo de las frutas en un matraz Erlenmeyer de 125 mL. Se añadieron 3 gotas de solución de fenolftaleína, se tituló con NaOH (0.1 N). El cálculo de la acidez (% acidez) se realizó con la ecuación 1. Las mediciones se realizaron por triplicado y el resultado se expresó como la media  $\pm$  desviación estándar.

Ecuación 1.

$$mg\ g^{-1}\ de\ \acute{a}cido\ c\acute{i}trico = \left( \frac{(V_{NaOH})(N_{NaOH})(0.064)}{V_{muestra}} \right)$$

donde:

$V_{NaOH}$ : Volumen gastado durante la titulación

$N_{NaOH}$ : Concentración normal del hidróxido de sodio

$V_{muestra}$ : Volumen de la muestra

#### 4.2.1.1.3. Humedad

Se colocaron 2 g de la muestra en una cápsula de porcelana (a peso constante) y se colocaron en la estufa a 130 °C por 2 h, pasado el tiempo se enfriaron en un desecador por 40 min. El contenido de humedad (% humedad) se calculó de acuerdo con la ecuación 2. La determinación se realizó por triplicado y el resultado se expresó como la media  $\pm$  desviación estándar (método AOAC 925.23).

Ecuación 2.

$$\% \text{ humedad} = \frac{W_i - W_f}{W_i} * 100$$

$W_i$ : Peso de la muestra húmeda

$W_f$ : Peso de la muestra seca

#### 4.2.1.1.4. Sólidos solubles

Los sólidos solubles se determinaron siguiendo las especificaciones de la NMX-F-103-1982. Se colocó una gota de jugo de cada uno de los frutos en un refractómetro manual (Atago, USA) previamente calibrado con soluciones conocidas de sacarosa y se tomó la lectura de °Brix. La determinación se realizó por triplicado y se expresó el resultado como la media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.2.1.1.5. Actividad de agua

Se utilizó un acoplado con un higrómetro a punto de rocío (Aqualab, USA), de acuerdo con lo establecido en la AOAC (método 978.18). Se colocaron las muestras de los frutos en charolas y se realizó la medición de acuerdo con las especificaciones del equipo. La determinación se llevó a cabo por triplicado y se expresó el resultado como la media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.2.1.1.6. Índice de maduración

El índice de maduración es la relación que existe entre los sólidos solubles y la acidez total titulable de la fruta; para deshidratar los frutos, deben tener un índice de maduración de ~10 para jitomate (San Martín-Hernández *et al.*, 2012) y de ~20 para mango (Rodríguez-Sandoval, 2012). El índice de maduración se calculó con la ecuación 3.

Ecuación 3.

$$IM = \frac{\text{Sólidos solubles}}{\% \text{ Acidez}}$$



#### 4.2.1.1.7. Firmeza

La determinación de firmeza está basada en la fuerza requerida para fracturar una muestra de alimento, simulando las condiciones de masticado. Para esta prueba se utilizó un texturómetro (Texture Analyzer, USA) con una sonda cilíndrica de 2 mm de diámetro. Las pruebas se corrieron a 2 mm/s. El valor de firmeza se tomó en el punto en que la fuerza ejercida tuvo una caída repentina generada por la fractura de la muestra (Rodríguez-Sandoval, 2012). La determinación se realizó por triplicado en seis puntos diferentes de la muestra y se expresó el resultado como la media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.2.1.1.8. Color

La determinación de color se llevó a cabo con un colorímetro previamente calibrado (Konica Minolta CR400, USA) utilizando la escala CIE-LAB. Se obtuvieron los valores de luminosidad ( $L^*$ ), rojo-verde ( $a^*$ ) y amarillo-azul ( $b^*$ ) de seis puntos diferentes en la muestra. La determinación se realizó por triplicado y se expresó el resultado como la media  $\pm$  desviación estándar.

#### 4.2.1.2. Preparación de la materia prima

Una vez determinadas las variables de calidad de los frutos en fresco, los jitomate y mangos se separaron en dos lotes, a uno de ellos se le aplicó el tratamiento químico (sulfitado) para evitar el pardeamiento durante la deshidratación con aire caliente, el cual consistió en sumergir durante cinco minutos las rebanadas de jitomate y mango en una disolución de metabisulfito de sodio (0.5 %), mientras que el otro lote se procesó directamente.

#### 4.2.1.3. Deshidratación de los frutos

Por separado, las rebanadas de jitomate y mango se colocaron en las charolas de un deshidratador (Hamilton Beach 32100, USA) y se inició el proceso de deshidratación de acuerdo con los tratamientos mostrados en la Tabla 5.

Periódicamente se retiraron rebanadas para pesarlas y construir las curvas de deshidratación.

Tabla 5. Tratamientos de deshidratación de jitomate y mango con aire caliente

Tratamiento	Temperatura (°C)	Sulfitado (%)
1	50	0
2	50	0.5
3	70	0
4	70	0.5

#### 4.2.1.3.1. Curvas de secado de los frutos

Las curvas de secado se realizaron registrando periódicamente la pérdida de peso (agua) de la muestra hasta obtener al menos tres valores constantes de peso. Los datos obtenidos fueron transformados a humedad libre utilizando las ecuaciones 4 y 5 y se graficó la humedad en equilibrio respecto al tiempo.

Ecuación 4.

$$MR_t = \frac{W_f - W_s}{W_s}$$

$MR_t$ : relación entre el peso del agua y el peso del sólido seco en un tiempo determinado

$W_f$ : peso del sólido húmedo

$W_s$ : peso del sólido seco

Posteriormente, con el valor  $MR_t$  se calculó el contenido de humedad libre (X) de acuerdo con la ecuación 5:

Ecuación 5.

$$MR = MR_t - MR_e$$

$MR_e$ : humedad del producto en equilibrio (Humedad al final del proceso)

#### 4.2.1.3.2. Modelado matemático de las cinéticas de secado de secado de los frutos

Se utilizó el modelo de Midelli (ecuación 6) para simular las cinéticas de secado con ayuda del programa Minitab 17 Statistical Software, USA. Esta ecuación se ha utilizado exitosamente para calcular la velocidad de secado a través de modelos matemáticos del proceso.

Ecuación 6.

$$MR = ae^{-kt^n}$$

Donde:

*k*: velocidad de secado

*a* y *n*: constantes del modelo

Para poder analizar de manera más completa las cinéticas de secado fue necesario tomar algunas consideraciones para el modelado; dichas consideraciones se pueden incluir al calcular la difusividad efectiva ( $D_{eff}$ ) de acuerdo con la ecuación 7, la cual es el despeje de la función lineal entre el  $\ln MR$  respecto al tiempo.

Ecuación 7.

$$D_{eff} = \frac{4L^2m}{\pi^2}$$

Donde:

*L*: espesor de la rebanada

*m*: pendiente de la recta

#### 4.2.1.4. Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento se realizó en dos ocasiones siguiendo un diseño bifactorial totalmente aleatorizado con tres réplicas de cada tratamiento. Los factores evaluados fueron la temperatura de deshidratación y el sulfitado, las variables respuesta fueron la velocidad de secado,  $D_{eff}$  humedad final, color y firmeza de los frutos deshidratados.

Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA) seguida de una comparación de medias por la prueba de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ) utilizando el paquete estadístico Minitab 17 Statistical Software, USA. Para cada fruta se seleccionó el tratamiento que brindó los mejores resultados de calidad.

#### 4.2.2. Exposición de las cepas de *S. enterica* a los tratamientos para causar estrés subletal

##### 4.2.2.1. Preparación del inóculo

Las cepas de *S. enterica*, almacenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  en caldo soya tripticaseína (CST) (Bioxon, BD) con glicerol al 15 %, se reactivaron inoculando (por separado) 40  $\mu\text{L}$  en 3 mL de CST, incubando por 12 h a  $35^{\circ}\text{C}$  hasta alcanzar el inicio de la fase estacionaria (Anexo 1). Posteriormente, se realizaron tres lavados con solución salina isotónica (NaCl, 0.085 %) (SSI) a cada una de las cepas, centrifugando a 15000 rpm por 3 min y, finalmente, se suspendieron las pastillas bacteriana en 3 mL SSI.

##### 4.2.2.2. Preparación de los extractos de fruta

Se obtuvieron extractos de jitomate y mango al 10 % (p/v), para lo cual se tomaron porciones de los frutos frescos y se mezclaron con agua destilada estéril, se homogenizaron por agitación durante 30 s. De cada extracto de fruta se separaron dos lotes y a uno de ellos se ajustó el pH hasta la neutralidad (pH=7). Una vez ajustado el pH, los extractos se sometieron a pasteurización a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 4 min de acuerdo con lo establecido por Deshaware *et al.* (2019). Al finalizar la pasteurización, los extractos fueron almacenados en congelación hasta su utilización ( $-20^{\circ}\text{C}$ ).

##### 4.2.2.3. Tratamientos estresantes

Una vez reactivadas las cepas de *S. enterica*, se inocularon 400  $\mu\text{L}$  de la suspensión de cada una de las cepas en 3.6 mL de cada uno de los extractos de frutos ( $\sim 8$  Log

UFC), y se sometieron al calentamiento, en un baño de agua, de los tratamientos generadores de estrés mostrados en la Tabla 6.

Tabla 6. Tratamientos generadores de estrés subletal en células de *Salmonella*

	pH	Temperatura (°C)	Tiempo de exposición (h)
Mango	7.0	50	0, 1 y 2
		70	0, 1 y 2
	4.2	50	0, 1 y 2
		70	0, 1 y 2
Jitomate	7.0	50	0, 1 y 2
		70	0, 1 y 2
	4.4	50	0, 1 y 2
		70	0, 1 y 2

#### 4.2.2.4. Cuantificación de células estresadas mediante el cultivo en placa

Periódicamente (0, 1 y 2 h), de cada extracto de fruto se tomó un mililitro y se realizaron las diluciones decimales correspondientes. La cuantificación de las células de *S. enterica* sobrevivientes se llevó a cabo mediante la técnica de extensión en superficie en dos medios de cultivo: agar soya tripticaseína suplementado con rifampicina y piruvato de sodio (1 mM) (ASTRP); y en ASTR con NaCl (1 %) (ASTRNa). Las placas se incubaron a 35°C por 24 h. Al término del tiempo de incubación se realizó el conteo de UFC.

#### 4.2.2.5. Cálculo del porcentaje de células estresadas

Una vez realizado el recuento de las UFC luego de la aplicación de los tratamientos de estrés, se calculó el porcentaje de células estresadas (%C<sub>e</sub>) en cada uno de los tratamientos de acuerdo con la ecuación 8:

$$\%C_e = 100 - \left( \frac{UFC_{nd}}{UFC_t} \right) (100)$$

Ecuación 8

En donde:

UFC<sub>nd</sub>: UFC no dañadas contadas en ASTR con NaCl (ASTRNa)

UFC<sub>t</sub>: UFC totales contadas en ASTR con piruvato (ASTRP)

#### 4.2.2.6. Cuantificación del estrés subletal mediante citometría de flujo

Al trascurrir la primera y la segunda hora de exposición a los tratamientos estresantes (Tabla 6), se tomaron alícuotas de cada tratamiento y se realizó la tinción con dos colorantes y la medición de la población teñida en un citómetro de flujo.

##### 4.2.2.6.1. Tinción de células de *S. enterica*

Se tomó 1 mL de los extractos frutales inoculados con *S. enterica* luego de 0, 1 y 2 h de exposición a los tratamientos estresantes, se centrifugaron a 12000 rpm durante 3 min a 4 °C, se lavaron dos veces utilizando solución amortiguadora de fosfatos (PBS), y finalmente se suspendieron en: 1 mL de disolución de yoduro de propidio (1 µg mL<sup>-1</sup> de yoduro de propidio en PBS; Sigma Aldrich) y 1 mL de bromuro de etidio (10 µg mL<sup>-1</sup> de bromuro de etidio en PBS; Sigma Aldrich) para evaluar la integridad de membrana y la actividad de bombas de flujo, respectivamente.

Las células resuspendidas en los colorantes se incubaron a 37 °C durante 15 min; pasado ese tiempo, se centrifugaron, se lavaron dos veces y se suspendieron en 1 mL de PBS.

##### 4.2.2.6.2. Cuantificación mediante citometría de flujo

Las mediciones se llevaron a cabo en el Laboratorio de Genética Molecular Microbiana, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Se empleó un citómetro de flujo CytoFLEX, Beckman Coulter (USA), equipado con un láser de 488 nm como fuente de excitación para ambos fluorocromos y la fluorescencia fue recolectada con el filtro PE (585/42 BP). Para cada muestra, se recopilaron al menos

10000 eventos. Los datos se procesaron con el software CytExpert 2.3, Beckman Coulter (USA).

#### 4.2.2.7. Diseño experimental y análisis estadístico

Todos los experimentos se realizaron independientemente y por triplicado. Los porcentajes de células estresadas (método de placa) y células teñidas (citometría de flujo) se compararon (para cada cepa y cada colorante) mediante un ANDEVA de dos factores (tiempo de exposición a 50 °C y el pH del extracto) y la comparación de medias por la prueba de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ). Finalmente, para demostrar una posible correlación entre la pérdida de viabilidad y los daños fisiológicos (alteración de la permeabilidad de membrana y la actividad de bombas flujo) se realizaron pruebas de correlación de Pearson con el programa Minitab 17 Statistical Software, USA.

#### 4.2.3. Sobrevivencia de las *S. enterica* durante la deshidratación de los frutos

##### 4.2.3.1. Inoculación de los frutos

Se prepararon inóculos de cada cepa de *Salmonella* como se describió previamente en el apartado 4.2.2.1. Posteriormente se sometieron a los tratamientos que generaron el mayor porcentaje de células estresadas. Al término de los tratamientos estresantes, cada una de las cepas se inocularon por goteo con 1 mL (6 Log UFC g<sup>-1</sup>) en rebanadas de 10 g de jitomate y mango frescos. De manera simultánea se inocularon rebanadas de los frutos con cultivos de las cepas que no se sometieron al tratamiento estresante (controles). Los frutos inoculados se colocaron dentro de una campana de flujo laminar durante 30 min para facilitar la absorción del inóculo.

##### 4.2.3.2. Deshidratación de los frutos inoculados

Las rebanadas de los frutos inoculados se colocaron en un deshidratador (Hamilton Beach 32100, USA) durante 11 h a 50 °C, ya que este tratamiento fue el que generó frutos deshidratados de mejor calidad.

#### 4.2.3.2.1. Cuantificación de *S. enterica*

Periódicamente (0, 3, 6, 9 y 12 h) se tomaron tres rebanadas de cada uno de los frutos durante el proceso de deshidratación con aire caliente, se pesaron y se añadió diluyente de peptona respetando la relación 1:10; y se homogenizaron mecánicamente durante 1 min a velocidad media. A partir de la suspensión homogenizada, se realizaron diluciones decimales y se hizo el recuento de las células sobrevivientes utilizando placas de ASTRP mediante la técnica de extensión en superficie. Las placas se incubaron a 35°C durante 48 h.

#### 4.2.3.2.2. Modelado de las curvas de muerte de *S. enterica*

Los resultados de los recuentos de la población a lo largo del tiempo de deshidratación se transformaron a log UFC g<sup>-1</sup>. Los datos se utilizaron para el modelado matemático, utilizando el modelo de Baranyi y Roberts, con el programa DMFit versión 3.5 ([www.combase.cc](http://www.combase.cc)). Se calculó la velocidad de muerte de cada una de las cepas en los dos frutos durante el proceso de deshidratación con aire caliente.

#### 4.2.3.3. Análisis estadístico

Se comparó la velocidad de muerte para *Salmonella* en cada producto, utilizando un diseño bifactorial completamente aleatorizado teniendo como factores la cepa y el tipo de estrés previo, mediante un análisis de varianza (ANDEVA) seguida de una comparación de medias por la prueba de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ) usando el programa Minitab 17 Statistical Software, USA.

#### 4.2.4. Sobrevivencia de *S. enterica* durante el almacenamiento de los frutos deshidratados

##### 4.2.4.1. Inoculación de los frutos deshidratados

Se prepararon inóculos de las cepas de *S. enterica* que mostraron la mayor capacidad de sobrevivencia a la deshidratación con aire caliente a 50 °C en cada



producto; para ello se siguió el procedimiento descrito previamente en el apartado 4.2.2.1. En los cultivos frescos se indujo el estrés subletal de acuerdo con las condiciones previamente seleccionadas en el apartado 4.2.2.7. Rebanadas de cada uno de los frutos deshidratados (10 g) se inocularon por goteo con 1 mL (~6 Log UFC g<sup>-1</sup>). Los frutos inoculados se secaron durante 45 min dentro de una campana de flujo laminar para obtener los valores de actividad de agua iniciales. Los frutos secos se empacaron en bolsas de polietileno, se sellaron térmicamente y se almacenaron en una incubadora a 25 °C con ausencia de luz.

#### 4.2.4.2. Cuantificación de *S. enterica*

Periódicamente se tomaron tres paquetes de cada uno de los frutos inoculados con cada una de las cepas, se añadieron 90 mL de diluyente de peptona y se homogenizaron mecánicamente durante 1 min a velocidad media. A partir de la suspensión homogenizada, se realizaron diluciones decimales y se hizo el recuento utilizando placas de ASTRP mediante la técnica de extensión en superficie. Las placas se incubaron a 35 °C durante 48 h.

#### 4.2.4.3. Modelado de las curvas de muerte de *S. enterica*

Los resultados de los recuentos de la población a lo largo del tiempo se transformaron a Log UFC g<sup>-1</sup>. Los datos obtenidos se utilizaron para el modelado matemático de Weibull (debido a que no fue posible realizar el modelado mediante el modelo de Baranyi y Roberts) utilizando el programa Minitab 17 Statistical Software, USA, para obtener el valor del tiempo necesario para la muerte de 1 Log de bacterias ( $\delta$ ) como variable respuesta para este experimento, utilizando la ecuación 9.

Ecuación 9:

$$\log \frac{N(t)}{N_0} = - \left( \frac{t}{\delta} \right)^\beta$$

Donde:

$N_t$ : Concentración de bacterias respecto al tiempo

$N_0 =$  Concentración de bacterias inicial

$t:$  tiempo (días)

$\delta =$  Tiempo necesario para la muerte de 1 Log de bacterias

$\beta =$  Constante del modelo (define si el comportamiento es cóncavo o convexo)

#### 4.2.4.4. Análisis estadístico

Se comparó el tiempo necesario para inactivar 1 Log UFC g<sup>-1</sup> de *Salmonella* en cada producto, calculado con el modelo de Weibull utilizando un diseño bifactorial completamente aleatorizado teniendo como factores la cepa y el tipo de estrés previo, mediante un análisis de varianza (ANDEVA) seguida de una comparación de medias por la prueba de Tukey ( $\alpha \leq 0.05$ ) con el programa Minitab 17 Statistical Software, USA.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Deshidratación de los frutos

#### 5.1.1. Caracterización física y química del mango y jitomate

Los frutos de mango y jitomate se caracterizaron antes de someterlos a los procesos de deshidratación, con la finalidad de asegurar tener materia prima lo más homogénea posible y evitar notables variaciones en el producto final. Los frutos presentaron un contenido de humedad alto (>80 %) y pH ácido (Tabla 7). La humedad del jitomate determinada en el presente trabajo fue ligeramente mayor que la reportada por Santos-Sánchez *et al.* (2012) ( $92.6 \pm 0.4$  %) en frutos de jitomate 'saladette' utilizados para la deshidratación. Con relación al contenido de sólidos solubles, actividad de agua y acidez titulable, los valores obtenidos coinciden con los reportados en los trabajos de Orikasa *et al.* (2018) y Fratianni *et al.* (2020) para ambos frutos. Los sólidos solubles son de gran relevancia, ya que su relación con la acidez titulable permite clasificar a los frutos teniendo como base un índice de maduración específico y evitar variaciones entre los lotes de fruta.

Tabla 7. Caracterización física y química de mango y jitomate como materia prima para la elaboración de frutos deshidratados

Parámetro	Mango <sup>1</sup>	Jitomate <sup>1</sup>
pH	$4.23 \pm 0.02$	$4.45 \pm 0.08$
Humedad (%)	$84.38 \pm 2.96$	$95.64 \pm 0.65$
Aa	$0.989 \pm 0.023$	$0.991 \pm 0.054$
Sólidos solubles (°Bx)	$14.48 \pm 0.58$	$5.75 \pm 0.64$
Acidez total titulable (mg g <sup>-1</sup> )	$0.69 \pm 0.17$	$0.43 \pm 0.62$
Índice de maduración	$20.98 \pm 1.27$	$13.37 \pm 0.98$

<sup>1</sup>Los resultados se expresan en base húmeda. <sup>2</sup>Cada uno de los valores corresponde a la media de seis datos.

El contenido de azúcares disueltos, además de servir para la caracterización del producto, es de gran importancia, ya que después de la deshidratación dicho

parámetro aumenta debido a la pérdida de agua en el proceso, y este podría ser un factor importante en la sobrevivencia de *Salmonella* en el producto deshidratado, ya que se cuenta con reportes de la capacidad del patógeno de sobrevivir en medios de baja actividad de agua y presión osmótica alta (Burgess *et al.*, 2016).

#### 5.1.2. Cinética de deshidratación de los frutos

La Figura 6 muestra la pérdida de humedad de los frutos en función del tiempo de secado. En las cinéticas de deshidratación se observan dos fases: la primera ocurre rápidamente dentro de las 3 h de secado y la segunda de manera lenta entre las 3 y 11 h del tratamiento. Se puede apreciar que la masa del agua respecto a la masa de sólido seco al inicio de la deshidratación se ubicó entre 5-8 y entre 25-30 kg de agua/kg de sólido seco en el mango y el jitomate, respectivamente; dichos valores disminuyeron hasta <1 en mango y ~5 kg de agua/kg de producto seco en jitomate. En términos generales e independientemente del tipo de fruto, se observó que a mayor temperatura, el tiempo de secado disminuyó, tardando 7 h a 70 °C y 11 h a 50 °C. Esta cinética es típica en el secado de frutas y vegetales, ya que al incrementar la temperatura de secado, aumenta la absorción de calor de las rebanadas de fruta, la transferencia de agua del alimento al aire, y la velocidad de secado (Coşkun *et al.*, 2017).

En la deshidratación de frutos con aire caliente, se pueden observar dos etapas de eliminación del agua, la primera de ella ocurre de manera muy rápida, ya que en esta etapa se elimina el agua libre que se encuentra dentro del alimento, eliminación que ocurre por vaporización. La segunda etapa tarda hasta dos terceras partes del tiempo de secado, ya que aquí se elimina el agua que se encuentra ligada al alimento (Karam *et al.*, 2016).

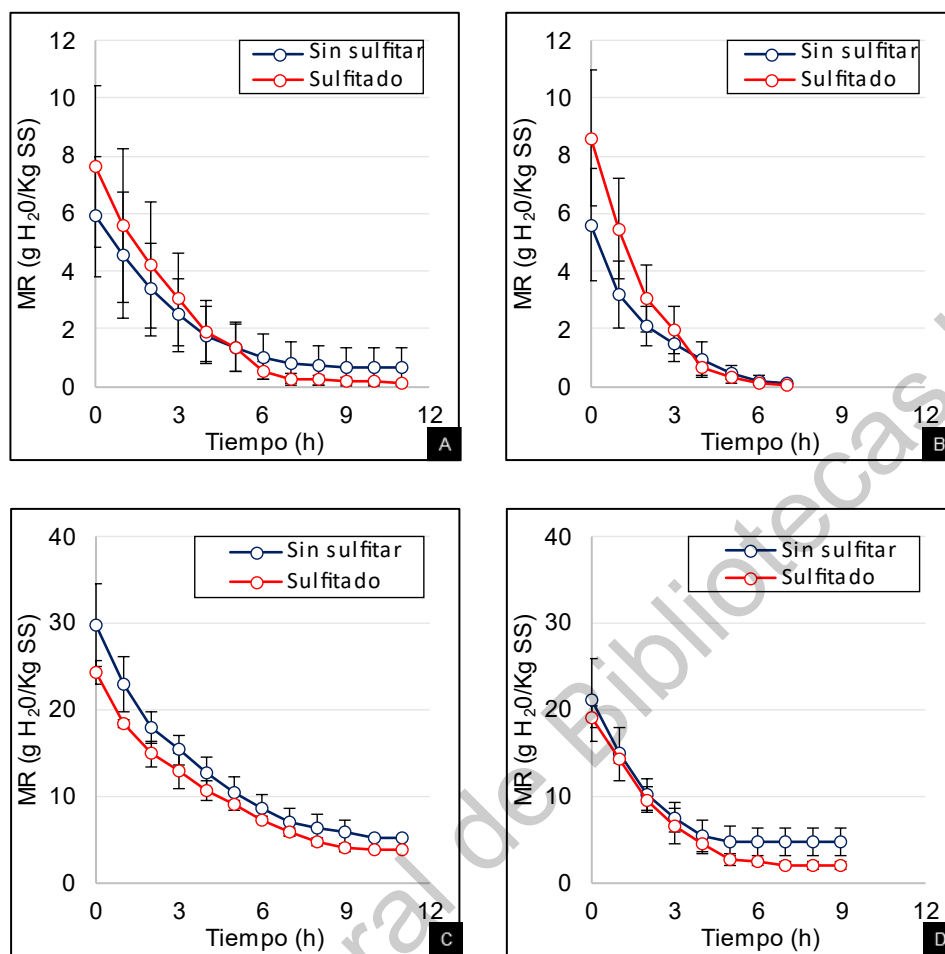


Figura 6. Cinéticas de deshidratación con aire caliente de los frutos.

A) Mango a 50 °C, B) Mango a 70 °C, C) Jitomate a 50 °C y D) Jitomate a 70 °C. Cada punto representa la media  $\pm$  desviación estándar de seis datos.

### 5.1.3. Humedad y actividad de agua

La deshidratación con aire caliente disminuyó el contenido de humedad en mango hasta ~8-10 % y en jitomate hasta 11-15 % (Tabla 8). Dichos datos concuerdan, para el caso del mango, con lo descrito por Nyangena *et al.* (2019) que reportaron valores de humedad de ~7 % luego de 10 h de deshidratación. En el caso de la humedad de jitomate, los datos obtenidos concuerdan con los reportados por Mwendu *et al.* (2018).

Respecto a la actividad de agua de los frutos deshidratados, en todos los tratamientos se alcanzaron valores de alrededor de 0.5 (Tabla 8). Este ambiente es poco favorecedor para la actividad de enzimas, bacterias, hongos y levaduras, ya que se ha descrito que a partir de una actividad de agua menor a 0.65 se ve limitada dicha actividad (Badui Dergal, 2006).

Tabla 8. Contenido de humedad y actividad de agua en mango y jitomate deshidratados con aire caliente

Fruto	Temperatura (° C)	Sulfitado (%)	Contenido de humedad (%)	Aa
Mango	50	0	8.49 ± 1.64 <sup>Aa</sup>	0.508 ± 0.024 <sup>Aa</sup>
		0.5	8.39 ± 1.43 <sup>Aa</sup>	0.502 ± 0.006 <sup>Aa</sup>
	70	0	8.90 ± 3.47 <sup>Ba</sup>	0.501 ± 0.036 <sup>Aa</sup>
		0.5	9.34 ± 4.50 <sup>Ba</sup>	0.504 ± 0.008 <sup>Aa</sup>
Jitomate	50	0	15.16 ± 1.43 <sup>Aa</sup>	0.499 ± 0.054 <sup>Aa</sup>
		0.5	14.68 ± 2.02 <sup>Ab</sup>	0.502 ± 0.003 <sup>Aa</sup>
	70	0	12.35 ± 1.49 <sup>Ba</sup>	0.500 ± 0.008 <sup>Aa</sup>
		0.5	11.55 ± 2.65 <sup>Bb</sup>	0.496 ± 0.021 <sup>Aa</sup>

Cada uno de los valores representa la media de seis datos independientes ± la desviación estándar.

En cada variable respuesta de cada fruto, letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas respecto a la temperatura y letras minúsculas respecto al sulfitado, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ) (Anexo 8.2).

#### 5.1.4. Modelado matemático de las curvas de secado y cálculo de la difusión efectiva

Los datos de las curvas de secado de jitomate y mango respecto al tiempo se ajustaron con el modelo descrito por Midilli *et al.* (2002). Dicho modelo se seleccionó para modelar las curvas de secado del presente trabajo, debido a que se obtuvo un buen nivel de ajuste a las cinéticas ( $R^2 > 0.90$ ), similar al reportado por Goyal *et al.* (2006). Este modelo permitió la estimación de la velocidad de secado ( $k$ ) la cual, como era de esperarse, se incrementó al aumentar la temperatura de secado (Tabla 9). En mango  $k$  osciló entre 0.003 y  $0.0033 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$  a 50 °C, mientras que, a 70 °C,

entre  $0.0045$  y  $0.0054 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$ , coincidiendo con lo obtenido por Link *et al.* (2017) y Sehrawat *et al.* (2018). En jitomate los valores fueron de  $0.0026 \times 10^{-2}$  a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  y entre  $0.0031$  y  $0.0038 \times 10^{-2} \text{ h}^{-1}$  a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , datos similares a los reportados por Azeez *et al.* (2019) durante el secado de rebanadas de jitomate utilizando una aire caliente a diferentes temperaturas.

Otro parámetro muy importante durante el secado de frutas es la difusión efectiva ( $D_{ff}$ ), la cual se calcula con el modelo de difusión de Fick, que considera la pérdida de peso como el incremento de la eliminación de agua. Para poder utilizar este parámetro, es necesario tomar en cuenta las siguientes suposiciones descritas por Jiménez Durán (2015):

- Las rebanadas no tienen superficie homogénea
- Los poros no son rectos ni cilíndricos, sino que poseen una serie de caminos irregulares con interconexiones
- Los poros poseen un área transversal variable
- No toda el área normal a la dirección del flujo está disponible para difusión de las moléculas.

De acuerdo con el análisis de varianza aplicado a la  $D_{ff}$  (Anexo 8.3), se observó que, en la deshidratación de mango, la temperatura y el sulfitado tienen efecto significativo ( $p=0.05$ ), siendo mayor a  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  (entre  $1.80$  y  $2.18 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ) que a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  (entre  $0.40$  y  $1.23 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ), estos valores son similares a los obtenidos por Jiménez Durán (2015) y por Dissa *et al.* (2008), trabajos en los cuales el pretratamiento con extractos frutales no mostró efecto significativo. Micrografías tomadas mediante espectroscopía electrónica de barrido a rebanadas de mango deshidratado con la combinación de aire caliente y microondas, mostraron que a mayor temperatura y tiempo de secado, se formó un mayor número de canales entre la matriz del alimento, generando una estructura porosa, la cual mejoró la transferencia de calor y masa, causando una menor humedad en el fruto (Link *et al.*, 2017; Abano, 2016).

Tabla 9. Variables del modelo de Midelli y difusión efectiva para el secado con aire caliente a 50 °C de mango y jitomate

Fruto	Temperatura (° C)	Sulfitado (%)	Velocidad de secado		D <sub>ff</sub> × 10 <sup>-9</sup> (m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )
			$k \times 10^{-2}$ (h <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	
Mango	50	0	0.30 ± 0.12 <sup>Ba</sup>	0.995	0.40 ± 0.23 <sup>Bb</sup>
		0.5	0.33 ± 0.14 <sup>Ba</sup>	0.997	1.23 ± 0.11 <sup>Ba</sup>
	70	0	0.54 ± 0.08 <sup>Aa</sup>	0.998	1.80 ± 0.54 <sup>Ab</sup>
		0.5	0.45 ± 0.22 <sup>Aa</sup>	0.998	2.18 ± 0.24 <sup>Aa</sup>
Jitomate	50	0	0.26 ± 0.01 <sup>Ba</sup>	0.995	0.36 ± 0.04 <sup>Bb</sup>
		0.5	0.26 ± 0.06 <sup>Ba</sup>	0.996	0.44 ± 0.03 <sup>Ba</sup>
	70	0	0.38 ± 0.05 <sup>Aa</sup>	0.995	0.46 ± 0.10 <sup>Ab</sup>
		0.5	0.31 ± 0.13 <sup>Aa</sup>	0.994	0.76 ± 0.09 <sup>Aa</sup>

Cada uno de los valores representa la media de seis datos independientes ± la desviación estándar. En cada fruto, letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas en la temperatura y letras minúsculas en el sulfitado, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Durante el secado de jitomate se observó un comportamiento similar al observado en mango, pero en este caso se observó significancia ( $p=0.05$ ) de la interacción entre la temperatura y el sulfitado (Figura 7).

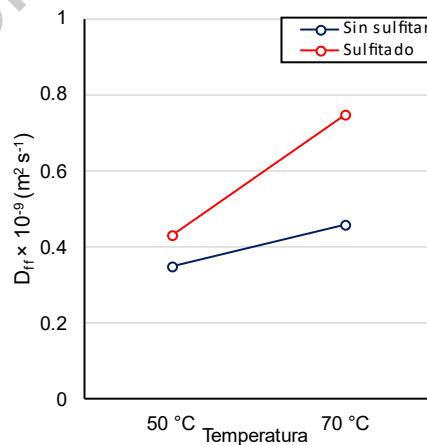


Figura 7. Gráfica de interacción de la temperatura y el sulfitado sobre la difusión efectiva durante la deshidratación del jitomate.

Cada uno de los puntos representa la media de seis datos



Una vez que se tuvieron los parámetros de los tratamientos de secado, se evaluó la calidad de los frutos deshidratados por cada tratamiento, con la finalidad de seleccionar el tratamiento que se utilizaría para los siguientes experimentos.

#### 5.1.5. Calidad de los frutos deshidratados

De acuerdo con la norma ISO 8402, la calidad de los alimentos se define como el conjunto de características de un alimento que le confieren la aptitud para satisfacer las necesidades reales, implícitas y explícitas de los consumidores. Dentro de estas necesidades se ubican la inocuidad del producto, sus condiciones nutricionales y algunas características sensoriales como el tamaño, el color y la firmeza (en el caso de frutas) (Nader, 2015).

Hablando específicamente de los productos deshidratados, de acuerdo con el Manual técnico de frutas y verduras, los parámetros de calidad importantes en estos productos son: morfología del fruto, color, firmeza y acústica (Cajamarca *et al.*, 2019); parámetros que pueden perderse o verse fuertemente afectados durante el proceso de secado. Una de las principales razones de la pérdida de calidad de los frutos secos es el colapso de la estructura del producto, que puede tener influencia en la retención del sabor, la distribución de la humedad y la capacidad de rehidratación, generando un endurecimiento indeseable. Por otro lado, las propiedades nutricionales y sensoriales de los productos secos pueden dañarse durante el proceso de deshidratación, debido a la sensibilidad al calor de los pigmentos y nutrientes de la mayoría de las frutas y verduras, causando una pérdida significativa del color original y contenido de vitaminas (Link *et al.*, 2017). En el presente trabajo se realizaron mediciones del color y la firmeza de los frutos secos, con la finalidad de seleccionar el tratamiento que proporcionara las menores modificaciones con relación al fruto fresco, debido a que no se encontraron parámetros normados respecto a la calidad de los frutos deshidratados.

#### 5.1.5.1. Color

Para evaluar los cambios en este parámetro se utilizaron los tres componentes del color:  $L^*$  (0=negro a 100=blanco),  $a^*$  ( $-a^*$ =verde hasta  $+a^*$ =rojo) y  $b^*$  ( $-b^*$ =azul hasta  $+b^*$ =amarillo), y la diferencia total de color ( $\Delta E$ ).

En general, en ambos frutos deshidratados se observaron evidentes cambios en el color respecto a los frutos frescos (Tabla 10). En el mango la luminosidad ( $L^*$ ) no presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos de deshidratación, mientras que, en el jitomate se observó que la temperatura de deshidratación tiene efecto sobre esta variable. De acuerdo con lo reportado por Dea *et al.* (2010), la disminución de  $L^*$  tiene una correlación con el pardeamiento de la fruta. En experimentos de deshidratación de mango con aire caliente realizados por otros investigadores, se observaron grandes disminuciones en los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  que se pudieron asociar con el pardeamiento derivado de reacciones de Maillard (Nyangena *et al.*, 2019) promovido por la presencia de oxígeno y el tiempo prolongado del secado (Sehrawat *et al.*, 2018; Orikasa *et al.*, 2018).

Respecto al componente  $a^*$ , se observó diferencia entre los frutos frescos y los deshidratados. En mango no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, mientras que en jitomate la temperatura mostró tener efecto significativo en este parámetro (Tabla 10) (Anexo 8.3). La disminución en este componente del color se atribuye a la pérdida de algunos compuestos fenólicos debido a la exposición a las temperaturas de deshidratación y el oxígeno, específicamente en jitomate, la disminución de  $a^*$  está estrechamente relacionado con la degradación del licopeno (Demiray *et al.*, 2013). Datos similares a los obtenidos en este trabajo se reportaron por Santos-Sánchez *et al.* (2012), quienes secaron rebanadas de jitomate utilizando aire caliente en un tambor rotativo. Observaron cambios en los parámetros de color, principalmente en el componente  $a^*$  (54 %) cuando secaron a temperaturas entre 45 y 60 °C, y observaron la degradación de licopeno (62 %) y ácido ascórbico (72 %).

El componente  $b^*$ , al igual que  $L^*$  y  $a^*$ , mostró una diferencia importante respecto a los frutos frescos. En un trabajo realizado por Link *et al.* (2017) deshidrataron mango y observaron disminución del valor de  $b^*$ . La disminución del color amarillo en el mango deshidratado, puede explicarse debido a la degradación del  $\beta$ -caroteno (Sehrawat *et al.*, 2018) promovida por la temperatura y tiempo de exposición. En otro estudio, Fratianni *et al.* (2020) evaluaron la estabilidad de carotenos durante la deshidratación de mango, y observaron que la temperatura promovía la degradación de carotenos, desde ~12 mg/100 g (fresco) hasta 7 y 5 mg/100 g (base seca) a 50 y 70 °C, respectivamente. En el presente trabajo, no se observó diferencia entre los tratamientos de secado en el mango.

Curiosamente, respecto al tratamiento con metabisulfito de sodio, no se observaron diferencias entre los tratamientos en ambos frutos, esto debido a que los efectos de fijación de color del compuesto no son observados inmediatamente, coincidiendo con los datos obtenidos por Jiang *et al.* (2018) durante la deshidratación a 55-70 °C de polvos de pera tratados y sin tratar previamente con metabisulfito de sodio. Sin embargo, se ha reportado que el efecto de protección al color generado por el metabisulfito es posible apreciarlo durante el almacenamiento del producto (Ahmadi *et al.*, 2019).

La diferencia total de color ( $\Delta E$ ) en mango osciló entre 64 y 65, y en jitomate entre 29 y 33 (Tabla 10). A pesar de que todos los tratamientos generaron cambios perceptibles al consumidor de acuerdo con lo establecido por la norma ISO 12647-2, la cual establece que un  $\Delta E$  mayor a 5, es perceptible al ojo humano, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos aplicados a mango, coincidiendo con los reportados por Dissa *et al.* (2008), Goyal *et al.* (2006) y Sehrawat *et al.* (2018). En jitomate, la deshidratación a 70 °C tuvo ligeramente menor cambio en el color.

Tabla 10. Cambios en los parámetros de color en frutos deshidratados

Fruto	Temperatura (°C)	Sulfito (%)	Color			ΔE
			L*	a*	b*	
Mango	Control <sup>1</sup>		62.90 ± 3.45	25.40 ± 2.48	57.87 ± 0.78	-
	50	0.0	16.11 ± 3.26 <sup>Aa</sup>	3.67 ± 1.18 <sup>Aa</sup>	19.77 ± 3.69 <sup>Aa</sup>	64.13 ± 4.43 <sup>Aa</sup>
		0.5	16.10 ± 2.16 <sup>Aa</sup>	4.25 ± 2.59 <sup>Aa</sup>	18.20 ± 3.87 <sup>Aa</sup>	64.89 ± 4.30 <sup>Aa</sup>
	70	0.0	15.26 ± 0.74 <sup>Aa</sup>	3.22 ± 1.35 <sup>Aa</sup>	18.90 ± 1.75 <sup>Aa</sup>	65.41 ± 1.42 <sup>Aa</sup>
		0.5	16.02 ± 1.69 <sup>Aa</sup>	2.90 ± 1.08 <sup>Aa</sup>	19.06 ± 1.45 <sup>Aa</sup>	64.87 ± 1.44 <sup>Aa</sup>
Jitomate	Control <sup>1</sup>		35.23 ± 2.46	19.53 ± 5.42	13.29 ± 1.73	-
	50	0.0	5.49 ± 1.62 <sup>Aa</sup>	7.81 ± 1.42 <sup>Aa</sup>	4.16 ± 2.23 <sup>Aa</sup>	33.30 ± 2.23 <sup>Aa</sup>
		0.5	5.21 ± 1.94 <sup>Aa</sup>	10.56 ± 2.27 <sup>Aa</sup>	4.66 ± 1.69 <sup>Aa</sup>	32.56 ± 2.43 <sup>Aa</sup>
	70	0.0	8.57 ± 2.75 <sup>Ba</sup>	6.42 ± 1.91 <sup>Ba</sup>	8.26 ± 2.97 <sup>Ba</sup>	30.24 ± 3.44 <sup>Ba</sup>
		0.5	10.37 ± 3.18 <sup>Ba</sup>	4.14 ± 1.36 <sup>Ba</sup>	10.44 ± 2.64 <sup>Ba</sup>	29.52 ± 2.88 <sup>Ba</sup>

<sup>1</sup>Rebanadas de fruto sin tratamiento (fresco). Cada uno de los valores representa la media de seis datos independientes ± la desviación estándar. En cada fruto, letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas en la temperatura y letras minúsculas en el sulfitado, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Dirección General de Investigaciones UAQ

### 5.1.5.2. Firmeza

La firmeza es uno de los atributos de calidad más importantes que influye en el atractivo del consumidor y la comercialización de la fruta, ya que es un parámetro que ayuda a conocer la vida útil y el valor de mercado de los productos hortofrutícolas (Sharma & Rao, 2017).

Con relación a la firmeza de los frutos deshidratados en el presente trabajo, no se observó efecto significativo de la temperatura de deshidratación ni del sulfitado, así como de sus interacciones (Tabla 11) (Anexo 8.3). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Forouzanfar *et al.* (2020) en un estudio en el que deshidrataron champiñones a temperaturas similares a las del presente trabajo.

Tabla 11. Firmeza de los frutos deshidratados con aire caliente

Fruto	Temperatura (°C)	Sulfito (%)	Firmeza (N)
Mango	50	0.0	6.38 ± 1.69 <sup>Aa</sup>
		0.5	5.82 ± 1.75 <sup>Aa</sup>
	70	0.0	6.76 ± 0.61 <sup>Aa</sup>
		0.5	6.41 ± 0.99 <sup>Aa</sup>
Jitomate	50	0.0	6.38 ± 1.69 <sup>Aa</sup>
		0.5	5.82 ± 1.75 <sup>Aa</sup>
	70	0.0	6.76 ± 0.61 <sup>Aa</sup>
		0.5	6.41 ± 0.99 <sup>Aa</sup>

Cada uno de los valores representa la media de seis datos independientes ± la desviación estándar. En cada fruto, letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas en la temperatura y letras minúsculas en el sulfitado, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Al no encontrarse diferencias significativas en las variables de calidad evaluadas (color y firmeza) para ambos frutos, se decidió utilizar las condiciones que resultaran menos agresivas para el alimento. Para lograr lo anterior, se consultó la literatura al respecto, encontrando que en estudios similares, se demostró que al aumentar la temperatura de secado, la retención de compuestos bioactivos (ácido ascórbico,  $\beta$ -caroteno, contenido fenólico y actividad antioxidante) disminuyen significativamente en los frutos deshidratados (Sehrawat *et al.*, 2018). Por lo anterior, para los experimentos subsecuentes se decidió utilizar el tratamiento de secado a 50 °C y los

frutos sin sulfitar debido a que, según los abundantes reportes con los que se cuentan, el metabisulfito puede llegar a causar reacciones adversas en personas que padecen enfermedades de las vías respiratorias (FDA, 2010).

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 5.2. Estrés celular en células de *S. enterica*

Con el propósito de establecer las condiciones bajo las cuales se podía causar el mayor estrés en células de *Salmonella*, se prepararon cultivos frescos ( $\sim 8$  Log UFC mL<sup>-1</sup>) y se inocularon en los extractos de fruta estériles, a pH nativo ( $\sim 4$ ) y pH modificado (7.0) y se sometieron a calentamiento a 50 °C/2 h para simular la exposición a una condición de deshidratación de los frutos, con la intención de recrear un escenario que enfrentaría el patógeno en una planta de deshidratación de frutos.

Para cuantificar la población estresada después del calentamiento, se emplearon dos medios de cultivo, ASTRNa y ASTRP, que contenían cloruro de sodio y piruvato, respectivamente. En el primer medio se contó la población no estresada, ya que los microorganismos fisiológicamente estables son capaces de desarrollar en presencia de un componente adverso, mientras que, en el segundo medio de cultivo, se contó la población total ya que el piruvato ayudó a que todas las células, incluidas las estresadas, desarrollaran. El porcentaje de población estresada se calculó a partir de la diferencia entre las poblaciones contadas en ambos medios de cultivo, tal como lo han reportado en otros trabajos (Cui *et al.*, 2019; Bi *et al.*, 2015). A la par del cálculo del porcentaje de población estresada, se utilizaron los datos obtenidos para calcular el valor D, para cada cepa en cada medio de cultivo, para lo cual se utilizó el recuento realizado en ASTRP.

En la Figura 8 se observa el comportamiento de las cuatro cepas en los extractos de frutas. Independientemente del tipo de extracto y del pH, las cuatro cepas mostraron una tendencia a la muerte después de dos horas de calentamiento a 50 °C, la diferencia radicó en la rapidez con la que ocurrió. Se observó que, a pH ácido, el 90 % de la población de las cuatro cepas se inactivó de manera más rápida que a pH neutro (Tabla 12) coincidiendo con lo reportado por Kim *et al.* (2019) quienes evaluaron la tolerancia de *S. enterica*, sometida a distintos niveles de pH y a tratamientos térmicos.

Cuando las células bacterianas son expuestas a factores adversos (acidez, temperatura, osmolaridad) pasan por distintos niveles de debilitamiento en su estado fisiológico, hasta llegar a la muerte (Yousef & Juneja, 2003).

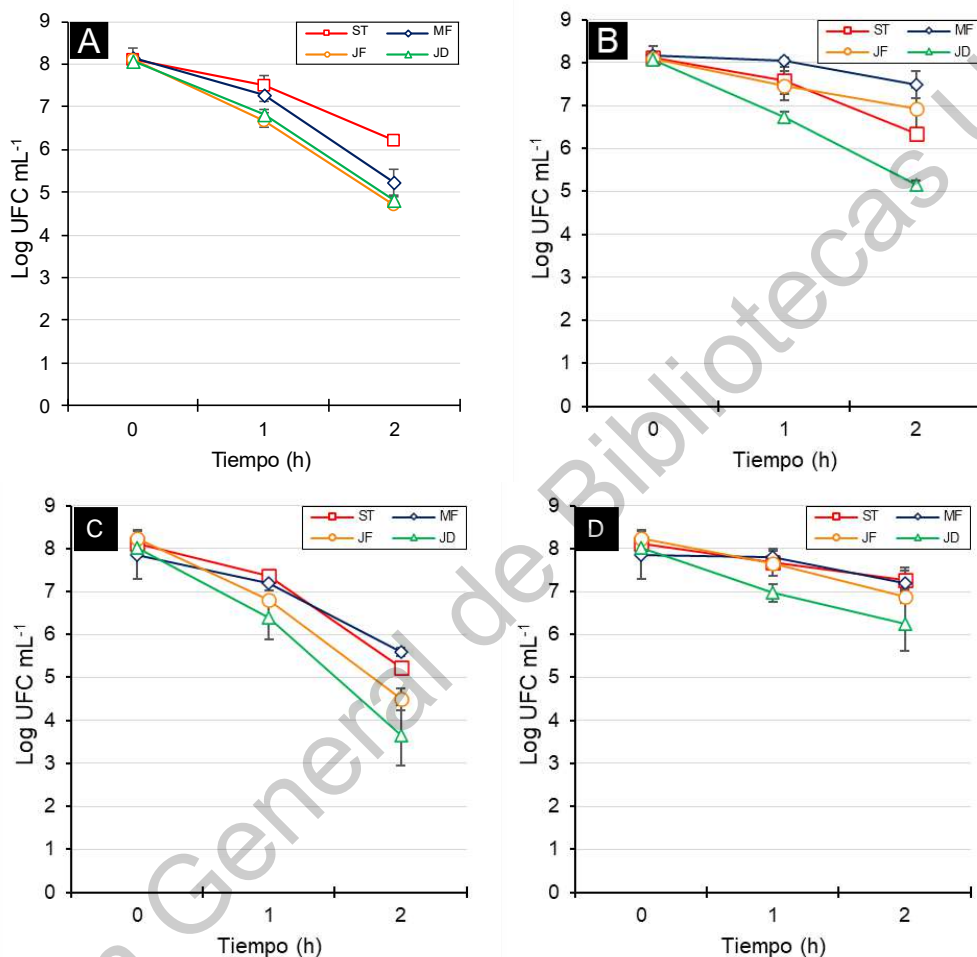


Figura 8. Inactivación de *S. enterica* durante el calentamiento a 50 °C por dos horas en extractos de mango (A) pH 4.2, (B) pH 7.0 y jitomate (C) pH 4.2, (D) pH 7.0.

ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco, JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado. Los valores representan la media de seis datos.

En este mismo sentido, Álvarez-Ordóñez *et al.* (2010) observaron el comportamiento de *S. Typhimurium* bajo condiciones ácidas a distintos niveles de pH y calentamiento simultáneo. Ellos observaron que a 45 °C y un pH de 4.5 la bacteria tiende a morir, coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación. Por otro lado, en el



mismo experimento llevado a cabo a la misma temperatura, pero con pH neutro, se encontró que el patógeno es capaz de desarrollarse, situación que contrasta con los resultados de este estudio. Las diferencias entre ambos estudios posiblemente se debieron a que Álvarez Ordoñez *et. al.* (2010) emplearon un medio de cultivo ideal (Infusión cerebro-corazón), mientras que los experimentos de este estudio se llevaron a cabo en extractos frutales, que tienen una composición más compleja, con presencia de compuestos adversos (ácidos orgánicos, compuestos antioxidantes, algunos metales y sales) que pueden generar distintos niveles de estrés afectando la viabilidad de las células (Pradhan & Negi, 2019).

Tabla 12. Valores D para cuatro cepas de *S. enterica* sometidas calentamiento a 50 °C por dos horas en extractos de mango y jitomate

Extracto	pH	ST	Valor D <sub>50</sub> (min)		
			MF	JF	JD
Mango	4.2	63.18 ± 3.10 <sup>A</sup>	41.02 ± 2.20 <sup>B</sup>	35.36 ± 0.51 <sup>B</sup>	37.03 ± 0.93 <sup>A</sup>
	7.0	67.79 ± 3.45 <sup>A</sup>	183.01 ± 6.33 <sup>A</sup>	115.63 ± 3.15 <sup>A</sup>	41.06 ± 1.68 <sup>A</sup>
Jitomate	4.4	41.58 ± 1.11 <sup>B</sup>	56.81 ± 5.88 <sup>B</sup>	32.40 ± 3.80 <sup>B</sup>	27.98 ± 4.12 <sup>B</sup>
	7.0	146.03 ± 9.62 <sup>A</sup>	201.22 ± 8.26 <sup>A</sup>	88.48 ± 9.51 <sup>A</sup>	73.73 ± 2.60 <sup>A</sup>

Cada valor representa la media de seis valores diferentes ± desviación estándar. En cada cepa y cada extracto, valores con letras distintas representan diferencias significativas (p=0.05) (Anexo 8.4). ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco, JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado.

En otros estudios, se expusieron células de *S. Typhimurium* a pH 4.77 con el propósito de generar un estado de estrés severo (el estado viable pero no cultivable), y mediante pruebas de microscopía electrónica se observaron modificaciones en la morfología celular, como reducción en el tamaño y cambios de la típica forma bacilar a formas cocoides. Los autores mencionan que las bacterias pueden presentar estos cambios como una estrategia de sobrevivencia ya que pueden disminuir los requerimientos celulares mientras se aumenta la absorción de nutrientes debido a la alta relación superficie-volumen (Salive *et al.*, 2020).

En el extracto de mango a pH ácido, se alcanzaron los mayores porcentajes de células estresadas (entre 55 y 90 %) luego de una hora de exposición a 50 °C, mientras que, al cabo de dos horas, dicho porcentaje disminuyó (20-40 %) excepto

en MF, el cual se mantuvo (~80 %). A pH neutro, el comportamiento del patógeno fue similar en el sentido de que los porcentajes de células estresadas más altos (20-65 %) se encontraron luego de una hora de exposición al tratamiento estresante y dichos porcentajes disminuyeron al cabo de dos horas (15-40 %), aunque los valores alcanzados fueron significativamente menores que los que se observaron a pH ácido (Figura 9A). Guillén *et al.* (2020) realizaron experimentos de exposición de cepas de *S. enterica* a distintos factores de estrés (ácido, calor, salinidad, etc.) y observaron que la tolerancia a algún factor estresante no garantizaba la tolerancia a los demás factores, por lo que sugirieron la realización de experimentos con factores de estrés combinados, ya que serían tratamientos más cercanos a los que se pueden enfrentar los microorganismos en el ambiente.

Por otro lado, el comportamiento de *Salmonella* en el extracto de jitomate a pH ácido fue muy similar al observado en el extracto de mango en la misma condición, teniendo los mayores porcentajes de células estresadas (70-90 %) luego de una hora y disminuyendo al cabo de dos horas (40-90 %) de calentamiento a 50 °C. A pH neutro se observaron comportamiento diferentes entre las cepas, llamando la atención que, en las cepas aisladas de jitomate, los porcentajes se mantuvieron constantes durante las dos horas de exposición al tratamiento estresante, ~50 % en MF y ~70 % en JD (Figura 9B).

El comportamiento de la población de *S. enterica* no fue homogéneo entre las cepas, en ambos extractos, ya que los análisis de varianza mostraron significancia ( $p \leq 0.05$ ) (anexos 8.5 y 8.9) de la interacción en las cepas evaluadas, coincidiendo con lo reportado por Guillén *et al.* (2020), que encontraron diferencias entre el comportamiento durante tratamientos estresantes de cepas de *Salmonella* del mismo serovar, pero de distinta fuente. Por lo tanto, se decidió evaluar por separado, respecto al pH, el tiempo de exposición al tratamiento térmico sobre la viabilidad de las células (Figura 9).

La finalidad de colocar los dos niveles de pH obedece a recrear las condiciones naturales en las cuáles se puede encontrar el patógeno en una planta deshidratadora

de frutas, simulando que la bacteria se mantiene en los residuos de fruta al pH nativo (~4), mientras que el nivel 7.0 responde al pH óptimo para *Salmonella*.

La exposición de las células a factores estresantes subletales, pueden ocasionar, en casos extremos, que entren al estado viable pero no cultivable (VPNC), en el cual algunos microorganismos pierden la capacidad para desarrollar en matrices convencionales, mientras disminuyen su actividad metabólica pudiendo ocasionar daño en la integridad de membrana y afectar la respiración celular. En cuanto los microorganismos censan condiciones de desarrollo favorables, pueden salir del estado VPNC para reiniciar su metabolismo de manera óptima y activar la división celular (Kusumoto *et al.*, 2012) e incluso, presentar mayor resistencia a tratamientos desinfectantes con compuestos químicos (Gu *et al.*, 2020). Para poder determinar que las células entren a dicho estado, es necesaria la realización de tinción de células viables y no viables, en el presente trabajo no se llegó hasta ese nivel de profundización, pero se considera que las células estresadas se encuentran en camino de llegar a dicho estado (Yousef & Juneja, 2003).

Se han evaluado distintos compuestos químicos para la resucitación de bacterias, dichos compuestos deber ser parte de las rutas metabólicas esenciales para la actividad del microorganismo. En ese sentido, Morishige *et al.* (2013), realizaron pruebas de reanimación de células de *S. enterica* inducidas al estado no cultivable mediante estrés oxidativo (utilizando peróxido de hidrógeno), en las cuales observaron que la utilización de piruvato de sodio 0.3 mM tiene un efecto reanimador sobre células bajo condiciones estresantes y que, debido a ese estrés, no fueron capaces de desarrollar en un medio de cultivo convencional. Lo anterior, probablemente, debido a la facilidad con la que las células integran dicho compuesto en la respiración celular.

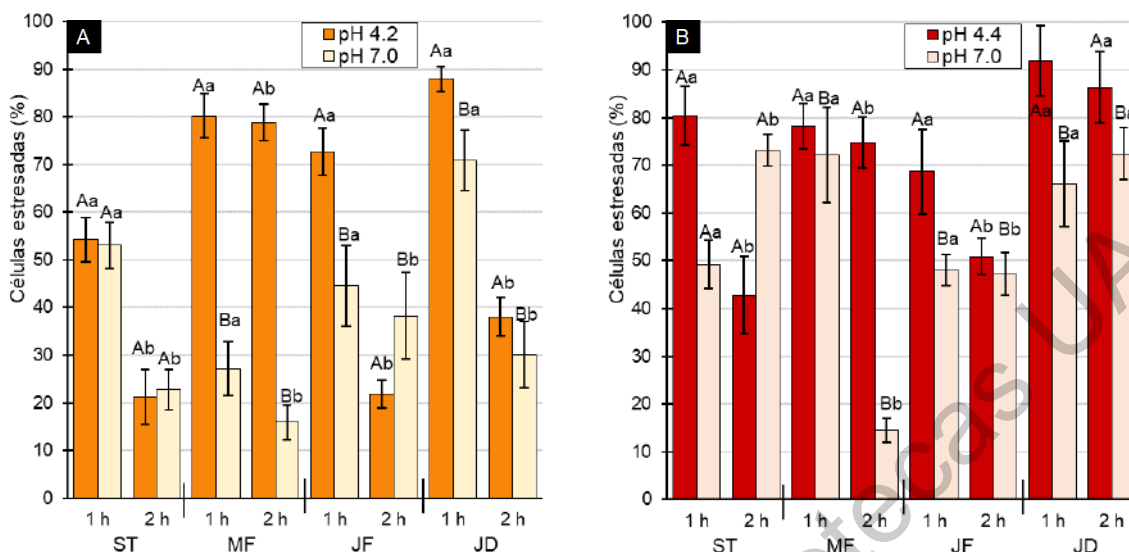


Figura 9. Impacto del calentamiento a 50 °C sobre la población estresada de *S. enterica* inoculada en los extractos de fruta. A) Mango y B) jitomate.

ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco, JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado. Cada barra representa la media de seis datos independientes  $\pm$  desviación estándar. Para cada cepa y en cada extracto, letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas en el pH y letras minúsculas en el tiempo, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

Para complementar la información obtenida mediante los análisis de varianza de los factores estudiados (pH y tiempo de exposición) sobre la letalidad del tratamiento estresante y poder saber cómo ocurre respecto al porcentaje de células estresadas, se realizaron pruebas de correlación de Pearson, ya que dicha prueba ofrece información acerca de la evolución de una variable respecto a otra (analizando por pares de variables), es decir, es posible asociar la muerte de las células con el porcentaje de células estresadas (Figura 10).

En el caso de las cepas inoculadas en el extracto de jitomate a pH ácido, se observan correlaciones significativas en tres de las cuatro cepas, lo cual indica que es posible asociar de manera significativa ( $p \leq 0.05$ ) la muerte celular con el porcentaje de células estresadas. Para este caso particular, la correlación es negativa, lo que se traduce en que, a un mayor de células estresadas, se tiene menor letalidad. Lo

anterior ocurrió luego de una hora de exposición. Luego de dos horas, el comportamiento fue diferente, mostrando una mayor muerte de *Salmonella* y la disminución de células estresadas para el caso de ST y JF. Akritidou & Koutsoumanis (2018) realizaron experimentos en los cuales se sometieron distintas cepas de *Salmonella* a estrés osmótico y se analizó su capacidad de sobrevivencia, encontrando que, en algunos casos, las células con mayor estrés mostraron mayor capacidad de sobrevivencia que las expuestas a niveles de estrés moderados, este fenómeno es conocido como fenómeno del fénix.

Dirección General de Bibliotecas UFRQ

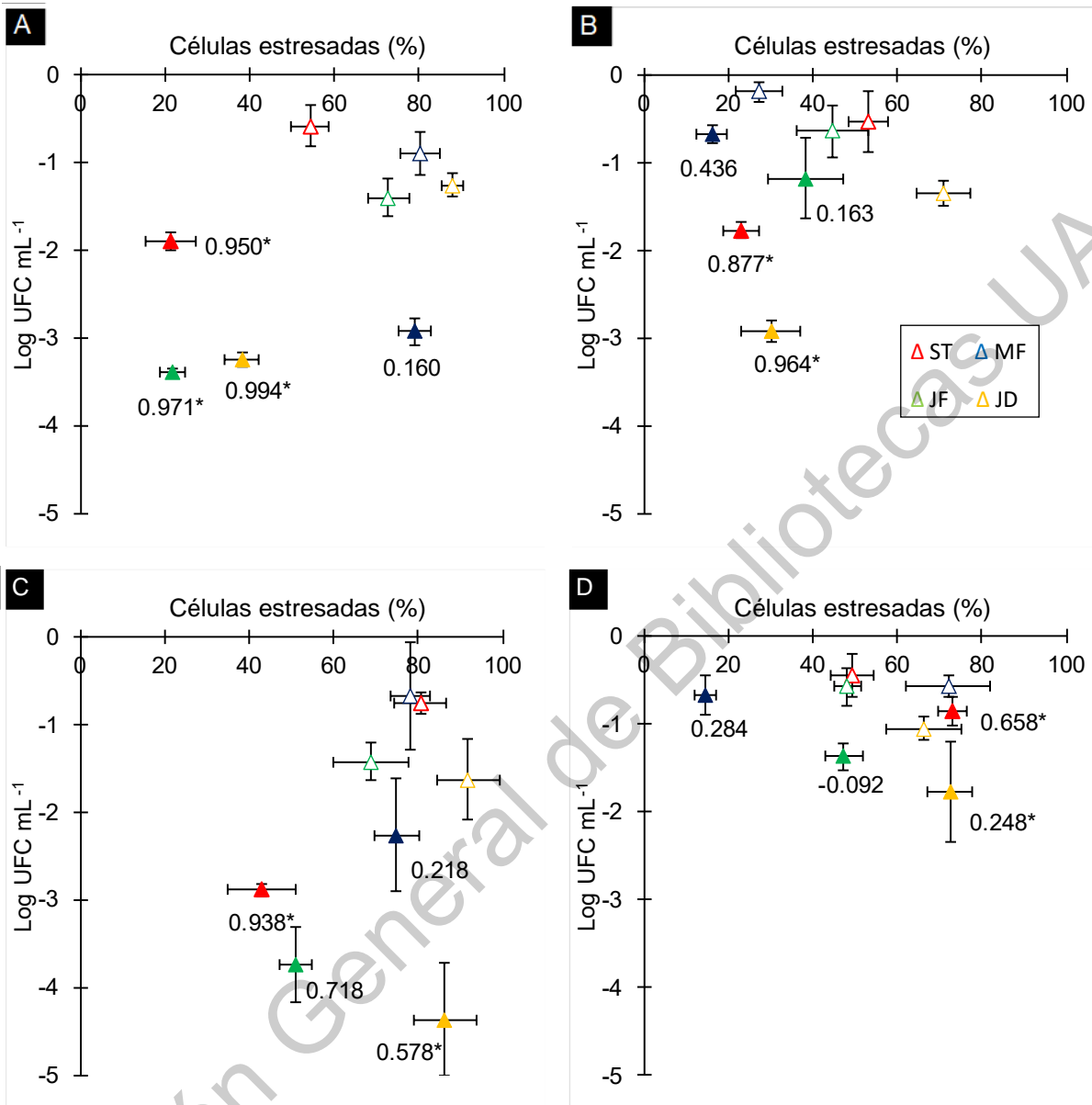


Figura 10. Correlación entre muerte celular y células estresadas de *S. enterica* durante los tratamientos estresantes.

A) Mango a pH ácido, B) Mango a pH neutro, C) Jitomate a pH ácido y D) Jitomate a pH neutro. Para cada cepa se reporta el coeficiente de correlación y el asterisco “\*” indica si la correlación es significativa ( $p < 0.05$ ), ambos datos obtenidos con la prueba de correlación de Pearson. Los triángulos sin relleno representan los valores de 1 h de exposición y los triángulos rellenos los de 2 h. ST: rojo; MF: azul; JF: verde y JD: amarillo.

Para profundizar en los procesos fisiológicos que ocurren en las células bacterianas cuando son expuestas a factores estresantes, como el pH bajo y el calentamiento, se realizó un análisis de la integridad de membrana y la actividad de bombas de flujo de las células mediante ensayos de citometría de flujo.

### 5.2.1. Daño a la membrana celular

En los estudios de citometría de flujo se asume que las células que se tiñen con los colorantes usados son células dañadas en sitios específicos de acuerdo con los colorantes que se utilicen en las pruebas (Díaz *et al.*, 2010) (Anexo 8.13). Los porcentajes de células dañadas se obtuvieron mediante el ajuste de los histogramas respecto al control (medición realizada al tiempo cero de exposición) En la Figura 11 se aprecia la aparición de población teñida conforme avanza el tiempo de exposición al tratamiento estresante (izquierda a derecha).

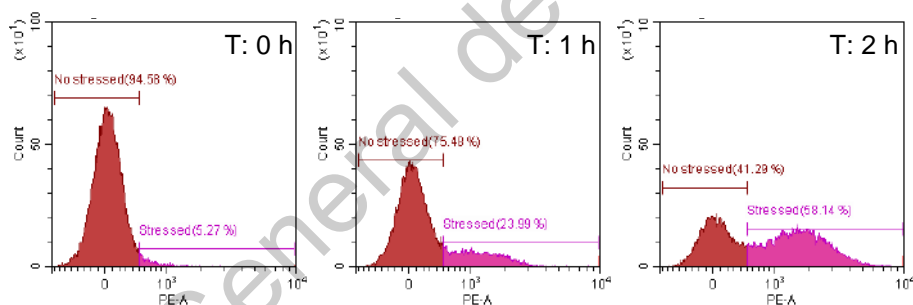


Figura 11. Histogramas poblacionales de células teñidas, con yoduro de propidio, durante la exposición a 50 °C y pH ácido de ST a tiempo 0 (control), 1 y 2 horas.

El impacto del calentamiento a 50 °C y el pH sobre la permeabilidad de membrana, de cada cepa, se puede apreciar en la Figura 12. La permeabilidad de membrana es directamente proporcional al daño celular (Díaz *et al.*, 2010). En el extracto de mango el análisis de varianza reveló un efecto significativo ( $p = 0.05$ ) del pH en todas las cepas, mientras que el tiempo de exposición únicamente no tiene efecto sobre JF. Llama la atención que la interacción entre los factores fue significativa para ST. En el caso del efecto de los factores sobre la actividad de bombas de flujo, se observa efecto significativo de la interacción en todas las cepas (Anexo 8.11). Por otro lado, en el extracto de jitomate, las interacciones para ambas variables respuesta fueron

significativas ( $p = 0.05$ ) en la mayoría de las cepas, salvo para la permeabilidad de MF y la actividad de flujo de MF y JD (Anexos 8.10 y 8.11).

Gómez-Baltazar *et al.* (2019) realizaron experimentos en los cuales monitorearon la composición de ácidos grasos de la membrana celular de *Salmonella* durante varios tratamientos estresantes, observando que el aumento en la permeabilidad de membrana se encontró acompañado con un aumento en la concentración de ácidos grasos insaturados. Lo cual podría explicar el cambio en la conformación de la membrana de las células al encontrarse en estados de estrés.

Ebrahim *et al.* (2018) sugieren que puede existir variación entre cepas de *Salmonella* respecto a la tolerancia al calor y su relación con la permeabilidad de membrana, lo

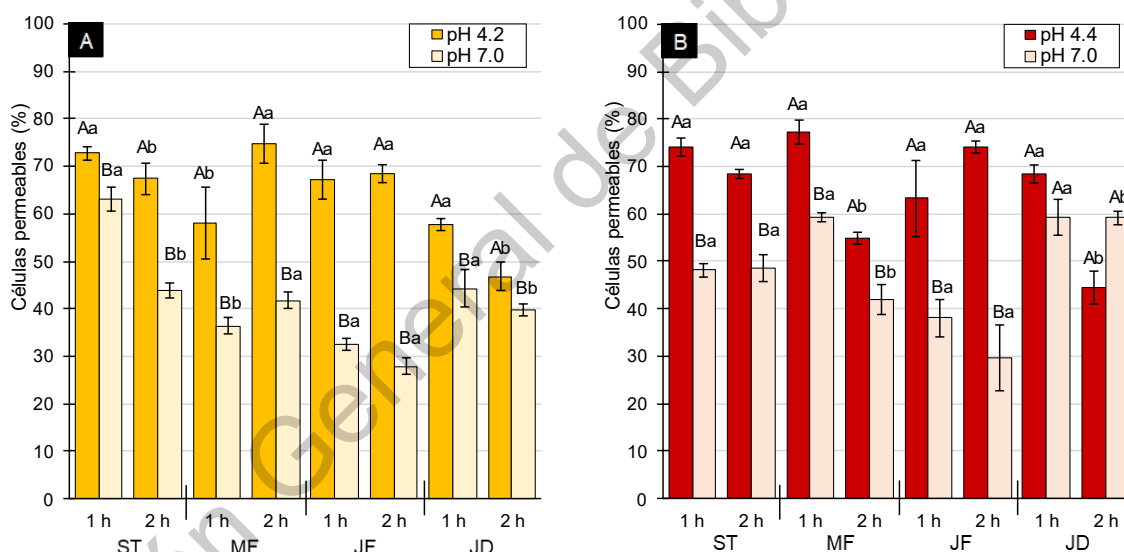


Figura 12. Impacto del calentamiento a 50 °C sobre la permeabilidad de membrana en *S. enterica* inoculada en extractos de fruta. A) Mango y B) jitomate.

ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco, JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado. Cada barra representa la media de seis datos independientes  $\pm$  desviación estándar. Para cada cepa y en cada extracto, letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas en el pH y letras minúsculas en el tiempo, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).



cual puede ser causado por la concentración de iones en el citoplasma, que funcionaría como un sistema de amortiguación a la temperatura de calentamiento.

Por otro lado, la actividad de las bombas de flujo comprometidas durante los tratamientos estresantes se observa en la Figura 13. Cabe recordar, que, en células en estado óptimo, la actividad de las bombas de flujo ocurrirá de manera constante, para eliminar aquellos cationes que pudieran causar daño a la célula, y que en cuanto la célula se estresa, desactiva este mecanismo para invertir la energía necesaria en otros mecanismos de sobrevivencia (Díaz *et al.*, 2010).

En el extracto de jitomate, se presentan porcentajes similares de población comprometida a lo largo del calentamiento a ambos niveles de pH, en la mayoría de las cepas; mientras que en el extracto de mango el comportamiento es más aleatorio, lo cual se puede observar en las gráficas de interacciones (Anexo 8.6, Figura 20).

Pradhan *et al.* (2016) realizaron experimentos de estrés con *Salmonella* en jugos de piña y mango, obteniendo que una de las variables que mostró mayor relevancia fue la actividad de las bombas de flujo, y que dicha variable es sensible a la composición de la matriz en la que se encuentre el patógeno, esta información contribuye a entender la diferencia que se observa en ambos extractos frutales del presente trabajo.

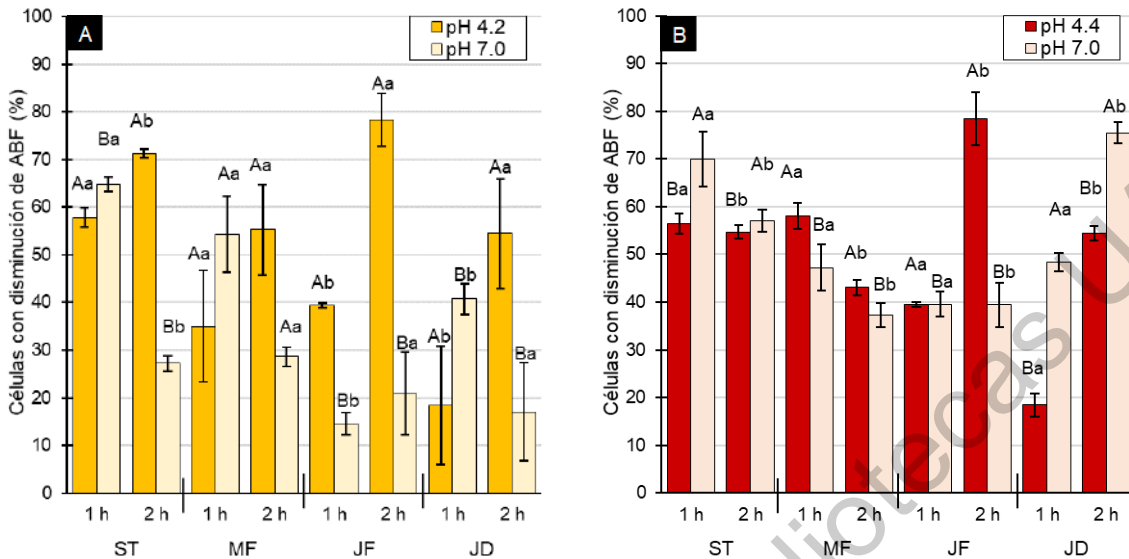


Figura 13. Impacto del calentamiento a 50 °C sobre la actividad de bombas de flujo en *S. enterica* inoculada en extractos de fruta. A) Mango y B) jitomate.

ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco, JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado. Cada barra representa la media de seis datos independientes  $\pm$  desviación estándar. Para cada cepa y en cada extracto, letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas en el pH y letras minúsculas en el tiempo, de acuerdo con la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ).

### 5.2.2. Análisis multivariable entre las células estresadas, la permeabilidad de membrana y la actividad de bombas de flujo

Para complementar la información obtenida mediante los análisis de varianza de los factores estudiados (pH y tiempo de exposición) de cada una de las variables respuesta de los tratamientos estresantes, se realizaron pruebas de correlación de Pearson.

En el extracto de mango a pH ácido se observó en las tres pruebas de correlación, que existe significancia para las cepas ST y JD y, por lo tanto, se puede deducir que la pérdida de viabilidad celular se encuentra asociada al aumento de la permeabilidad

de membrana y la disminución de la actividad de flujo. Por otro lado, a pH neutro, se observó correlación significativa en las cepas ST y MF (Figura 14). Resultados de correlación similares fueron reportados por Lang *et al.* (2018), en cuyos experimentos sometieron a *Salmonella* a estrés osmótico y posteriormente se realizaron mediciones de permeabilidad de membrana. Observaron que, a una mayor permeabilidad, la capacidad del patógeno para sobrevivir disminuye, también encontraron una buena correlación entre la permeabilidad y la actividad celular. Tomando en cuenta esta información se podría confirmar una disminución de esta variable en las cepas evaluadas en el presente trabajo. En el extracto de jitomate, se encontraron correlaciones significativas para algunas cepas únicamente en una de las pruebas de correlación; por ejemplo, se observó correlación significativa entre la viabilidad celular de algunas cepas y la permeabilidad de la membrana y la actividad de flujo, de manera independiente.

Respecto a la correlación entre los daños fisiológicos evaluados, se observaron correlaciones significativas para la mayoría de las cepas en ambos extractos y ambos niveles de pH. Dichas correlaciones podrían tener efecto sobre la virulencia del patógeno (Elhadidy & Álvarez-Ordóñez, 2016).

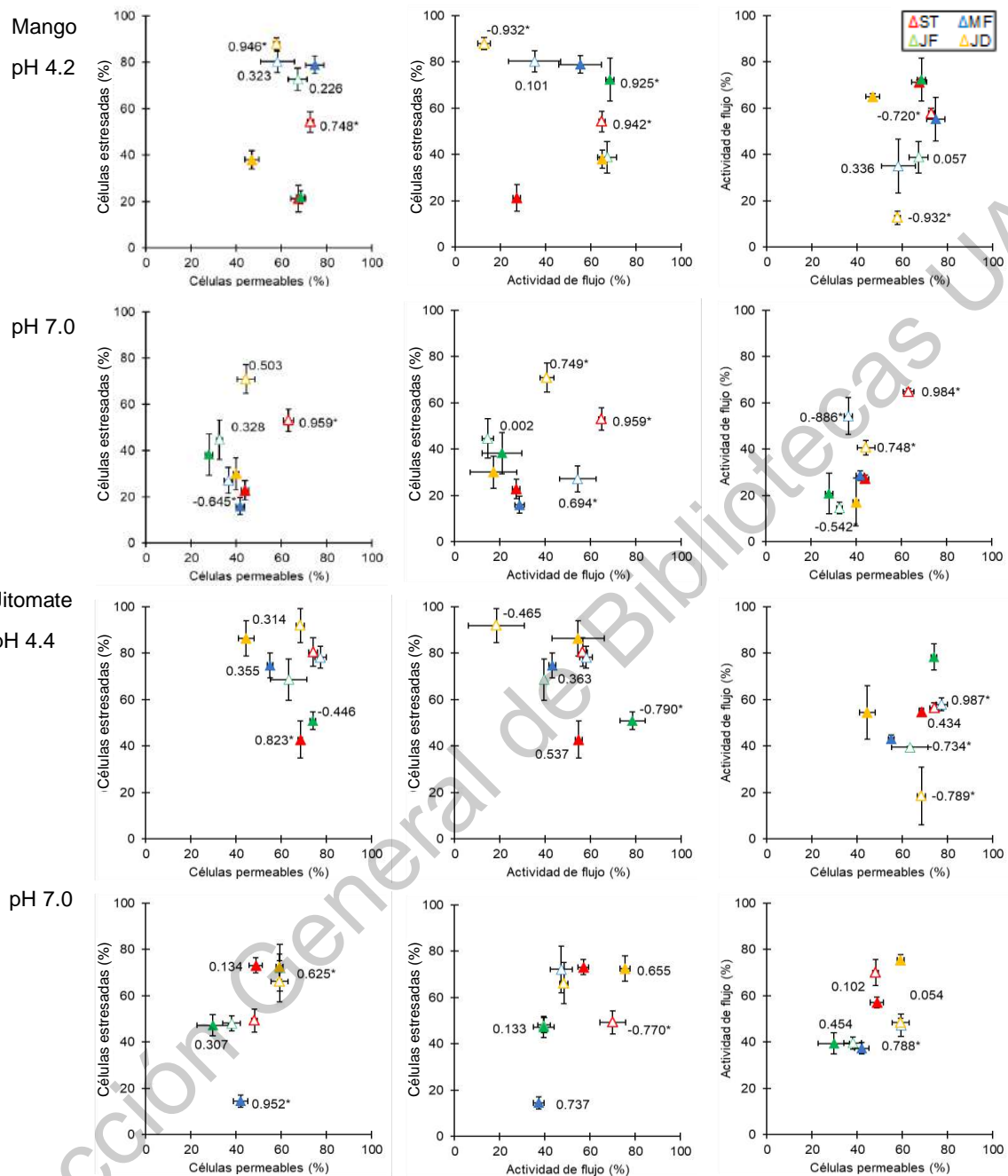


Figura 14. Correlación durante los tratamientos estresantes en extracto de mango y jitomate de células estresadas, permeabilidad de membrana y actividad de bombas de flujo. Para cada cepa se reporta el coeficiente de correlación y el asterisco “\*” indica correlación significativa ( $p < 0.05$ ), mediante la correlación de Pearson. Los triángulos sin relleno representan los valores de 1 h de exposición y los triángulos rellenos los de 2 h.

### 5.3. Supervivencia a la deshidratación

Durante el rebanado de la fruta para ser sometida a la deshidratación es posible que ocurra una contaminación con patógenos como *Salmonella* debido a errores en el seguimiento de las buenas prácticas de manufactura. Puede suceder que algunas células bacterianas se expongan a condiciones estresantes que forman parte del proceso, tales como el pH bajo y temperaturas altas.

Con relación al estrés subletal, al no observar una diferencia clara entre las cuatro cepas de *Salmonella* se decidió exponer a todas al proceso de deshidratación en ambos frutos. Para ello, se inocularon alrededor de 6 logaritmos de cada cepa, expuestas a estrés térmico (50 °C/1 h en extracto frutal a pH 7), con estrés combinado (50 °C/1 h en extracto frutal a pH ~4) y sin estrés (control), en rebanadas de mango y jitomate frescos. Las rebanadas inoculadas se sometieron a deshidratación durante 11 h a 50 °C y periódicamente se cuantificaron las poblaciones sobrevivientes de *Salmonella* en ASTRP. La adición de piruvato a los medios de cultivo favorece la recuperación de células del patógeno estresadas osmóticamente en alimentos de baja actividad de agua (Gurtler *et al.*, 2019).

En la Figura 15 se muestran las dinámicas de muerte de *Salmonella* durante la deshidratación de mango y jitomate. En términos generales no se observó una clara diferencia en la supervivencia entre los cultivos de *Salmonella* no expuestos a los tratamientos estresantes y los expuestos. Las cuatro cepas mostraron una tendencia a la inactivación que ocurrió de manera muy lenta. En la deshidratación de mango se observó que las poblaciones de *Salmonella* de las cepas ST y JF no expuestas a estrés se inactivaron de una manera más rápida. En la deshidratación de jitomate, las cepas JF y JD no estresadas se inactivaron más lentamente.

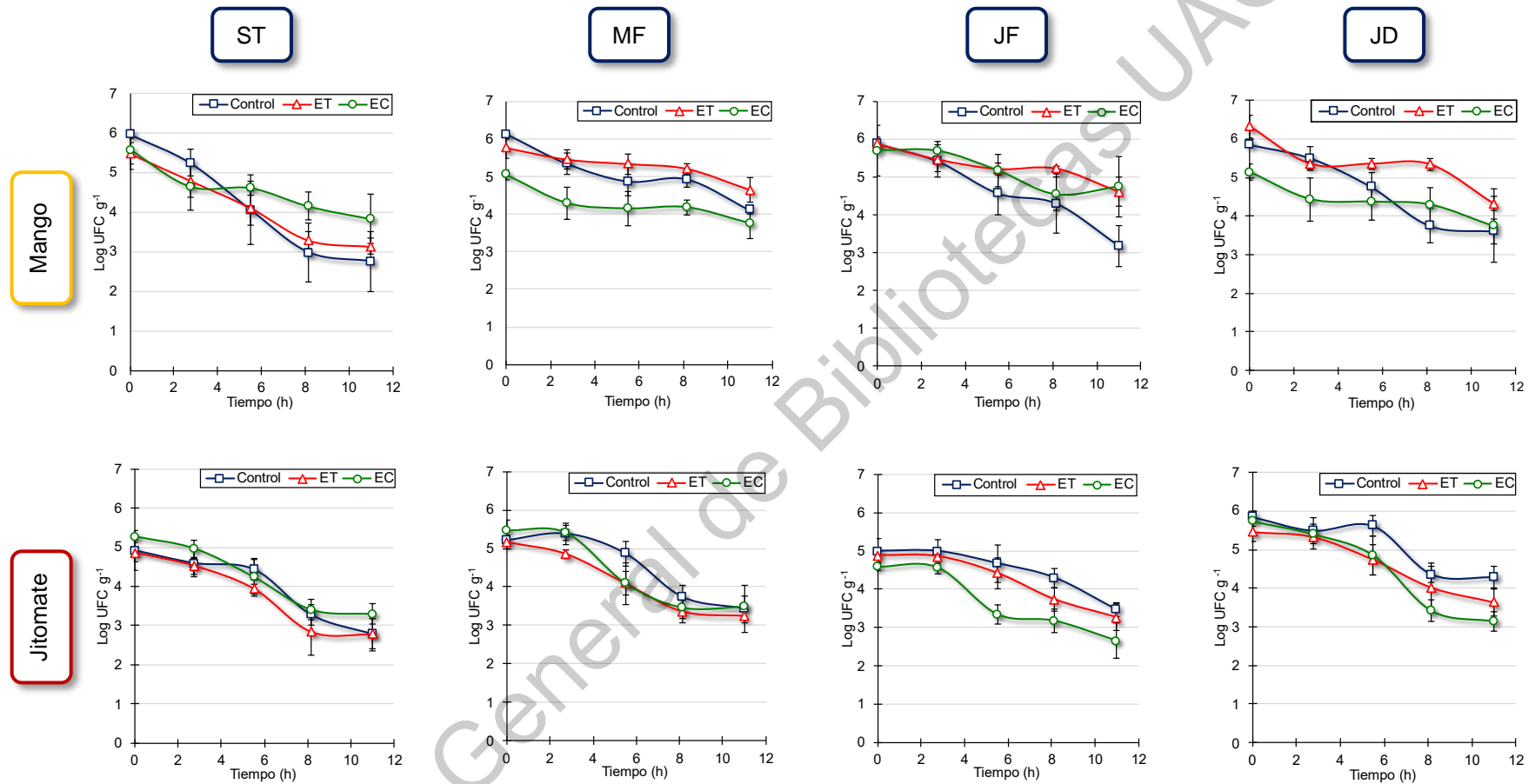


Figura 15. Cinética de inactivación de cepas de *S. enterica* estresadas durante el proceso de deshidratación con aire caliente a 50 °C en mango y jitomate.

ET: 50 °C/ 1 h, pH 7.0; EC: 50 °C/ 1 h, pH 4.2 y 4.4 en mango y jitomate, respectivamente. Los valores representan la media de seis datos  $\pm$  desviación estándar.

Se modelaron las cinéticas de *S. enterica* durante la deshidratación de los frutos para calcular las velocidades de muerte. El análisis de varianza mostró que en el mango ambos factores evaluados, la cepa y el tipo de estrés, tienen efecto significativo sobre la velocidad de muerte de *S. enterica* mientras que en el jitomate no (Tabla 16) (Anexo 8.7). Las interacciones en ambos frutos no mostraron significancia. En el mango el valor más alto de velocidad de inactivación se observó en la cepa ST no estresada (0.32 Log UFC h<sup>-1</sup>) mientras que en el jitomate en la cepa JD estresada térmicamente (0.35 Log UFC h<sup>-1</sup>). Los datos del presente trabajo se contraponen a los reportados por otros autores. Zhou *et al.* (2020) en un estudio de descontaminación de hojas de albahaca utilizando aire caliente reportaron reducciones de hasta 4 Log UFC g<sup>-1</sup> de *S. Senftenberg* durante el tratamiento a 60 °C por 2 h; Bai *et al.* (2020) aplicaron aire caliente a 100 °C/1 h en moras azules previamente deshidratadas osmóticamente, reportaron reducciones de ~6 Log UFC g<sup>-1</sup>.

En otro trabajo, Pereira *et al.* (2020) estresaron *S. Typhimutium* ATCC 14028 almacenándola por 180 días en cacahuates y posteriormente sometieron los cacahuates a un proceso de tostado utilizando aire caliente. Ellos observaron que el estrés previamente causado al patógeno favoreció el aumento en la tolerancia térmica a diferencia de la mostrada por el patógeno no estresado. En otro trabajo, cepas de enterobacterias previamente estresadas con calor y desecación fueron inoculadas en tahini halva, posteriormente se aplicó radiación gamma para desinfectar el alimento; observando tolerancia de las cepas estresadas a diferencia de las no estresadas, las cuales se inactivaron rápidamente (Osaili *et al.*, 2018). En otro estudio de deshidratación de jengibre, con aire caliente a 50 °C, inoculado con *Salmonella*, se observó la sobrevivencia del patógeno hasta por 24 h, teniendo reducciones de alrededor de 2 Log UFC g<sup>-1</sup> durante el tiempo de deshidratación (Gradl *et al.*, 2015).

Tabla 13. Reducción y velocidad de muerte de las cepas de *S. enterica* durante la deshidratación con aire caliente de mango y jitomate

Cepa	Estrés	Reducciones (Log UFC g <sup>-1</sup> )		Velocidad de muerte (Log UFC h <sup>-1</sup> )	
		Mango	Jitomate	Mango	Jitomate
ST	Control	3.22 ± 0.84 <sup>Aa</sup>	2.12 ± 0.39 <sup>Ab</sup>	0.32 ± 0.07 <sup>Aa</sup>	0.30 ± 0.20 <sup>Aa</sup>
	ET	2.34 ± 0.32 <sup>Ab</sup>	2.07 ± 0.25 <sup>Aab</sup>	0.23 ± 0.03 <sup>Ab</sup>	0.25 ± 0.10 <sup>Aa</sup>
	EC	1.74 ± 1.00 <sup>Ab</sup>	1.97 ± 0.39 <sup>Aa</sup>	0.23 ± 0.20 <sup>Ab</sup>	0.21 ± 0.04 <sup>Aa</sup>
MF	Control	2.01 ± 0.16 <sup>Ba</sup>	1.77 ± 0.59 <sup>ABb</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>Ba</sup>	0.24 ± 0.14 <sup>Aa</sup>
	ET	1.12 ± 0.34 <sup>Bb</sup>	1.92 ± 0.34 <sup>Abab</sup>	0.11 ± 0.05 <sup>Bb</sup>	0.26 ± 0.15 <sup>Aa</sup>
	EC	1.30 ± 0.49 <sup>Bb</sup>	2.00 ± 0.50 <sup>ABa</sup>	0.16 ± 0.16 <sup>Bb</sup>	0.24 ± 0.06 <sup>Aa</sup>
JF	Control	2.70 ± 0.55 <sup>Ba</sup>	1.53 ± 0.27 <sup>Bb</sup>	0.25 ± 0.06 <sup>Ba</sup>	0.27 ± 0.14 <sup>Aa</sup>
	ET	1.26 ± 0.43 <sup>Bb</sup>	1.62 ± 0.51 <sup>Bab</sup>	0.10 ± 0.03 <sup>Bb</sup>	0.16 ± 0.05 <sup>Aa</sup>
	EC	0.94 ± 0.42 <sup>Bb</sup>	1.94 ± 0.45 <sup>Ba</sup>	0.11 ± 0.03 <sup>Bb</sup>	0.19 ± 0.04 <sup>Aa</sup>
JD	Control	2.25 ± 0.36 <sup>Ba</sup>	1.57 ± 0.25 <sup>ABb</sup>	0.22 ± 0.03 <sup>Ba</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>Aa</sup>
	ET	1.99 ± 0.43 <sup>Bb</sup>	1.83 ± 0.32 <sup>Abab</sup>	0.14 ± 0.03 <sup>Bb</sup>	0.35 ± 0.42 <sup>Aa</sup>
	EC	1.58 ± 0.53 <sup>Bb</sup>	2.58 ± 0.30 <sup>Aba</sup>	0.08 ± 0.07 <sup>Bb</sup>	0.26 ± 0.02 <sup>Aa</sup>

Los valores representan la media de seis datos ± desviación estándar. Las comparaciones de medias se realizaron entre cada fruto. Las medias con letras mayúsculas diferentes son estadísticamente diferentes respecto a la cepa. Las medias con letras minúsculas diferentes son estadísticamente diferentes respecto al tipo de estrés previo. ET: estrés térmico. EC: estrés combinado.

La tolerancia de *S. enterica* a la deshidratación ha sido estudiada desde hace algunos años, y se han propuesto algunos mecanismos que participan en la sobrevivencia del patógeno. Csonka en 1989, citado por Burgess *et al.* (2016) demostró que la exposición a la desecación genera pérdida de agua, provocando el encogimiento de la célula y, por consiguiente, el aumento de las concentraciones de todos los metabolitos intracelulares, lo cual trae como consecuencia la plasmólisis repentina. Por otro lado, se demostró que la exposición a pH ácido y baja actividad de agua puede generar tolerancia cruzada a la temperatura en cepas de *S. Enteritidis* PT4 y *S. Typhimurium* PT4. Adicionalmente los autores sugirieron que esas exposiciones a estrés pueden tener un efecto promotor en factores de virulencia que ayuden a las células del patógeno a sobrevivir al proceso de digestión (Melo *et al.*, 2017).

Con la información de sobrevivencia a la desecación de mango de las cuatro cepas de *Salmonella*, para los estudios de sobrevivencia durante el almacenamiento de los



frutos deshidratados se seleccionó a ST (*S. Typhimurium* ATCC 23595) y MF (cepa aislada de mango fresco) por ser la cepa más susceptible y las más resistentes a las condiciones de deshidratación, respectivamente.

En el caso de la deshidratación de jitomate, como se señaló previamente, no se observaron diferencias significativas entre los niveles de estrés ni entre las cepas utilizadas, y por lo tanto se decidió seguir el mismo criterio que en el caso del mango y se seleccionaron la cepa de referencia (ST) y la aislada de jitomate fresco (JF) para el experimento del almacenamiento de frutos inoculados.

#### 5.4. Supervivencia de *Salmonella* durante el almacenamiento de los frutos deshidratados

Una vez determinada la tolerancia que las cepas de *Salmonella* presentaron al proceso de deshidratación, se estudió el comportamiento de las células sobrevivientes durante el almacenamiento de los frutos deshidratados. El interés de llevar a cabo este estudio surgió de los reportes que se tienen con relación a la capacidad que tienen algunas bacterias entéricas para resistir a las condiciones de baja Aa de algunos alimentos y que a pesar de considerarse seguros, se han visto involucrados en brotes de enfermedad (FAO, 2012). Para ello se inocularon células estresadas de las tres cepas seleccionadas, ST y MF para mango y ST y JF para jitomate, ( $\sim 6 \text{ Log UFC g}^{-1}$ ) en frutos de mango y jitomate deshidratados, con la intención de simular una recontaminación asociada a malas prácticas higiénicas al momento del empaquetado de los frutos. Los frutos deshidratados e inoculados se sometieron a secado para disminuir la Aa al nivel original y posteriormente se almacenaron en oscuridad a 25 °C. Durante el secado de los frutos la población de *Salmonella* disminuyó alrededor de 1 Log UFC  $\text{g}^{-1}$  en las cepas estresadas y sin estresar, de tal forma que la concentración al inicio del almacenamiento en cada uno de los empaques individuales fue de  $\sim 5 \text{ Log UFC g}^{-1}$ . Independientemente del tipo de fruto, después de 5 días de almacenamiento las tres cepas de *Salmonella* mostraron una tendencia a disminuir (Figura 16). En el caso de las cepas inoculadas en el mango deshidratado, la muerte ocurrió a razón de 2 Log UFC  $\text{g}^{-1}$  de reducción

durante los primeros 35 días de almacenamiento, y pasado este tiempo, la inactivación se hizo aún más lenta (Figuras 16A y 16B). Llama la atención que ST sometida a estrés combinado, se mantiene estable durante ese tiempo, mostrando una reducción mínima de  $\sim 0.5 \text{ Log UFC g}^{-1}$ .

Por otro lado, ST y JF en jitomate deshidratado también tuvieron tendencia a la inactivación, solo que de manera mucho más rápida que en mango (alrededor de 4 veces más rápido). Se observó una reducción de  $\sim 3 \text{ Log UFC g}^{-1}$  durante los primeros 24 días de almacenamiento, y a partir de este punto la inactivación ocurrió de manera escalonada. Al igual que en el mango deshidratado, ST con estrés combinado tuvo un comportamiento diferente, ya que el jitomate deshidratado presenta una reducción poblacional lineal hasta disminuir al límite de detección, donde pareciera comenzar una meseta. Durante 12 días más, se detectó la presencia de *Salmonella* en jitomate, sin embargo, no pudo ser cuantificada ya que se encontraba por debajo del límite de detección de la técnica ( $10 \text{ UFC g}^{-1}$ ).

Zhang *et al.* (2017) plantearon la hipótesis de que en condiciones de desecación severas ( $A_w \leq 0.73$ ), un aumento moderado de la actividad del agua puede conducir a la supervivencia de *Salmonella*. Cuando la actividad del agua se eleva más allá del umbral, la protección cruzada puede comenzar a disminuir, exponiendo cada vez más las células de *Salmonella* al estrés ambiental con la consecuencia neta de una muerte celular acelerada. Además, plantearon la hipótesis de que el estrés ambiental, incluidos los agentes antimicrobianos que puedan estar de manera natural en el alimento, puede ser anulada por la respuesta al estrés inducida por la desecación en ciertos alimentos de baja actividad de agua, es decir, la protección puede disminuir gradualmente y dejar de ser suficiente para la protección del patógeno. Los experimentos en los cuáles se basaron para generar las hipótesis consistieron en la deshidratación y almacenamiento de ajo.

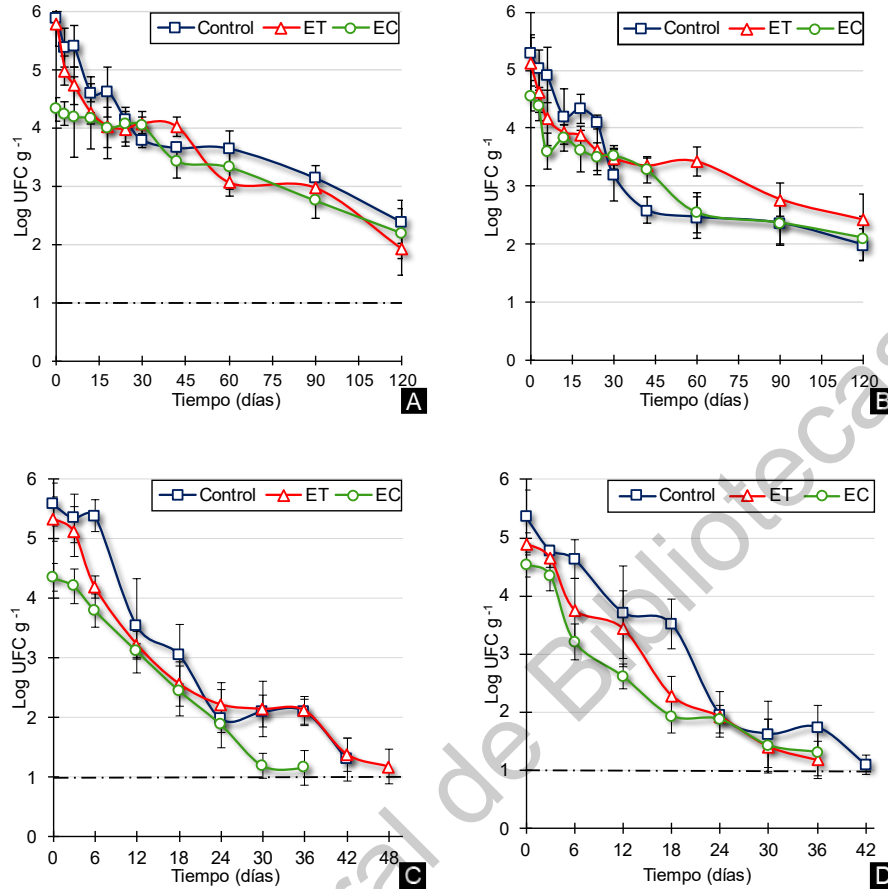


Figura 16. Comportamiento de cepas de *S. enterica* durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados.

En mango: A) ST, *S. Typhimurium* ATCC 23595 y B) MF, cepa aislada de mango fresco. En jitomate: C) ST, *S. Typhimurium* ATCC 23595 y D) JF, cepa aislada de jitomate fresco. La línea punteada representa el límite de detección de la técnica.

ET: estrés térmico; EC: estrés combinado.

Se ajustaron matemáticamente las cinéticas de inactivación con el modelo de Weibull, ya que el modelo propuesto por Baranyi y Roberts (utilizado para los datos de la deshidratación) presentó algunas limitaciones y los datos del almacenamiento no se ajustaron adecuadamente a él, lo cual puede estar asociado a que la baja actividad de agua genera un estrés intrínseco en las células para lo cual se han propuesto algunos modelos para ajustar las cinéticas microbianas, uno de ellos es el modelo de Weibull (Santillana *et al.*, 2016; Santillana *et al.*, 2013).

Con los valores obtenidos de  $\delta$  y  $\beta$  se realizó un ANDEVA para el comportamiento de *S. enterica* durante el almacenamiento de las frutas deshidratadas, teniendo a la cepa y al tipo de estrés como factores de variación. En ambos frutos la cepa no tuvo efecto significativo en los parámetros  $\delta$  y  $\beta$  ( $p > 0.05$ ) (Anexo 8.8). Mientras que el tipo de estrés mostró tener efecto significativo ( $p > 0.05$ ), observándose que, en términos generales el estrés combinado causa un aumento sobre ambas variables respuesta (Tabla 18). Las interacciones significativas respecto a  $\delta$  se reportan en la Figura 21 del anexo 8.12.

Tabla 14. Parámetros del modelo de Weibull del comportamiento de *S. enterica* durante el almacenamiento a 25 °C de frutos deshidratados.

Fruto	Cepa	Tratamiento	$\delta$ (días)	$\beta$	R
Mango	ST	Control	10.80 ± 6.04 <sup>Ab</sup>	0.49 ± 0.08 <sup>Ab</sup>	0.955
		ET	6.56 ± 2.91 <sup>Ab</sup>	0.43 ± 0.08 <sup>Ab</sup>	0.947
		EC	58.42 ± 12.50 <sup>Aa</sup>	1.10 ± 0.45 <sup>Aa</sup>	0.951
	MF	Control	12.08 ± 4.73 <sup>Ab</sup>	0.55 ± 0.10 <sup>Ab</sup>	0.919
		ET	17.98 ± 6.26 <sup>Ab</sup>	0.47 ± 0.12 <sup>Ab</sup>	0.927
		EC	27.71 ± 7.30 <sup>Aa</sup>	0.59 ± 0.07 <sup>Aa</sup>	0.924
Jitomate	ST	Control	6.30 ± 1.31 <sup>Ab</sup>	0.78 ± 0.07 <sup>Aa</sup>	0.941
		ET	4.26 ± 1.46 <sup>Ab</sup>	0.59 ± 0.06 <sup>Ab</sup>	0.962
		EC	9.48 ± 2.50 <sup>Aa</sup>	0.94 ± 0.18 <sup>Aa</sup>	0.974
	JF	Control	6.71 ± 1.33 <sup>Ab</sup>	0.81 ± 0.07 <sup>Aa</sup>	0.959
		ET	6.21 ± 0.95 <sup>Ab</sup>	0.78 ± 0.10 <sup>Ab</sup>	0.958
		EC	5.10 ± 1.79 <sup>Aa</sup>	0.63 ± 0.10 <sup>Aa</sup>	0.951

Los valores representan la media de seis datos ± desviación estándar. Las comparaciones de medias se llevaron cabo para cada fruto. ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595; MF: cepa aislada de mango fresco; JF: cepa aislada de jitomate fresco; JD: cepa aislada de jitomate deshidratado; ET: estrés térmico (50 °C/1 h, pH 7.0); EC: estrés combinado (50 °C/1 h, pH 4.2). Las medias con letras mayúsculas diferentes son estadísticamente diferentes respecto a la cepa. Las medias con letras minúsculas diferentes son estadísticamente diferentes respecto al tipo de estrés previo.

En el mango, se observa que la cepa ST estresada con temperatura y pH ácido tiene alrededor de 5 veces mayor tolerancia (~60 días) durante el almacenamiento que las cepas sin estrés (10-12 días), lo cual permite sugerir la posible resistencia cruzada que ocasiona la combinación de estrés ácido y térmico sobre el estrés osmótico

durante el almacenamiento de los frutos (Tabla 15). Por otro lado, en el jitomate deshidratado la cepa ST, en las mismas condiciones estresantes (EC), presentó un valor mayor de  $\delta$  respecto a la cepa control (ATCC 23595) y los otros niveles de estrés. Respecto a la diferencia entre la sobrevivencia del patógeno en mango y jitomate, se han reportado que la matriz alimentaria de frutos con un alto contenido de fibra, tal como el mango, brindan protección a la bacteria al permitir que se fije en los poros que se encuentran en el fruto, contrastando con la matriz alimentaria que se encuentra en el jitomate (Osaili *et al.*, 2018; Gradl *et al.*, 2015).

Respecto al valor  $\beta$ , el cual describe la forma de la curva, se tiene reportado que valores mayores a 1 generan curvas convexas, lo que quiere decir que las células sobrevivientes se dañan con mayor rapidez; mientras que valores de  $\beta < 1$  genera una curva cóncava, lo cual indica que las células sobrevivientes resisten el daño generado por el medio adverso (Pereira *et al.*, 2020; Santillana *et al.*, 2016). En los datos obtenidos en este trabajo, se presentan curvas cóncavas, a excepción de la curva de ST con estrés combinado en mango, lo cual sugiere que esta cepa en el caso de este fruto está siendo dañada de manera más agresiva, indicando que las cepas aisladas de los productos frescos tienen la capacidad de soportar el estrés generado por el estrés combinado (50 °C/ 1 h a pH~4).

## 6. CONCLUSIONES

Los tratamientos de deshidratación con aire caliente (50 °C/ 11 h y 70 °C/11 h) aplicados a mango y jitomate no afectaron los parámetros de calidad, color y firmeza, en los frutos deshidratados.

La cuantificación del estrés celular generado a células de *Salmonella* pudo determinarse mediante la técnica de cultivo en placa y tuvo correlación con el daño a la membrana y la actividad de bombas de flujo cuantificados mediante citometría de flujo.

La deshidratación de los frutos con aire caliente a 50 °C/11 h no elimina a *Salmonella enterica*. Solamente se lograron inactivar ~3 Log UFC g<sup>-1</sup> y, por tanto, el tratamiento no cumple con lo establecido por la FDA en los Estados Unidos para considerar efectivo al tratamiento en la descontaminación de los frutos.

Dado que la deshidratación con aire caliente a 50 °C/11 h no elimina a *Salmonella*, es muy importante vigilar el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura durante la elaboración de estos productos para evitar su contaminación con patógenos.

Las células de *Salmonella* estresadas y no estresadas presentan la misma capacidad de sobrevivencia durante la deshidratación en jitomate, mientras que cuando las cepas están estresadas se observó tolerancia, hasta tres veces mayor, en mango.

La sobrevivencia de *Salmonella* en mango deshidratado es hasta cinco veces mayor que en jitomate deshidratado. Además, si el patógeno se encuentra estresado, puede presentar resistencia cruzada a la baja actividad de agua durante el almacenamiento y, por lo tanto, prolongar su sobrevivencia en comparación a cuando no se encuentra estresado.

Aún queda un gran nicho para la investigación en torno a la sobrevivencia de patógenos durante la deshidratación de alimentos y su almacenamiento. La realización de este trabajo es un primer acercamiento al estudio del efecto de

tratamientos de deshidratación de frutas en la fisiología de bacterias patógenas, como *Salmonella*, y la posible generación de resistencia.

Respecto al origen de las cepas, durante la deshidratación de los frutos las cepas aisladas de los frutos presentaron mayor tolerancia durante la deshidratación que la cepa de referencia; mientras que, durante el almacenamiento, la sobrevivencia de las cepas es similar en ambos frutos.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

## 7. REFERENCIAS

- Abano, E. E. (2016). Kinetics and quality of microwave-assisted drying of mango (*Mangifera indica*). *International Journal of Food Science*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2037029>
- Administration, F. and D. (2010). Center for Drug Evaluation and. *Approval Letter*, 0–13.
- Aguilar-Vázquez, J. C. (2015). *Incidencia y comportamiento de Salmonella en alimentos de baja actividad de agua*. Universidad Autonoma de Querétaro. Tesis.
- Ahmadi, F., Lee, Y. H., Lee, W. H., Oh, Y. K., Park, K., & Kwak, W. S. (2019). Long-term anaerobic conservation of fruit and vegetable discards without or with moisture adjustment after aerobic preservation with sodium metabisulfite. *Waste Management*, 87, 258–267. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.02.010>
- Álvarez-Ordóñez, A., Fernández, A., Bernardo, A., & López, M. (2010). Acid tolerance in *Salmonella* Typhimurium induced by culturing in the presence of organic acids at different growth temperatures. *Food Microbiology*, 27(1), 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2009.07.015>
- Aspidou, Z., Akritidou, T., & Koutsoumanis, K. P. (2018). Simultaneous growth, survival and death: The trimodal behavior of *Salmonella* cells under osmotic stress giving rise to “Phoenix phenomenon.” *International Journal of Food Microbiology*, 285(July), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.07.012>
- Ávila Quesada, G., Islas Valenzuela, C., Muñoz Márquez, E., & Sánchez Chávez, E. (2009). Contaminación física y microbiológica del chile “chipotle” durante el deshidratado. *Fitoteca Mexicana*, 32(3), 225–231.
- Azeez, L., Adebisi, S. A., Oyedeji, A. O., Adetoro, R. O., & Tijani, K. O. (2019). Bioactive compounds’ contents, drying kinetics and mathematical modelling of tomato slices influenced by drying temperatures and time. *Journal of the Saudi*



*Society of Agricultural Sciences*, 18(2), 120–126.  
<https://doi.org/10.1016/j.jssas.2017.03.002>

Badui Dergal, S. (2006). Salvador Badui Dergal. In *Química de los alimentos*.

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. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108522>

Bartz, J. A., Marvasi, M., & Teplitski, M. (2014). *Salmonella* and Tomatoes. In *The Produce Contamination Problem* (Second Edi). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-404611-5.00012-9>

Bergougnoux, V. (2014). The history of tomato: From domestication to biopharming. *Biotechnology Advances*, 32(1), 170–189.  
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.11.003>

Beuchat, I. R., Komitopoulou, E., Beckers, H., Betts, R. P., Bourdichon, F., Fanning, S., Ter Kuile, B. H. (2012). Low–Water Activity Foods: Increased Concern as Vehicles of Foodborne Pathogens. *Journal of Food Protection*, 76(1), 150–172.  
<https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-12-211>

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), 382–395. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01532.x>

Bi, X., Wang, Y., Zhao, F., Sun, Z., & Hu, X. (2015). Sublethal injury and recovery of *Escherichia coli* O157 : H7 by high pressure carbon dioxide. *Food Control*, 50, 705–713. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.014>

Blanco, G., Rosa, A., & Jos, S. S. (2018). Diseño y construcción de un deshidratador solar para fresa. (1).

Bojórquez, R. M. C., Gallego, J. G., & Collado, P. S. (2013). Propiedades funcionales

y beneficios para la salud del licopeno. *Nutricion Hospitalaria*, 28(1), 6–15.  
<https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6302>

Burgess, C. M., Gianotti, A., Gruzdev, N., Holah, J., Knøchel, S., Lehner, A., ... Tresse, O. (2016). The response of foodborne pathogens to osmotic and desiccation stresses in the food chain. *International Journal of Food Microbiology*, 221, 37–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.014>

Cajamarca, D. I., Mendoza Castillo, J., & Baño Ayala, D. (2019). Producción de frutas deshidratadas quality an innovative and sustainable methodology in the.

Carbajal Anchapuri, M. E. (2018). Deshidratación osmótica de fresas (*Fragaria verca* L.) con aplicación de presión reducida. Escuela Profesional de Ingeniería Química. Arequipa, Perú.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2016a). Annual Summaries of Foodborne Outbreaks | Foodborne Outbreak Surveillance System | Food Safety | CDC. Retrieved from <https://www.cdc.gov/fdoss/annual-reports/index.html>

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2016b). Multistate Outbreak of *Salmonella* Montevideo and *Salmonella* Senftenberg Infections Linked to Wonderful Pistachios (Final Update). Retrieved May 26, 2019, from <https://www.cdc.gov/salmonella/montevideo-03-16/index.html>

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2018). Brote multiestatal de infecciones por *Salmonella* Typhimurium asociado al coco deshidratado. Retrieved May 26, 2019, from <https://www.cdc.gov/salmonella/typhimurium-03-18/index-esp.html>

Channaiah, L. H., Michael, M., Acuff, J. C., Phebus, R. K., Thippareddi, H., Olewnik, M., & Milliken, G. (2017). Validation of the baking process as a kill-step for controlling *Salmonella* in muffins. *International Journal of Food Microbiology*, 250, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.007>

Coşkun, S., Doymaz, İ., Tunçkal, C., & Erdoğan, S. (2017). Investigation of drying kinetics of tomato slices dried by using a closed loop heat pump dryer. *Heat and*

*Mass Transfer/Waerme- Und Stoffuebertragung*, 53(6), 1863–1871.  
<https://doi.org/10.1007/s00231-016-1946-7>

Cui, X., Hu, C., Ou, L., Kuramitsu, Y., & Masuda, Y. (2019). LWT - Food Science and Technology Transcriptional analysis on heat resistance and recovery from thermal damage in *Salmonella* under high salt condition. *LWT - Food Science and Technology*, 106(February), 194–200.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.056>

Cuzzi, R., Ly, V., Parreira, V. R., Sanchez-Maldonado, A. F., & Farber, J. M. (2021). Survival of *Listeria monocytogenes* during storage on dried apples, strawberries, and raisins at 4 °C and 23 °C. *International Journal of Food Microbiology*, 339, 108991. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108991>

De Michelis, A., & Ohaco, E. (2015). Deshidratación y desecado de frutas, hortalizas y hongos. 70. Retrieved from [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta\\_cartilla\\_secado.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta_cartilla_secado.pdf)

Dea, S., Brecht, J. K., Nunes, M. C. N., & Baldwin, E. A. (2010). Quality of fresh-cut “Kent” mango slices prepared from hot water or non-hot water-treated fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 56(2), 171–180.  
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.01.007>

Demiray, E., Tulek, Y., & Yilmaz, Y. (2013). Degradation kinetics of lycopene,  $\beta$ -carotene and ascorbic acid in tomatoes during hot air drying. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.06.001>

Deng, Y., Ryu, J. H., & Beuchat, L. R. (1998). Influence of temperature and pH on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry foods and growth in reconstituted infant rice cereal. *International Journal of Food Microbiology*, 45(3), 173–184.  
[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(98\)00161-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(98)00161-5)

Díaz, M., Herrero, M., García, L. A., & Quirós, C. (2010). Application of flow cytometry to industrial microbial bioprocesses. 48, 385–407.  
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.07.013>

- 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), 500–507. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.09.004>
- 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), 2–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07193.x>
- Dissa, A. O., Desmorieux, H., Bathiebo, J., & Koulidiati, J. (2008). Convective drying characteristics of Amelie mango (*Mangifera Indica* L. cv. 'Amelie') with correction for shrinkage. *Journal of Food Engineering*, 88(4), 429–437. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.03.008>
- Ebrahimi, A., Csonka, L. N., & Alam, M. A. (2018). Analyzing Thermal Stability of Cell Membrane of *Salmonella* Using Time-Multiplexed Impedance Sensing. *Biophysical Journal*, 114(3), 609–618. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2017.10.032>
- Elhadidy, M., & Álvarez-Ordóñez, A. (2016). Diversity of survival patterns among *Escherichia coli* O157: H7 genotypes subjected to food-related stress conditions. *Frontiers in Microbiology*, 7(MAR), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00322>
- Estrada, H. H., Restrepo, C. E., Saumett, H. G., & Pérez, L. (2018). Deshidratación Osmótica y Secado por Aire Caliente en Mango, Guayaba y Limón para la Obtención de Ingredientes Funcionales. *Información Tecnológica*, 29(3), 197–204. <https://doi.org/10.4067/s0718-07642018000300197>
- FAO. (2012). Prevención y control de la *Salmonella* y la *E. coli* enterohemorrágica en los frutos secos. *EMPRES Inocuidad de Los Alimentos*, 2, 1–4. Retrieved from <http://ucfoodsafety.ucdavis.edu/files/163175.pdf>
- Felipe Moreno, L. (2015). Manual técnico de frutas y verduras. *ABC de Las Frutas y Verduras*, 1–224.

- Fernández Escartín, E. (2008). *Microbiología e inocuidad de los alimentos* (2°). Querétaro.
- Fernández Valdés, D., Bautista Baños, S., Fernández Valdés, D., Ocampo Ramírez, A., García Pereira, A., & Falcón Rodríguez, A. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación de frutas y hortalizas. *Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24(2), 52–57. Retrieved from <http://gso.gbv.de.proxy.bnl.lu/DB=2.34/PPNSET?PPN=1516287940>
- FIRA. (2016). Tomate rojo. *Panorama Alimentario*, 2. Retrieved from [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama\\_Agroalimentario\\_Tomate\\_Rojo\\_2016.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200635/Panorama_Agroalimentario_Tomate_Rojo_2016.pdf)
- Forouzanfar, A., Hojjati, M., Noshad, M., & Szumny, A. J. (2020). Influence of uv-b pretreatments on kinetics of convective hot air drying and physical parameters of mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Agriculture (Switzerland)*, 10(9), 1–10. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090371>
- Fратиани, A., Adiletta, G., Matteo, M. Di, Panfili, G., Niro, S., Gentile, C., ... Cinquanta, L. (2020). *Evolution of Carotenoid Content , Antioxidant*.
- García-Paternina, M., Alvis-Bermudez, A., & García-Mogollon, C. A. (2015). Evaluación de los pretratamientos de deshidratación osmótica y microondas en la obtención de hojuelas de mango (Tommy Atkins). *Informacion Tecnologica*, 26(5), 63–70. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000500009>
- Gómez-Baltazar, A., Vázquez-Garcidueñas, M. S., Larsen, J., Kuk-Soberanis, M. E., & Vázquez-Marrufo, G. (2019). Comparative stress response to food preservation conditions of ST19 and ST213 genotypes of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Food Microbiology*, 82(January), 303–315. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.03.010>
- González Bernal, R. (2014). Análisis de la problemática en la producción y comercialización de mango (*Mangifera Indica L*) en el estado de guerrero (Vol. 1). <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

- Goyal, R. K., Kingsly, A. R. P., Manikantan, M. R., & Ilyas, S. M. (2006). Thin-layer Drying Kinetics of Raw Mango Slices. *Biosystems Engineering*, 95(1), 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.05.001>
- Gradl, D. R., Sun, L., Larkin, E. L., Chirtel, S. J., & Keller, S. E. (2015). Survival of *Salmonella* during drying of fresh ginger root (*Zingiber officinale*) and storage of ground ginger. *Journal of Food Protection*, 78(11), 1954–1959. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-153>
- Gu, G., Bolten, S., Mowery, J., Luo, Y., Gulbranson, C., & Nou, X. (2020). Susceptibility of foodborne pathogens to sanitizers in produce rinse water and potential induction of viable but non-culturable state. *Food Control*, 112(January), 107138. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107138>
- Guillén, S., Marcén, M., Mañas, P., & Cebrián, G. (2020). Differences in resistance to different environmental stresses and non-thermal food preservation technologies among *Salmonella enterica* subsp. *enterica* strains. *Food Research International*, 132(October 2019), 109042. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109042>
- Gurtler, J. B., Keller, S. E., Kornacki, J. L., Annous, B. A., Jin, T., & Fan, X. (2019). Challenges in Recovering Foodborne Pathogens from Low-Water-Activity Foods. 82(6), 988–996.
- Herrera, Y., & Jabib, R. L. (2015). Salmonellosis , zoonosis de las aves y una patogenia muy particular. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(1).
- Jarvis, N. A., O'Bryan, C. A., Dawoud, T. M., Park, S. H., Kwon, Y. M., Crandall, P. G., & Ricke, S. C. (2016). An overview of *Salmonella* thermal destruction during food processing and preparation. *Food Control*, 68, 280–290. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.006>
- Jiang, G. H., Nam, S. H., & Eun, J. B. (2018). Effects of peeling, drying temperature, and sodium metabisulfite treatment on physicochemical characteristics and antioxidant activities of Asian pear powders. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), 1–10. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13526>

- Jiménez Durán, I. A. A. (2015). Deshidratado De Rebanadas De Mango Tommy Atkins Utilizando Extractos De Sus Semillas Y Metabisulfito De Sodio Como Pretratamientos. 1–121. Retrieved from [http://jupiter.utm.mx/~tesis\\_dig/12563.pdf](http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/12563.pdf)
- Kang, I. B., Kim, D. H., Jeong, D., Park, J. H., & Seo, K. H. (2018). Heat resistance of *Salmonella* Enteritidis under prolonged exposure to acid-salt combined stress and subsequent refrigeration. *International Journal of Food Microbiology*, 285(February), 165–172. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.08.011>
- 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, 32–49. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.001>
- Kim, C., Bushlaibi, M., Alrefaei, R., Ndegwa, E., Kaseloo, P., & Wynn, C. (2019). Influence of prior pH and thermal stresses on thermal tolerance of foodborne pathogens. *Food Science and Nutrition*, 7(6), 2033–2042. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1034>
- Kusumoto, A., Asakura, H., & Kawamoto, K. (2012). General stress sigma factor *RpoS* influences time required to enter the viable but non-culturable state in *Salmonella enterica*. *Microbiology and Immunology*, 56(4), 228–237. <https://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00428.x>
- Lang, E., Guyot, S., Peltier, C., Alvarez-Martin, P., Perrier-Cornet, J. M., & Gervais, P. (2018). Cellular injuries in *Cronobacter sakazakii* CIP 103183T and *Salmonella enterica* exposed to drying and subsequent heat treatment in milk powder. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAR), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00475>
- Link, J. V., Tribuzi, G., & Laurindo, J. B. (2017). Improving quality of dried fruits: A comparison between conductive multi-flash and traditional drying methods. *LWT - Food Science and Technology*, 84, 717–725. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.06.045>

- López, F. E., De, M., Pescaretti, M., Morero, R., & Delgado, M. A. (2012). *Salmonella* Typhimurium general virulence factors : A battle of David against Goliath ? *FRIN*, 45(2), 842–851. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.08.009>
- López, G. F., & Alarcón, O. M. A. (2018). Consumo generacional del consumo de frutas y verduras en México a través de un análisis de edad-periodo-cohorte 1994-2014. *Población y Salud En Mesoamérica*, 15.
- Lound, L., Aleu, H., Broggi, L., Genaro, V., Tesouro, R., Favre, L., ... Tofolón, E. (2017). Resistencia térmica de *Salmonella* . Efecto del pH y la actividad del agua. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 7, 1–18.
- Luis, J., Martínez, P., Herrera, R. V., Antonio, J., Díaz, G., & Armando, J. (2013). Deshidratación de alimentos utilizando energía solar térmica. *Culcity-Tecnología*, 2(50).
- Mafi, N., & Orenstein, R. (2018). Salmonellosis ☆. *Reference Module in Biomedical Sciences*, (March), 1–8. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.65969-X>
- Melo, A. N. F. de, Souza, G. T. de, Schaffner, D., Oliveira, T. C. M. de, Maciel, J. F., Souza, E. L. de, & Magnani, M. (2017). Changes in thermo-tolerance and survival under simulated gastrointestinal conditions of *Salmonella* Enteritidis PT4 and *Salmonella* Typhimurium PT4 in chicken breast meat after exposure to sequential stresses. *International Journal of Food Microbiology*, 251, 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.03.022>
- Midilli, A., Kucuk, H., & Yapar, Z. (2002). A new model for single-layer drying. *Drying Technology*, 20(7), 1503–1513. <https://doi.org/10.1081/DRT-120005864>
- Monsalve, J., & Machado, M. (2007). Evaluación de dos métodos de deshidratación del tomate ( *Lycopersicon esculentum* mill ). *Multiciencias*.
- Morishige, Y., Fujimori, K., & Amano, F. (2013). Differential resuscitative effect of pyruvate and its analogues on VBNC (Viable But Non-Culturable) *Salmonella*. *Microbes and Environments*, 28(2), 180–186. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME12174>



- Mwende, R., Owino, W., & Imathiu, S. (2018). Effects of pretreatment during drying on the antioxidant properties and color of selected tomato varieties. *Food Science and Nutrition*, 6(2), 503–511. <https://doi.org/10.1002/fsn3.581>
- Nader, A. J. (2015). La calidad. Aplicación de sus principios a los alimentos. Su visualización por distintos sectores. El Enfoque Del Codex Alimentarius. file:///C:/Users/52442/Downloads/produccion-frutas-deshidratadas.pdf. *Fao*, 1–6. Retrieved from [http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP\\_FaoRlc/old/prior/comagric/codex/pdf/calidad.pdf](http://www.fao.org/tempref/GI/Reserved/FTP_FaoRlc/old/prior/comagric/codex/pdf/calidad.pdf)
- Nyangena, I., Owino, W., Ambuko, J., & Imathiu, S. (2019). Effect of selected pretreatments prior to drying on physical quality attributes of dried mango chips. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3854–3863. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03857-9>
- Ochoa Reyes, E., Ornelas Paz, J. de J., Ruiz Cruz, S., Ibarra Junquera, V., Jaime, P. M., Guevara Arauza, J. C., & Aguilar, C. (2004). Tecnologías de deshidratación para la preservación de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*). *Biotecnia*, 39–46.
- Orikasa, T., Koide, S., Sugawara, H., Yoshida, M., Kato, K., Matsushima, U., Tagawa, A. (2018). Applicability of vacuum-microwave drying for tomato fruit based on evaluations of energy cost, color, functional components, and sensory qualities. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(6), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13625>
- Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Aljaafreh, T. F., & Olaimat, A. N. (2018). Use of gamma radiation to inactivate stressed *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in tahini halva. *Lwt*, 98(March), 438–443. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.017>
- Pereira, A. A. M., Prestes, F. S., Silva, A. C. M., & Nascimento, M. S. (2020). Evaluation of the thermal resistance of *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 after long-term blanched peanut kernel storage. *Lwt*, 117(May 2019), 108701.

<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108701>

- Pereira García, A., Muñiz Becerá, S., Hernández Gómez, A., Mario González, L., & Fernández Valdés, D. (2013). Análisis comparativo de la cinética de deshidratación Osmótica y por Flujo de Aire Caliente de la Piña (Ananas Comosus , variedad Cayena lisa). *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 22(1), 62–69.
- Pérez Alonso, C., Cruz Olivares, J., Vizcarra Mendoza, M. G., & Vernon Carter, E. J. (2008). Modelamiento del proceso de secado de pimienta gorda (*Pimienta dioica* L . Merrill ) en Lecho Fluidizado.
- Pradhan, D., & Negi, V. D. (2019). Stress-induced adaptations in *Salmonella*: A ground for shaping its pathogenesis. *Microbiological Research*, 229(August), 126311. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126311>
- Pradhan, D., Negi, V. D., Gu, G., Bolten, S., Mowery, J., Luo, Y., Skandamis, P. N. (2016). Tryptophan-containing lipopeptide antibiotics derived from polymyxin B with activity against Gram positive and Gram negative bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1858(2), 333–343. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2015.11.011>
- Rodriguez-sandoval, E. (2012). Evaluación de las características físicas de mango deshidratado aplicando secado por aire caliente y deshidratación osmótica. (December 2010).
- Rosero Chamorro, I. M. (2018). Comparación de técnicas de secado ventana refractiva y convección forzada en frutas tropicales.
- SAGARPA. (2017a). Jitomate mexicano. *Planeación Agrícola Naional 2017-2030*, 2–5.
- SAGARPA. (2017b). Mango mexicano. *Planeación Agrícola Nacional 2017-2030*, I(1), 1–14.
- SAGARPA. (2017c). Planeación Agrícola Nacional (2017-2030). *Planeación Agrícola Nacional 2017-2030*, I(1), 1–14. Retrieved from

[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257072/Potencial-Chiles\\_y\\_Pimientos-parte\\_uno.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257072/Potencial-Chiles_y_Pimientos-parte_uno.pdf)  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B\\_sico-Ma\\_z\\_Grano\\_Blanco\\_y\\_Amarillo.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256429/B_sico-Ma_z_Grano_Blanco_y_Amarillo.pdf)

- Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. A. N., Mohd Omar, A. K., Nyam, K.-L. (2015). Mango (*Mangifera indica* L.) by-products and their valuable components: A review. *Food Chemistry*, 183, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.046>
- Salive, A. F. V., Prudêncio, C. V., Baglinière, F., Oliveira, L. L., Ferreira, S. O., & Vanetti, M. C. D. (2020). Comparison of stress conditions to induce viable but non-cultivable state in *Salmonella*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(3), 1269–1277. <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00261-w>
- Santillana Farakos, S. M., Frank, J. F., & Schaffner, D. W. (2013). Modeling the influence of temperature, water activity and water mobility on the persistence of *Salmonella* in low-moisture foods. *International Journal of Food Microbiology*, 166(2), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.07.007>
- Santillana, M., Pouillot, R., Anderson, N., Johnson, R., Son, I., & Doren, J. Van. (2016). International Journal of Food Microbiology Modeling the survival kinetics of *Salmonella* in tree nuts for use in risk assessment. 227, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.014>
- Santos-Sánchez, N. F., Valadez-Blanco, R., Gómez-Gómez, M. S., Pérez-Herrera, A., & Salas-Coronado, R. (2012). Effect of rotating tray drying on antioxidant components, color and rehydration ratio of tomato saladette slices. *LWT - Food Science and Technology*, 46(1), 298–304. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.015>
- 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, 548–555. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.03.012>

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2019). Panorama Agroalimentario 2020. *Servicio de Informacion Agroalimentaria y Pesquera*, 53(9), 1689–1699. Retrieved from <http://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf><https://hdl.handle.net/20.500.12380/245180><http://dx.doi.org/10.1016/j.jsames.2011.03.003><https://doi.org/10.1016/j.gr.2017.08.001><http://dx.doi.org/10.1016/j.precamres.2014.12>

Sharma, S., & Rao, T. V. R. (2017). Responses of fresh-cut products of four mango cultivars under two different storage conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 54(6), 1689–1702. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2601-0>

Shen, S., & Fang, F. C. (2012). Integrated stress responses in *Salmonella*. *International Journal of Food Microbiology*, 152(3), 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.04.017>

SIAP. (2019). Atlas Agroalimentario 2016. Retrieved from Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera website: [https://nube.siap.gob.mx/gobmx\\_publicaciones\\_siap/pag/2016/Atlas-Agroalimentario-2016](https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publicaciones_siap/pag/2016/Atlas-Agroalimentario-2016)

Taylor, P., Tharanathan, R. N., Yashoda, H. M., & Prabha, T. N. (2007). *Mango (Mangifera indica L.)*, “The King of Fruits”—An Overview *Mango (Mangifera indica L.)*, “The King of Fruits”—An Overview. <https://doi.org/10.1080/87559120600574493>

Trucksess, M. W., & Scott, P. M. (2008). Mycotoxins in botanicals and dried fruits: A review. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 25(2), 181–192. <https://doi.org/10.1080/02652030701567459>

USDA. (2019). Food Composition Databases. Retrieved from [https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?SYNCHRONIZER\\_TOKEN=134bf69-6da1-4590-b39e-c9f301dc7b33&SYNCHRONIZER\\_URI=%2Fndb%2Fsearch%2Flist%2F&qt=&q](https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?SYNCHRONIZER_TOKEN=134bf69-6da1-4590-b39e-c9f301dc7b33&SYNCHRONIZER_URI=%2Fndb%2Fsearch%2Flist%2F&qt=&q)

lookup=&ds=&manu=

- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F. J., Velderrain-Rodríguez, G. R., González-Aguilar, A., De La Rosa, L. A., López-Díaz, J. A., & Álvarez-Parrilla, E. (2015). El mango: Aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutricion Hospitalaria*, 31(1), 55–66. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7701>
- Yousef, A. E., & Juneja, V. K. (2003). *Microbial Stress Adaptation and Food Safety. CRC Press LLC (Vol. 3)*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/car.1158>
- Zhang, H., Qi, Y., Wang, L., Zhang, S., & Deng, X. (2017). *Salmonella* survival during thermal dehydration of fresh garlic and storage of dehydrated garlic products. *International Journal of Food Microbiology*, 263(October), 26–31. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.010>
- Zhou, Z., Zuber, S., Campagnoli, M., Moser, M., Devlieghere, F., & Uyttendaele, M. (2020). Decontamination effect of hot-air drying against bacterial pathogen and surrogate strains on basil leaves, from laboratory to pilot scale settings. *Lwt*, 122(November 2019), 109035. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109035>

## 8. ANEXOS

### 8.1. Curva de desarrollo de las cepas de *S. enterica*

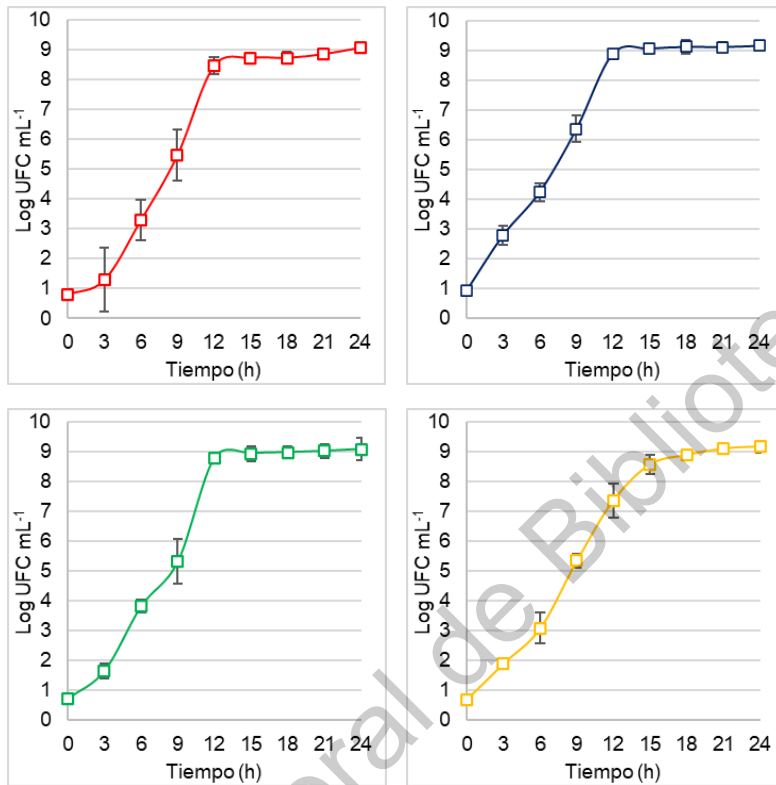


Figura 17. Curvas de desarrollo de *S. enterica*.

A) *S. Tiphymurium* 23595; B) *Salmonella* aislada de mango fresco; C) *Salmonella* aislada de jitomate fresco y D) *Salmonella* aislada de jitomate

8.2. Análisis de varianza de los parámetros de secado con aire caliente de mango y jitomate.

Factor	Niveles
A: Temperatura	50 y 70 °C
B: Sulfitado	Si; no.

Tabla 15. Análisis de varianza de los parámetros de secado de los frutos con aire caliente

Fruto	Factor	Humedad	Aa	Valor p <sup>1</sup>	
				Velocidad de secado	Difusión efectiva
Mango	A	0.00	0.53	0.01	0.00
	B	0.96	0.70	0.60	0.00
	AxB	0.17	0.32	0.38	0.09
Jitomate	A	0.00	0.75	0.02	0.00
	B	0.04	0.25	0.20	0.00
	AxB	0.23	0.11	0.29	0.00

<sup>1</sup>Valores de  $p \leq 0.05$  indican significancia estadística.

8.3. Análisis de varianza del color y firmeza de los frutos deshidratados con aire caliente.

Factor	Niveles
A: Temperatura	50 y 70 °C
B: Sulfitado	Si; no.

Tabla 16. Análisis de varianza de los parámetros de calidad evaluados en los frutos deshidratados

Fruto	Factor	Valor p <sup>1</sup>				Firmeza
		L*	a*	b*	ΔE	
Mango	A	0.60	0.17	0.99	0.64	0.39
	B	0.67	0.84	0.56	0.93	0.43
	AxB	0.67	0.49	0.48	0.63	0.85
Jitomate	A	0.00	0.00	0.00	0.01	0.31
	B	0.46	0.74	0.19	0.53	0.53
	AxB	0.31	0.00	0.41	0.99	0.38

<sup>1</sup>Valores de  $p \leq 0.05$  indican significancia estadística.



8.4. Análisis de varianza del *valor D<sub>50</sub>* en *S. enterica* sometida a calentamiento a 50 °C en extractos de mango y jitomate

Factor	Niveles
A: pH	~4; 7.0

Tabla 17. Análisis de varianza del *valor D<sub>50</sub>* de *S. enterica* durante el calentamiento a 50 °C en los extractos de fruta

Fruto	Factor	<sup>2</sup> ST	Valor p <sup>1</sup>		
			MF	JF	JD
Mango	A	0.76	0.00	0.00	0.90
Jitomate	A	0.00	0.00	0.00	0.00

<sup>1</sup>Valores de p ≤ 0.05 indican significancia estadística.

<sup>2</sup>ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595; MF: Cepa aislada de mango fresco; JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado.

8.5. Análisis de varianza de la población estresada de *S. enterica* sometida a calentamiento a 50 °C en extractos de mango y jitomate

Factor	Niveles
A: pH	~4 y 7.0
B: Tiempo	0, 1 y 2 h.

Tabla 18. análisis de varianza del porcentaje de población estresada *S. enterica* sometida a calentamiento a 50 °C en extractos de frutas

Extracto	Factor	Valor p <sup>1</sup>			
		<sup>2</sup> ST	MF	JF	JD
Mango	A	0.93	0.00	0.04	0.00
	B	0.00	0.00	0.00	0.00
	AxB	0.49	0.02	0.00	0.50
Jitomate	A	0.86	0.00	0.00	0.00
	B	0.01	0.00	0.00	0.89
	AxB	0.00	0.00	0.00	0.07

<sup>1</sup>Valores de  $p \leq 0.05$  indican significancia estadística.

<sup>2</sup>ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595; MF: Cepa aislada de mango fresco; JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado.

8.6. Análisis de varianza de la población permeable y con bombas de flujo comprometidas de *S. enterica* sometida a calentamiento a 50 °C en extractos de mango y jitomate

Factor	Niveles
A: pH	~4 y 7.0
B: Tiempo	0, 1 y 2 h.

Tabla 19. Análisis de varianza de la población permeable y con bombas de flujo comprometidas de *S. enterica* durante calentamiento a 50 °C en extractos fruta

Extracto	Factor	Valor p <sup>1</sup>							
		Permeabilidad de membrana				Actividad de bombas flujo			
		<sup>2</sup> ST	MF	JF	JD	ST	MF	JF	JD
Mango	A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.47	0.00	0.02
	B	0.00	0.00	0.28	0.01	0.00	0.59	0.00	0.00
	AxB	0.00	0.06	0.07	0.06	0.00	0.00	0.01	0.00
Jitomate	A	0.00	0.00	0.00	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00
	B	0.05	0.00	0.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	AxB	0.02	0.08	0.02	0.00	0.02	0.21	0.00	0.39

<sup>1</sup>Valores de p ≤ 0.05 indican significancia estadística.

<sup>2</sup>ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595; MF: Cepa aislada de mango fresco; JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado.

8.7. Análisis de varianza de la reducción y velocidad de muerte de *S. enterica* durante la deshidratación a 50 °C de mango y jitomate con aire caliente

Factor	Niveles
A: Cepa	<sup>2</sup> ST, MF, JF y JD
B: Estrés	Control, <sup>3</sup> ET y EC.

Tabla 20. Análisis de varianza de la velocidad de muerte y las reducciones de *S. enterica* durante la deshidratación de los frutos a 50 °C

Fruto	Factor	Valor p <sup>1</sup>	
		Velocidad de muerte	Reducciones
Mango	A	0.00	0.00
	B	0.00	0.00
	AxB	0.33	0.05
Jitomate	A	0.78	0.04
	B:	0.82	0.01
	AxB	0.37	0.04

<sup>1</sup>Valores de p ≤ 0.05 indican significancia estadística.

<sup>2</sup>ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595; MF: Cepa aislada de mango fresco; JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado.

<sup>3</sup>Control: Sin tratamiento estresante previo; ET: 50 °C/ 1h a pH=7 y EC: 50 °C/ 1h a pH ~4.

8.8. Análisis de varianza de los parámetros del modelo de Weibull de *S. enterica* durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados.

Factor	Niveles
A: Cepa	<sup>2</sup> ST, cepa de fruto fresco (MF y JF)
B: Estrés	Control, <sup>3</sup> ET y EC.

Tabla 21. Análisis de varianza de los parámetros del modelo de Weibull de *S. enterica* durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados.

Fruto	Factor	Valor p <sup>1</sup>	
		$\delta$	t <sub>5</sub>
Mango	A	0.07	0.08
	B	0.00	0.06
	AxB	0.00	0.10
Jitomate	A	0.23	0.97
	B	0.02	0.00
	AxB	0.00	0.00

<sup>1</sup>Valores de p ≤ 0.05 indican significancia estadística.

<sup>2</sup>ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595; MF: Cepa aislada de mango fresco y JF: cepa aislada de jitomate fresco.

8.9. Interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento sobre la población estresada de *S. enterica* en los extractos frutales

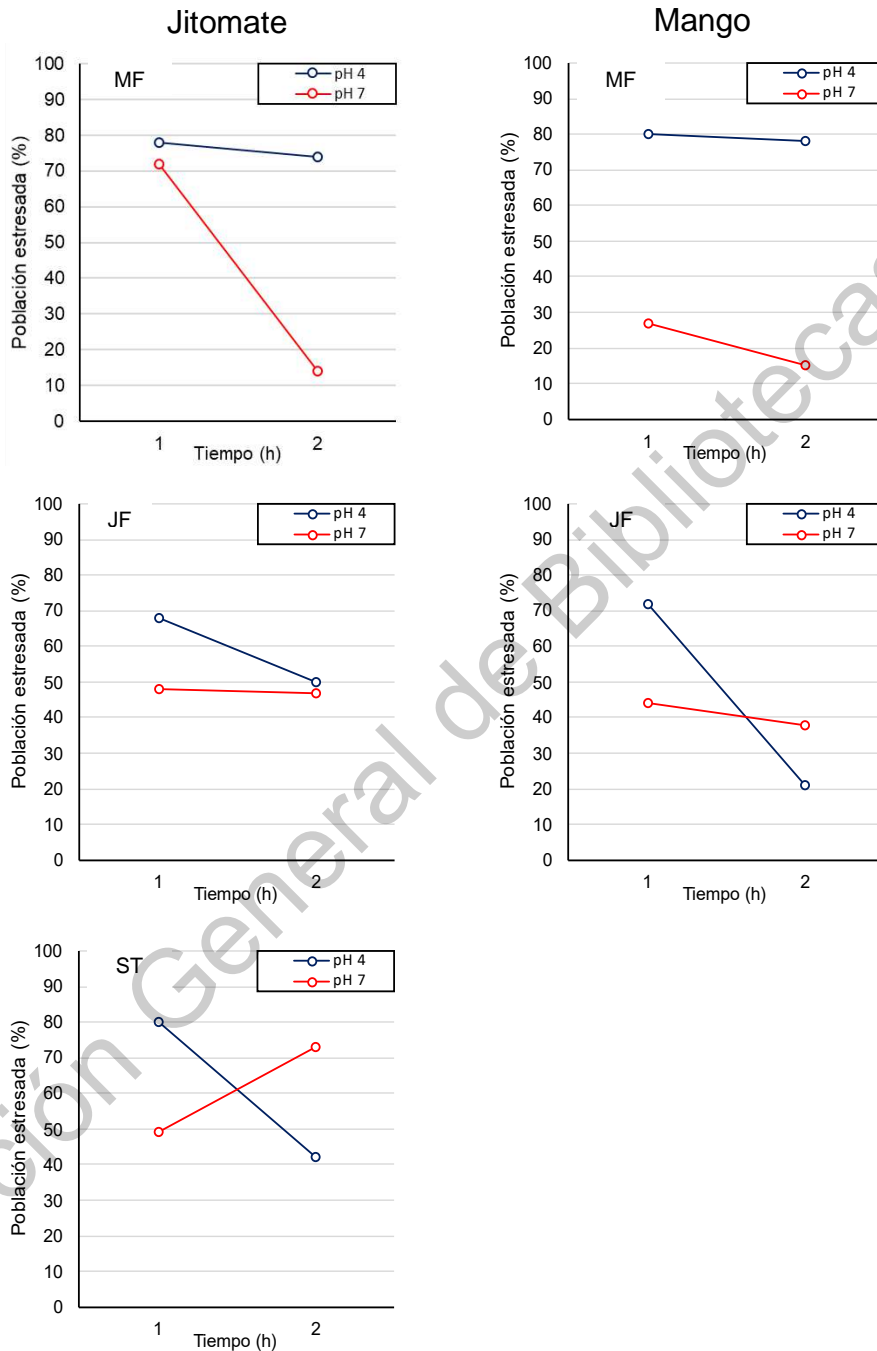


Figura 18. Gráficas de interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento de *S. enterica* en los extractos frutales.

ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco y JF: cepa aislada de jitomate fresco.

8.10. Interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento sobre la población con membrana permeable de *S. enterica* en los extractos frutales

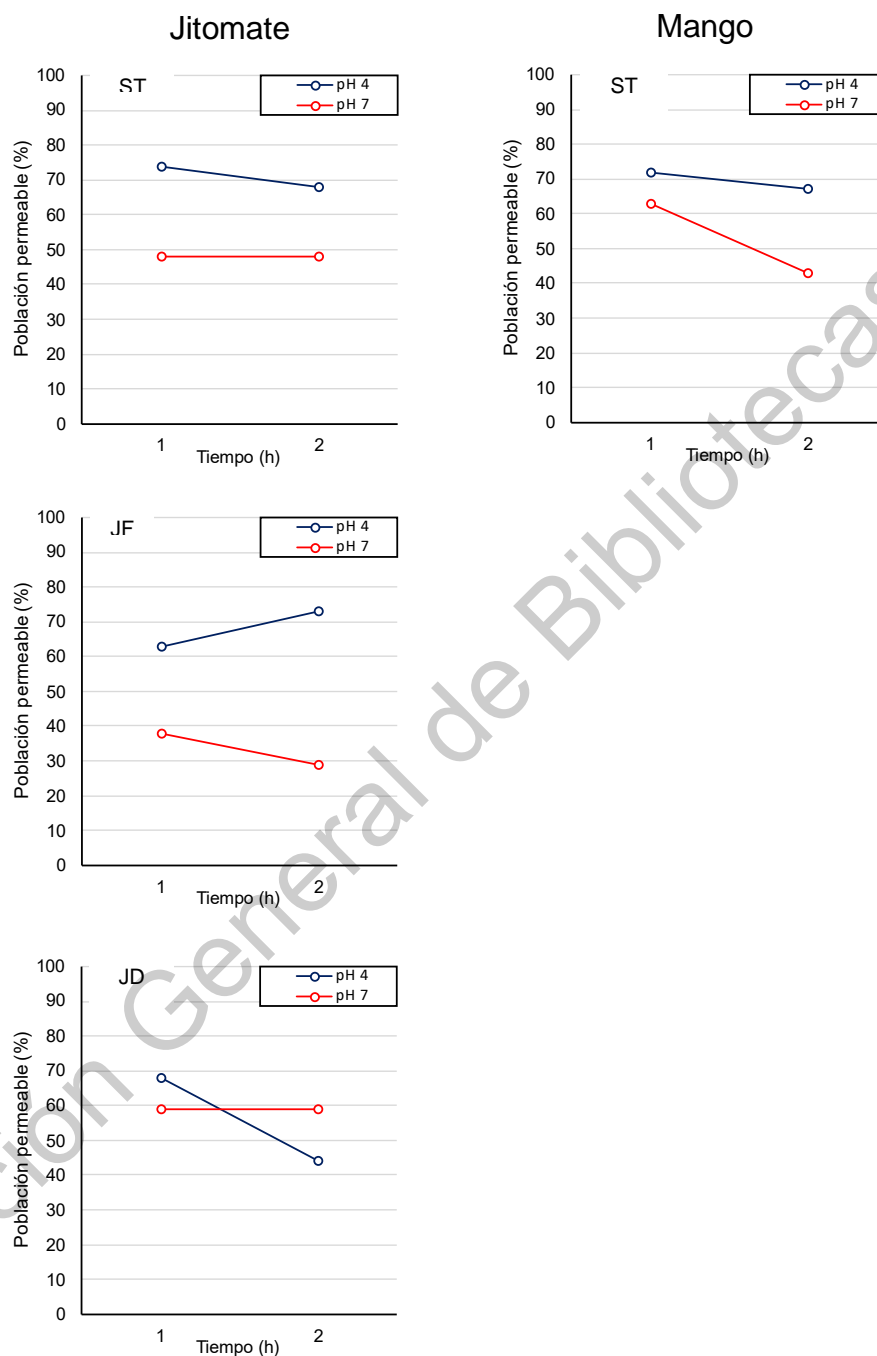


Figura 19. Gráficas de interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento de *S. enterica* sobre la permeabilidad de membrana en los extractos frutales.

ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado.

8.11. Interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento sobre la población con bombas debilitadas de *S. enterica* en los extractos frutales

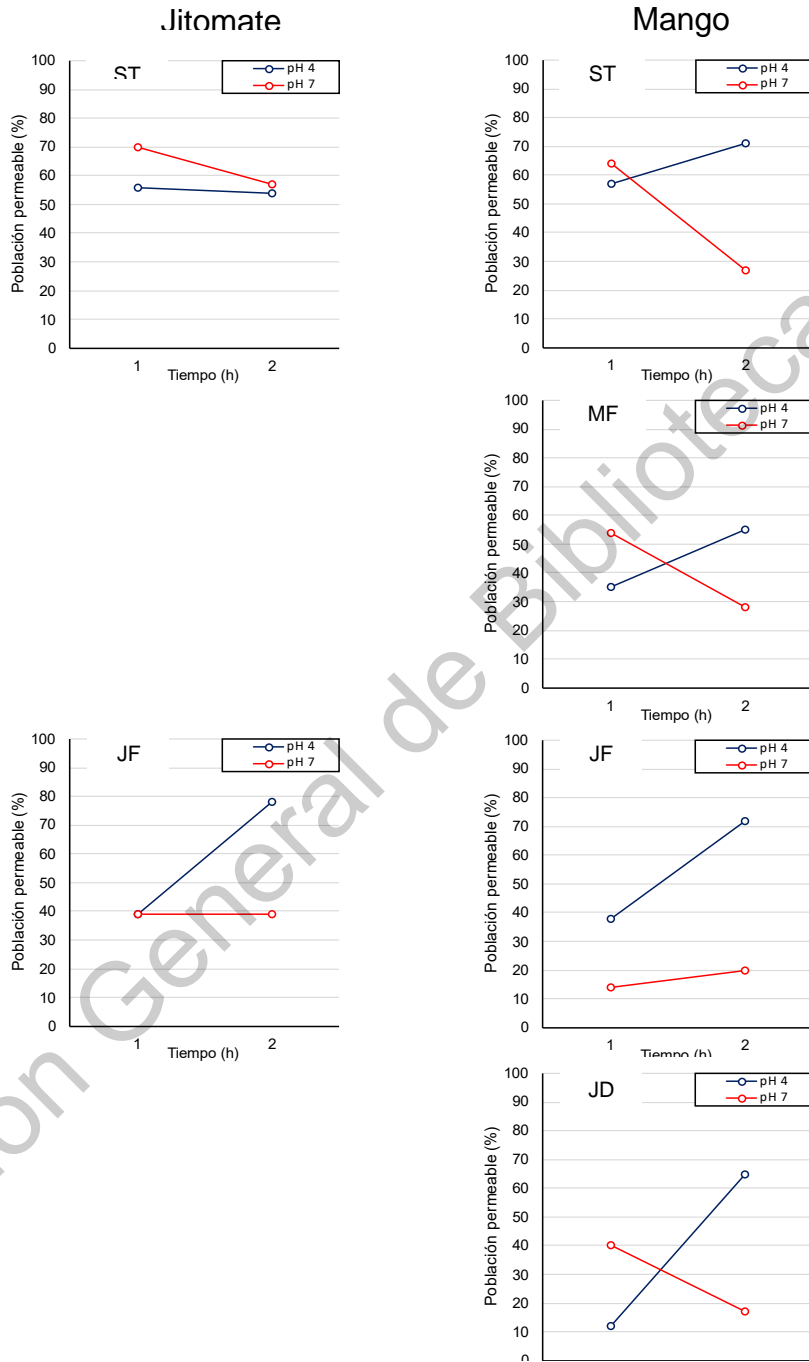


Figura 20. Gráficas de interacciones entre el pH y el tiempo de calentamiento de *S. enterica* sobre la población con bombas debilitadas en los extractos frutales. ST: *S. Typhimurium* ATCC 23595, MF: cepa aislada de mango fresco, JF: cepa aislada de jitomate fresco y JD: cepa aislada de jitomate deshidratado.



8.12. Interacciones entre la cepa y tipo de estrés sobre el valor  $\bar{\delta}$  de *S. enterica* durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados

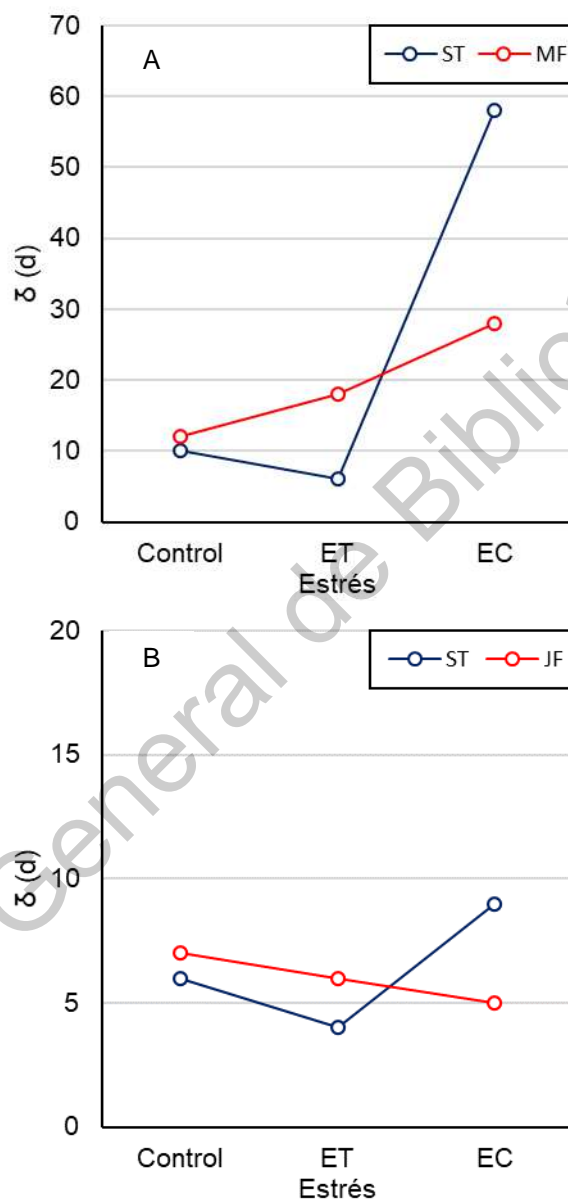


Figura 21. Gráficas de interacciones entre la cepa y tipo de estrés sobre el valor  $\bar{\delta}$  de *S. enterica* durante el almacenamiento a 25 °C de los frutos deshidratados.

A) Mango y B) Jitomate.

8.13. Mecanismo de tinción con yoduro de propidio y bromuro de etidio

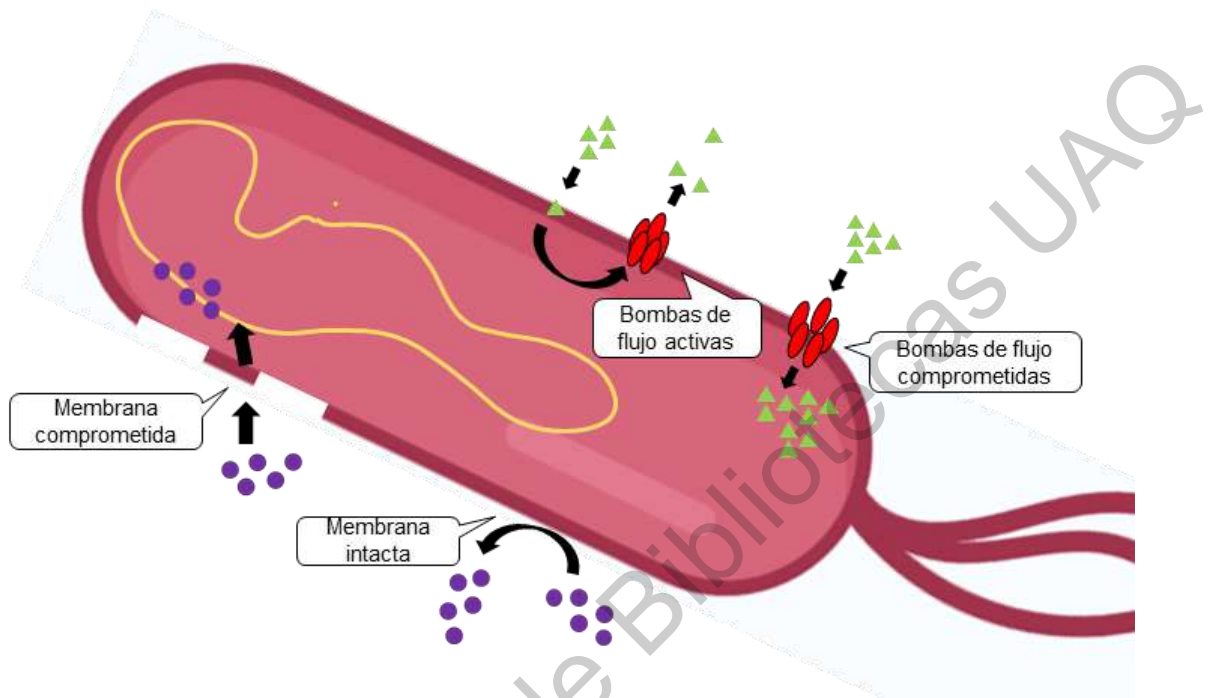


Figura 22. Esquema del mecanismo de acción sobre la membrana celular del yoduro de propidio (círculos) y el bromuro de etidio (triángulos).