

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

“COMPORTAMIENTO DE *Listeria monocytogenes* Y *Salmonella* spp.  
EN CHILE JALAPEÑO, CHILE PIMIENTO MORRÓN Y SALSA  
MEXICANA”

**TESIS INDIVIDUAL**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS**

PRESENTA

**JESICA CORTÉS DE LA PEÑA**

DIRIGIDA POR

**DRA. MONTSERRAT HERNÁNDEZ ITURRIAGA**

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2012.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

"COMPORTAMIENTO DE *Listeria monocytogenes* Y *Salmonella* spp.  
EN CHILE JALAPEÑO, CHILE PIMIENTO MORRÓN Y SALSA  
MEXICANA"

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO EN ALIMENTOS

PRESENTA

JESICA CORTÉS DE LA PEÑA

DIRIGIDA POR

DRA. MONTSERRAT HERNÁNDEZ ITURRIAGA

SINODALES

Dra. MONTSERRAT HERNÁNDEZ ITURRIAGA  
DIRECTOR

Dra. SOFÍA MARÍA ARVIZU MEDRANO  
SINODAL

M. en C. BEATRIZ ÁLVAREZ MAYORGA  
SINODAL

QFB. DULCE ESTHER ÁVILA VEGA  
SINODAL

Three handwritten signatures are written over three horizontal lines on the right side of the page, corresponding to the names of the sinodal members listed on the left.

## RESUMEN

Las frutas y hortalizas son susceptibles de contaminación con microorganismos patógenos durante su producción o procesamiento. En el año 2008 en Estados Unidos ocurrió un brote de salmonelosis asociado al consumo de chiles jalapeños procedentes de México. Escasa es la información respecto al comportamiento de microorganismos patógenos en este tipo de productos. En el presente trabajo se estudió el efecto de la temperatura sobre el comportamiento de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en chile jalapeño y chile pimiento morrón; además en un sistema de estudio como salsa mexicana en la cual el chile jalapeño es un ingrediente para su elaboración. Se inocularon por separado chiles jalapeños y pimiento morrón con mezclas de *L. monocytogenes* y *Salmonella* ( $\sim 1 \times 10^8$  UFC/chile) resistentes a rifampicina. Los chiles inoculados se secaron durante 50 min en campana de flujo laminar y se almacenaron a 10 y 22°C a una humedad relativa de 97%. Periódicamente se efectuó el recuento de los patógenos mediante la técnica de extensión por superficie en agar soya tripticasa suplementado con rifampicina (400 ppm). En chile jalapeño se mostró una clara tendencia de inactivación para ambos microorganismos. En el 3er día, independientemente de la temperatura de incubación la población de *L. monocytogenes* se redujo por debajo del límite de detección (10 UFC/chile). *Salmonella* presentó ligeramente una mayor resistencia ya que se inactivó al 6to día. En cuanto al chile pimiento morrón, para ambos patógenos, durante 14 días de almacenamiento en los cuales se mantuvieron las características organolépticas, a las dos temperaturas de almacenamiento se mantuvo una población de entre 4 y 6 UFC/chile.

Para el análisis en salsa mexicana, se inocularon los chiles jalapeños con la mezclas de cepas utilizadas anteriormente, bajo las mismas condiciones de análisis y almacenamiento realizadas con chile jalapeño y chile pimiento morrón. Los chiles jalapeños inoculados se picaron y se mezclaron con jitomate y cebolla, homogenizando todos los ingredientes. De igual forma se realizó periódicamente el recuento de patógenos dependiendo de la conservación de las características organolépticas en el alimento. A 22°C, *Salmonella* y *L. monocytogenes* presentaron una tendencia de sobrevivencia e incluso de desarrollo desde el primer día de almacenamiento; en cambio, a 10°C estos patógenos mostraron un comportamiento contrario que a 22°C, en donde se inactivaron completamente en el 4to día. En base a esto, el consumo de chile jalapeño y pimiento morrón pueden representar un riesgo a la salud del consumidor, ya que pueden ser vehículo *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp. al ser empleados como ingredientes en diversos alimentos o consumirse directamente.

## AGRADECIMIENTOS

- En primer lugar a Dios, por estar conmigo, darme la sabiduría y fuerza para lograr cada propósito por el cual estoy aquí. Gracias por que tus promesas las cumples. Tú eres el dador de todo y sin ti no podría obtener nada.
- A mi papá, por su apoyo incondicional y creer en mí. Por ser un gran ejemplo y siempre ofrecernos lo mejor en todos los aspectos.
- A mi madre, por ser mi mejor amiga, consejera y maestra. Por tu amor y cariño incondicional. Eres la mejor madre del mundo.
- A Humberto por su apoyo, amor y gran paciencia en todo momento. Agradezco a Dios por permitirme haberte conocido y ser parte de mi vida.
- A mis hermanas Evelyn y América, por estar conmigo y motivarme a seguir adelante. Gracias por darme amor y felicidad en todo momento.
- Mis hermosos sobrinos, Dana, Emiliano y el que está por venir, por permitirme disfrutarlos y darme grandes alegrías. A mí cuñado Coco por preocuparse por mí.
- Dra. Montserrat por permitirme trabajar en el laboratorio y enseñarme todas sus habilidades y sabiduría, pero sobre todo su calidad humana. A Dulce, Maestra Bety y Dra. Sofí por sus comentarios y ayuda en cada parte del proceso.
- A todos mis compañeros que se convirtieron en personas muy importantes en mi vida: Fer Mejía, Sra. Martha, Fer Rodríguez.

***Jehová es mi fortaleza y mi escudo;  
En él confió mi corazón, y fui ayudado,  
Por lo que se gozó mi corazón,  
Y con mi cántico le alabaré  
Salmos 28:7***

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1. Consumo de alimentos y enfermedad.	3
II.1.1. <i>Salmonella</i> .	3
II.1.2. <i>Listeria monocytogenes</i> .	3
II.2. Factores que afectan el comportamiento de <i>Salmonella</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos.	4
II.2.1. Temperatura	4
II.2.2. pH	4
II.3. Principales brotes relacionados con el consumo de frutas y hortalizas	5
II.3.1. Brotes de Salmonelosis y Listeriosis relacionados con el consumo de frutas y hortalizas.	7
II.4. <i>Capsicum</i>	9
II.4.1. Chile jalapeño	10
II.4.2. Chile pimiento morrón	10
II.4.3. Producción de chile en México	11
II.4.4. Exportación de chile en México	12
II.4.5. El chile en la cocina mexicana	12
II.4.6. Salsa mexicana	13
III. HIPÓTESIS	14
IV. OBJETIVOS	15

IV.1. General	15
IV.2. Específicos	15
V. METODOLOGÍA	16
V.1. Materiales	16
V.1.1. Equipo	16
V.1.2. Medios de Cultivo	16
V.1.3. Soluciones	17
V.1.4. Material biológico	17
V.2. Métodos	17
V.2.1. Activación de cepas de <i>Salmonella</i> y <i>L. monocytogenes</i> .	17
V.2.2. Preparación de inóculo.	18
V.2.3. Dinámica de <i>Salmonella</i> spp. y <i>L. monocytogenes</i> en chile jalapeño y chile pimiento morrón.	18
V.2.4. Dinámica de <i>Salmonella</i> spp. y <i>L. monocytogenes</i> en salsa mexicana.	19
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	22
VI.1. Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en chile jalapeño y chile pimiento morrón.	22
VI.2. Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en chile jalapeño y chile pimiento morrón.	27
VI.3. Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en salsa mexicana.	33
VI.4. Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en salsa mexicana.	35
VII. CONCLUSIONES.	40
VIII. BIBLIOGRAFÍA	41

## ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro		Página
1	Ejemplos de patógenos asociados con frutas y verduras que participan en brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.	6
2	Clasificación botánica de los chiles cultivados.	9
3	Formulación estándar de salsa.	20
4	Velocidad de muerte de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> spp. en chile pimiento morrón almacenados a 22 y 10°C	32
5	Velocidad de muerte de <i>L. monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> spp. en chile jalapeño almacenados a 22 y 10°C	32

## ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura		Página
1	Descripción gráfica del chile.	10
2	Principales estados productores de chile, incluyendo chile jalapeño, morrón, poblano y verde.	11
3	Exportaciones mexicanas, incluyendo todos los tipos de chiles.	12
4	Dinámica de <i>Salmonella</i> spp. y <i>L. monocytogenes</i> en chile jalapeño y chile pimienta morrón.	19
5	Dinámica de <i>Salmonella</i> spp. y <i>L. monocytogenes</i> en salsa mexicana.	21
6	Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en chile jalapeño durante su almacenamiento a 22°C.	23
7	Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en chile jalapeño durante su almacenamiento a 10°C.	24
8	Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en chile pimienta morrón durante su almacenamiento a 22°C.	25
9	Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en chile pimienta morrón durante su almacenamiento a 10°C.	25
10	Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en chile jalapeño durante su almacenamiento a 22°C.	28
11	Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en chile jalapeño durante su almacenamiento a 10°C.	29
12	Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en chile pimienta morrón durante su almacenamiento a 22°C.	30
13	Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en chile	31



	pimiento morrón durante su almacenamiento a 10°C.	
14	Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en salsa mexicana durante el almacenamiento a 22°C.	34
15	Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp. en salsa mexicana durante el almacenamiento a 10°C.	34
16	Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en salsa mexicana durante el almacenamiento a 22°C.	35
17	Comportamiento de <i>L. monocytogenes</i> en salsa mexicana durante el almacenamiento a 10°C.	36
18	Estructura química de Capsaicina.	37

## I. INTRODUCCIÓN.

Actualmente la población mundial muestra una tendencia generalizada hacia una alimentación más saludable basada en el consumo de alimentos naturales y mínimamente procesados. El énfasis en la salud ha contribuido a los cambios en los hábitos de alimentación y junto a factores que posibilitan la disponibilidad de una amplia gama de frutas y verduras (como son los avances en procesos y prácticas agronómicas, nuevas tecnologías en el procesamiento y conservación de alimentos, globalización de suministros y distribución internacional), son factores que han favorecido el incremento en el consumo per cápita de frutas y verduras crudas o mínimamente procesadas en las últimas décadas.

Al aumento en el consumo de frutas y verduras se ha asociado la creciente incidencia de brotes de enfermedad vinculados a su consumo. Los brotes asociados a la ingesta de frutas y verduras con agente etiológico identificado son predominantemente de origen bacteriano, primariamente *Salmonella*. Aunque pocos son los brotes de listeriosis asociados al consumo de frutas y verduras, *Listeria monocytogenes* ha sido aislada de este tipo de productos (Hedberg y col., 1999).

El chile es un producto de gran importancia en la comida mexicana. Su consumo se ha extendido hacia otros países como Estados Unidos. Desafortunadamente en el año 2008 se reportó un brote de salmonelosis asociado al consumo de chiles jalapeños de origen mexicano; se registraron 1407 personas afectadas, de las cuales 282 fueron hospitalizados y 2 de ellos murieron. El Centro para el Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, por su siglas en inglés) concluyó que el brote se derivó de la contaminación de chiles que fueron consumidos crudos al ser incorporados a otro tipo de alimentos como guacamole y salsa mexicana (CDC,2009). Este hecho sitúa al chile como un alimento de riesgo para la salud de los consumidores.

Escasa es la información respecto a la capacidad de sobrevivencia o desarrollo que tienen los microorganismos patógenos a humanos en chiles, fruto que es un ingrediente de suma importancia dentro de la cocina mexicana.

En este trabajo se evaluó el comportamiento de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en dos variedades de chile (jalapeño y pimiento morrón) y salsa mexicana cuyo ingrediente esencial es el chile.

## I. ANTECEDENTES.

### II.1. Consumo de alimentos y enfermedad.

Nadie ignora que una buena alimentación es fundamental para preservar y promover la salud. Desde un enfoque preventivo existen riesgos adicionales asociados al consumo de alimentos que pueden afectar el buen funcionamiento del organismo. Entre los agentes nocivos relacionados con el consumo de alimentos se encuentran los de origen microbiano, dentro de los cuales bacterias como *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* se destacan debido a los brotes relacionados con una gran diversidad de alimentos contaminados con estas bacterias (WHO, 2010).

#### II.1.1. *Salmonella*.

El género *Salmonella* es uno de los más extensamente estudiado entre los patógenos que pueden ser encontrados en los alimentos. Ello se debe a la frecuencia con la cual el germen participa en brotes y casos individuales de gastroenteritis, a su singular ecología y factores que la determinan.

*Salmonella* es un bacilo gran negativo de la familia Enterobacteriaceae, con diámetros de 0.7 a 1.5  $\mu\text{m}$ , longitudes de 2 a 5  $\mu\text{m}$ , así como flagelos que se proyectan en todas direcciones, aerobios o anaerobios facultativos, algunos móviles y fermentan la lactosa (Clark, 1987).

#### II.1.2. *Listeria monocytogenes*.

*Listeria monocytogenes* es un patógeno transmitido por alimentos. Puede ser fácilmente aislado a partir de muchas fuentes en el medio ambiente así como de una amplia variedad de peces, mamíferos y aves.

Es un bacilo corto o pequeño gram positivo, no esporulado, de 1.2 x 0.5  $\mu\text{m}$ , a veces calificado de cocoide y corineforme por mostrar diploformas dispuestas en V. Es distintivamente móvil en caldos incubados de 22 a 25°C; sin embargo a 37°C

no se expresa el gen que codifica para la flagelina y la bacteria no manifiesta movilidad (Downes y Ito, 2001).

## II.2. Factores que afectan el comportamiento de *Salmonella* y *Listeria monocytogenes* en los alimentos.

El crecimiento microbiano es un proceso autocatalítico: no habrá crecimiento sin la presencia de al menos una célula viable y la tasa de crecimiento aumentará de acuerdo con la cantidad de biomasa viable presente. Las bacterias requieren de ciertas condiciones para multiplicarse rápidamente, esta multiplicación rápida es la que causa problemas con relación a la inocuidad del alimento (Leyva y col., 2009).

El alimento y su carga microbiana, constituye un complejo ecosistema con un sinnúmero de microcosmos en los que puede evolucionar una intensa dinamicidad, o cierto estatismo, de acuerdo con algunos factores inherentes en el sistema (intrínsecos), o en el ambiente inmediato (extrínsecos). Por sí solo, eventualmente un factor específico llega a ser decisivo en el destino de los microorganismos presentes (Fernández, 2008). Entre los factores que influyen en el desarrollo de asociaciones microbianas en los alimentos, tenemos: actividad de agua, nutrientes disponibles, potencial de óxido reducción, pH y temperatura; estos últimos con una importancia destacable en la supervivencia y desarrollo de microorganismos en los alimentos (Leyva y col., 2009).

### II.2.1. Temperatura.

La óptima temperatura para el crecimiento de *Salmonella* se sitúa entre 35 y 37°C. La tasa de desarrollo empieza a declinar notoriamente al disminuir la temperatura por debajo de 20°C (Fernández, 2008).

*Listeria* generalmente se multiplica a temperaturas entre un rango de 1 a 45°C con una temperatura óptima de crecimiento de 30 a 37°C, consecuentemente este microorganismo es considerado un patógeno psicrótrofo (Downes y Ito, 2001).

### II.2.2. pH.

Los valores de pH para el desarrollo de *Salmonella* son de 3.8 como mínimo, 7.0 óptimo y 9.0 máximo según la IAMFES (Fernández, 2008).

*Listeria* puede crecer en un rango de pH entre 4.4 y 9.6 (pH óptimo de crecimiento es 7), este microorganismo es ácido tolerante y puede sobrevivir en alimentos ácidos por días e incluso semanas (Downes y Ito, 2001).

### II.3. Principales brotes relacionados con el consumo de frutas y hortalizas.

El origen, condiciones ambientales y de cultivo, características físicas y estructurales, y composición química de las frutas y hortalizas, son determinantes de su contenido cualitativo y cuantitativo de microorganismos. Algunos de ellos poseen capacidad patógena para el hombre y animales. Durante su desarrollo en el campo se mantiene expuestos a la contaminación directa por la tierra y el agua; la fauna y los humanos también tienen participación. Las frutas suelen estar protegidas por una cubierta externa que les preserva del ingreso de microorganismos; como en las verduras, no suelen contenerlos en su interior y su presencia se limita a partes externas. Se dispone de registros de brotes de enfermedades por bacterias, parásitos y virus asociados al consumo de frutas y hortalizas (Fernández, 2008).

Entre las bacterias patógenas que han sido asociadas con el consumo de hortalizas frescas se pueden mencionar *Escherichia coli* enterotoxigénica, *Escherichia coli* enterohemorrágica, especies de *Shigella*, *Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter*, *Clostridium* y *Staphylococcus*, entre otras (Quiroz, 2002).

Los brotes de enfermedades recientes producidos por el consumo de frutas y hortalizas frescas contaminadas por microorganismos patógenos, demuestran la vulnerabilidad de estos productos. Dos brotes extensos de hepatitis A han sido relacionados con el consumo de lechuga y fresa contaminadas con el virus. Estos productos habían sido importados a los Estados Unidos (Rosenblum y col., 1990). Un brote de gastroenteritis causado por *Escherichia coli* O157:H7 fue asociado con

el consumo de melón contaminado con la bacteria (Beuchat y Doyle, 1995). *Salmonella* y *Escherichia coli* han sido relacionados como los causantes de enfermedades por el consumo de mangos, lechuga y melón chino (Fernández, 2008).

Efectivamente, los estudios epidemiológicos demuestran el papel destacado de las frutas y hortalizas como vehículos de patógenos en brotes de enfermedades, en el Cuadro 1 se presentan algunos brotes de enfermedad microbiana asociados al consumo de frutas y hortalizas.

Cuadro 1. Ejemplos de patógenos asociados con frutas y verduras que participan en brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos (Beuchat, 1998).

Agente	Alimento implicado	Referencia
<i>Bacillus cereus</i>	Col	Portnoy <i>et al.</i> (1976)
<i>Campylobacter</i>	Pepino	Kirk <i>et al.</i> (1997)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Lechuga	CDC (1998)
<i>Clostridium botulinum</i>	Ensalada de vegetales	PHLS (1978)
<i>Cryptosporidium</i>	Sidra de manzana	CDR (1991)
<i>Cyclospora</i>	Frambuesa	Herwaldt <i>et al.</i> (1997)
<i>Escherichia coli</i> O157	Rábano	WHO (1996)
<i>Escherichia coli</i> O157	Lechuga	CDR (1997)
<i>Giardia</i>	Vegetales incluyendo zanahorias	Mints <i>et al.</i> (1989)
Hepatitis A virus	Lechuga	Rosenblum <i>et al.</i> (1990)
Hepatitis A virus	Fresa	Niu <i>et al.</i> (1992)
Norwalk virus	Ensalada mixta	Lieb <i>et al.</i> (1985)
<i>Salmonella</i> Agona	Ensalada de repollo y cebolla	Clark <i>et al.</i> (1973)
<i>Salmonella</i> Miami	Sandía	Gayler <i>et al.</i> (1955)
<i>Salmonella</i> Poona	Melón	CDC (1991)
<i>Salmonella</i> Saint-Paul	Semillas germinadas	O'Mahony <i>et al.</i> (1990)
<i>Salmonella</i> Stanley	Alfalfa	Mahon <i>et al.</i> (1997)

<i>Salmonella</i> Thompson	Hortalizas de raíz y algas secas	Kano <i>et al.</i> (1996)
<i>Shigella flexneri</i>	Ensalada	Dunn <i>et al.</i> (1995)
<i>Shigella sonnei</i>	Lechuga	Kapperud <i>et al.</i> (1995)
<i>Vibrio cholerae</i>	Verduras y ensalada	Shuval <i>et al.</i> (1989)

### II.3.1. Brotes de salmonelosis y listeriosis relacionados con el consumo de frutas y hortalizas.

Cada año, aproximadamente 40,000 casos de salmonelosis son reportados al CDC. Estas cifras no reflejan la magnitud del problema, ya que muchos casos de salmonelosis no se reportan (Rabsch y col., 2001). *Salmonella* es uno de los patógenos más frecuentemente aislado de frutas y hortalizas frescas. Dentro de la categoría de productos que han causado brotes de salmonelosis, las ensaladas tienden a ser las más implicadas como se muestra a continuación (CSPI, 2005):

- a) Ensaladas (24%)
- b) Residuos de comida (18%)
- c) Lechuga (8%)
- d) Papa (5%)
- e) Melón (5%)
- f) Bayas (3%)
- g) Hongos (3%)
- h) Col (3%)
- i) Verduras enlatadas en casa (3%)
- j) Otros vegetales (16%)
- k) Otras frutas (10%)

Un brote debido al consumo de jitomate causado por *S. Javiana*, ocurrió en 1990, y los casos se identificaron en Minnesota, Illinois, Michigan y Wisconsin. El segundo brote, causado por *S. Montevideo*, se produjo en 1993 y participaron los estados antes mencionados (Hedberg y col., 1999). Otro alimento implicado son los



melones Cantaloupe procedentes de México ya que de acuerdo a un análisis realizado por FDA se presentó un brote por *S. Saphra* en 1997; además se presentaron tres brotes por *S. Poona* durante tres años sucesivos: 2000, 2001 y 2002 (Solomon y col., 2006). Otros brotes de salmonelosis se han relacionado con jugo de naranja sin pasteurizar, soya, jugo de manzana sin pasteurizar y alfalfa solo por mencionar algunos (Lapidot y col., 2006).

En Julio de 2008 en E.U.A. se presenta un brote de salmonelosis en 43 de estados. El mayor número de casos notificados se han producido en Texas, Nuevo México y Arizona. Además, 5 casos se reportaron en residentes de Canadá los cuales parecen haber sido infectados después de viajar a los Estados Unidos. Basado en un estudio, la FDA y el CDC se encontró que más del 80 por ciento de los sujetos infectados recordaron haber consumido alimentos que contienen tomates (CDC, 2009). A finales de julio la FDA agregó más sospechosos del brote ocurrido: chiles serranos, cilantro, cebolla y chiles jalapeños.

El 21 de Julio de 2008, la FDA publicó un aviso de que la cepa de *S. Saintpaul* fue encontrada en una muestra de chile jalapeño de McAllen, Texas. La muestra contaminada era procedente de México, cuya carga fue distribuida a comienzos de Junio en Texas y Georgia (FDA, 2009).

*L. monocytogenes* existe en la naturaleza como un saprófito, creciendo descomposición de materiales vegetales, por lo que su presencia en frutas y verduras crudas no es raro (Beuchat, 1998). En Canadá se dio un brote asociado al consumo de ensalada de col, afectando a 7 adultos y 34 niños recién nacidos y mujeres embarazadas, entre el 1 de marzo y 1 de septiembre de 1981 (Rosii y col., 2008). Además se ha observado que *L. monocytogenes* puede crecer en alimentos almacenados a temperatura de refrigeración, ya que se detectó crecimiento en espárragos, brócoli, calabaza, ensalada de repollo y coliflor y nabo almacenados a 4°C (Harris y col., 2003).

Otros productos relacionados con brotes de listeriosis son pepinos, papas, lechuga y rábanos (Pingulkar y col., 2001).

#### II.4. *Capsicum*.

Las especies del género *Capsicum* son aditivos muy populares en muchas partes del mundo, debido a sus atributos sensoriales de color, aroma y sabor picante (Contreras, 1997).

El chile es una planta clasificada dentro de la familia de las solanáceas, del que se conocen las siguientes especies cultivadas: *annuum*, *frutescens*, *chinense*, *baccatum* y *pubescens*. En el Cuadro 2 se muestra la clasificación botánica del chile.

Cuadro 2. Clasificación botánica de los chiles cultivados (Mata y col., 1987).

<b>División</b>	Espermaphyta
<b>Subdivisión</b>	Angiospermae
<b>Clase</b>	Tubiflorae
<b>Familia</b>	Solanaeae
<b>Género</b>	<i>Capsicum</i>
<b>Especie</b>	<i>Frutescens</i> , <i>chinense</i> , <i>baccatum</i> , <i>pubescens</i> y <i>annuum</i>

El chile es una planta anual en el cultivo de zonas templadas y perenne en las regiones tropicales. Tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro; la altura promedio de la planta es de 60 cm, pero varía según el tipo y especie de la que se trate. El fruto como se observa en la Figura 1, es una baya cónica, oblonga o alargada, de tamaño y coloración variable, comúnmente roja, amarilla o verde, provista de numerosas semillas suberiformes, comprimidas y endospermicas (Quintanar, 1995).

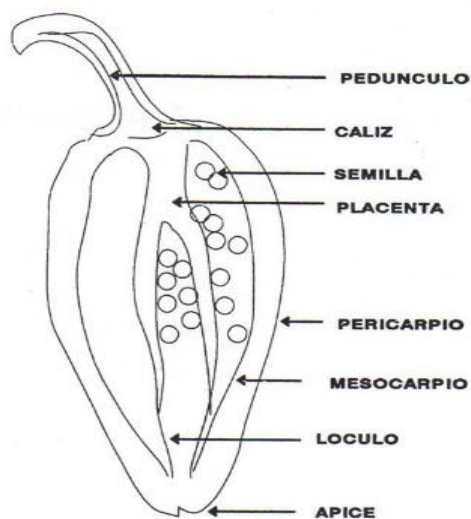


Figura 1. Descripción gráfica del chile.

#### II.4.1. Chile jalapeño.

Es el chile más industrializado para lo cual es enlatado y consumido en gran escala. Tiene una longitud promedio de 5 cm. Es un fruto cónico o alargado, de forma cilíndrica o cuerpos marcados de acuerdo al número de lóculos (3 ó 4 lóculos). De cuerpo liso o con corchosisad intermedia ( $\pm 30\%$ ); es de pericarpio grueso y carnoso de 0,4 a 0,6 cm. de espesor (NMX-FF-025-SCFI-2007).

#### II.4.2. Chile pimiento morrón.

El pimiento cuyo nombre botánico es *Capsicum annum*, pertenece a la familia de las solanáceas, a la cual también pertenecen la papa, el tomate, la berenjena y el tabaco. Es una planta originaria del continente Americano. Fue introducida a Europa primeramente por Cristóbal Colón y después con más intensidad por los conquistadores españoles del siglo XVI (Milla, 2006).

El pimiento es una planta anual bajo cultivo, perene en estado silvestre. Sus tallos son erectos, ramificados, semileñosos, de una altura de 50 a 90 centímetros. Tiene hojas lanceoladas, o un poco anchas, terminadas en punta que se van adelgazando en la base para formar un peciolo más o menos alargado. Sus flores son blancas, solitarias, localizadas en la inserción de las hojas y que forman frutos

de formas variadas, de pared un poco carnosa, primeramente verdes, volviéndose rojos, amarillos o violeta oscuro al madurar, y que contienen semillas blancas, aplanadas, de una duración germinativa de 4 años (Milla, 2006).

#### II.4.3. Producción de chile en México.

Anualmente en el país, se siembran alrededor de 40 mil hectáreas, con un rendimiento promedio de 12 toneladas por hectárea y un volumen de producción de 600 mil toneladas.

Una de las regiones productoras de chile más importantes del país, es la de Delicias, Chih., ya que la superficie sembrada promedio, en los últimos tres años, han sido 8,250 hectáreas, con una producción de 166 mil toneladas que representan el 38 por ciento del total nacional (INIFAP, 2010).

En la Figura 2 se muestra los principales estados productores de chile en México.

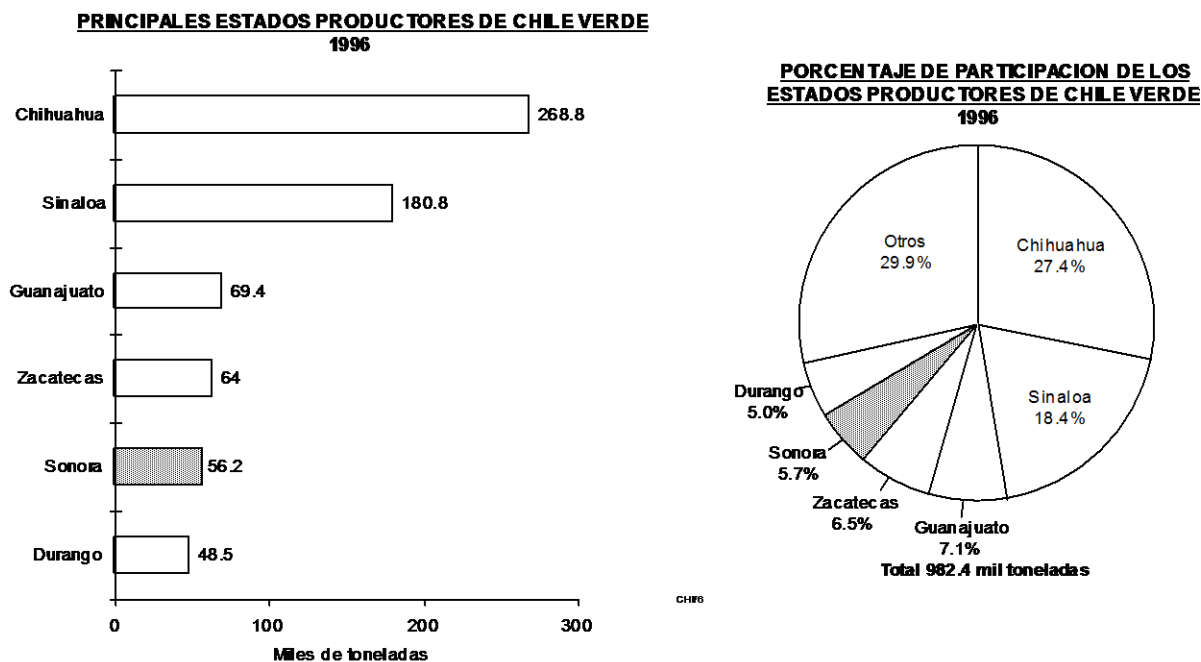


Figura 2. Principales estados productores de chile, incluye chile jalapeño, morrón, poblano y verde. Fuente Centro de Estadística Agropecuario, SAGAR, 1998.

#### II.4.4. Exportación de chile en México.

Los principales estados exportadores de chile jalapeño son: Sinaloa con una participación del total exportable, Chihuahua con el 22.5 por ciento, Sonora con el 14.1 por ciento, Veracruz con el 8.6 por ciento y Tamaulipas con el 2.5 por ciento (SAGAR, 1998).

Las exportaciones mexicanas de chile tienen una fuerte tendencia de crecimiento, siendo los Estados Unidos de Norteamérica el principal mercado, como se observa en la Figura 3.

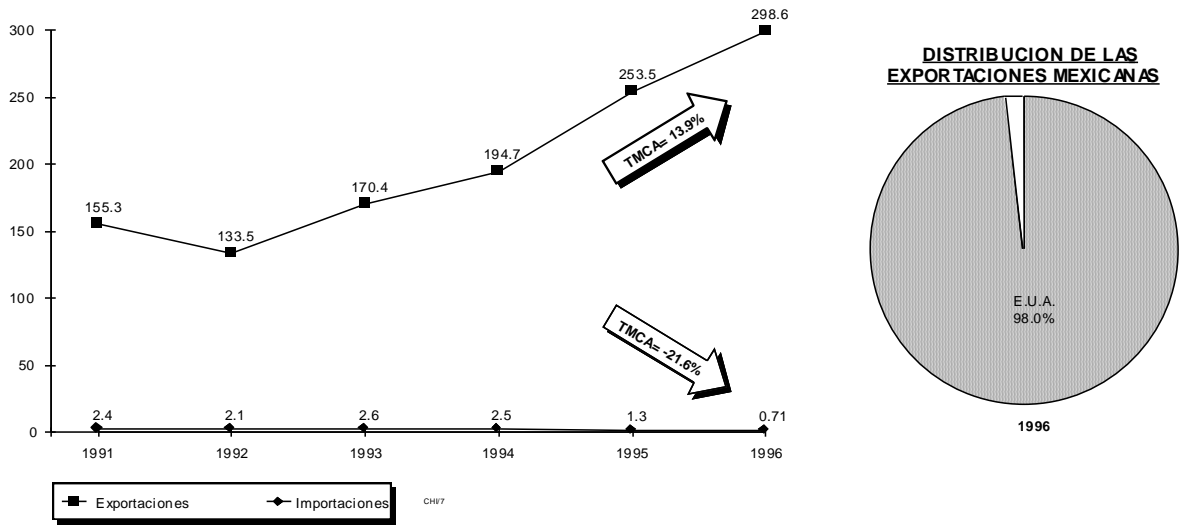


Figura 3. Exportaciones mexicanas de todos los tipos de chiles. Fuente: FAO, 1998; Agronegocios, 1997.

#### II.4.5. El chile en la cocina mexicana.

La cocina mexicana ha ganado un buen terreno en lo que a las papilas gustativas y los jugos gástricos se refiere. Sus delicias han cruzado las fronteras y el aporte nutritivo de sus ingredientes a la alimentación en el mundo, resulta ahora significativo (Sierra, 1999). Los principales ingredientes para la elaboración de estos alimentos en México son el maíz, frijol, arroz, chile, etc., con los cuales se logran preparar una gran diversidad de recetas como guisos y salsas; pero un mal manejo de ingredientes y preparación en cualquier tipo de alimento puede repercutir en un daño severo a la salud.

#### II.4.6. Salsa Mexicana.

En México recibe el nombre de pico de gallo a una variedad de salsas regionales, que incluyen frutas y verduras frescas cortadas en cuadritos. Esta salsa es un acompañamiento habitual en muchos platillos mexicanos. La variedad más común de esta salsa es una mezcla de tomate, cebolla y chiles verdes picados. Al igual que muchos alimentos al existir una disponibilidad de nutrientes, bacterias como *Salmonella* y *L. monocytogenes* pueden tener la capacidad de sobrevivir e incluso desarrollar en condiciones de temperatura ideales.

## II. HIPÓTESIS.

*L. monocytogenes* y *Salmonella* spp. sobreviven e incluso se multiplican en chile jalapeño y pimiento morrón. El riesgo de enfermar del consumidor se incrementa al emplear chiles contaminados en la preparación de otros alimentos como salsa mexicana, donde la actividad de agua y disponibilidad de nutrientes es mayor y por lo tanto la capacidad de multiplicación de los microorganismos patógenos aumenta.

### III. OBJETIVOS.

#### IV. 1 General.

Conocer el comportamiento de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en dos variedades de chile (jalapeño y pimiento morrón) y salsa mexicana cuyo ingrediente esencial es el chile.

#### IV. 2 Específicos.

- Evaluar el efecto de la temperatura en el comportamiento de *Salmonella* y *L. monocytogenes* en la superficie de chile jalapeño.
- Evaluar el efecto de la temperatura en el comportamiento de *Salmonella* y *L. monocytogenes* en la superficie de chile pimiento morrón.
- Evaluar la capacidad de *Salmonella* y *L. monocytogenes* para multiplicarse en salsa mexicana almacenada a 22 y 10°C.



## IV. METODOLOGÍA.

### V.1. Materiales.

#### V.1.1. Equipo.

Olla de esterilización (Allamerican).

Balanza analítica digital, capacidad 600 g, modelo APX-602 (Denver Instrument).

Campana de flujo laminar (Alder y Veco®).

Centrífuga de mesa (Becton Dickinson & Co).

Cuenta colonias de campo oscuro (Québec-Reichert-Jung®).

Homogenizador mecánico (BagMixer®, Interscience).

Incubadora de 35°C (Felisa modelo 132AD, Thermo Scientific).

Incubadora de 10°C (Precision, Thermo Scientific).

Micropipetas 5-1000 µL (Accumax Pro, Thermo Scientific).

Potenciómetro (Orion modelo 410A).

Vortex (Daigger Vortex Genie 2®, modelo 776, Scientific Industries Inc).

Cronómetro comercial.

Higrómetros (i-button).

#### V.1.2. Medios de cultivo.

Agar hierro-lisina (Bioxon).

Agar hierro y triple azúcar (Bioxon).

Agar soya tripticasa (Bioxon).

Agar sulfito bismuto (Bioxon).

Agar verde brillante (Bioxon).

Caldo soya tripticasa (Bioxon).

Medio SIM (Bioxon).

Peptona de caseína al 0,1% (Bioxon).

### V.1.3. Soluciones.

Rifampicina 10 mg/ml en metanol (Rifadin<sup>®</sup> cápsulas de 300 mg, laboratorios Aventis Pharma).

Pimaricina 10 mg/ml.

Solución salina isotónica al 0,85% (J.T.Baker).

NaOH al 20% (J.T.Baker).

HCl al 5% (J.T.Baker).

### V.1.4. Material biológico.

#### V.1.4.1. Cepas

Se utilizó una mezcla de 4 cepas de *Salmonella* y una mezcla de 5 cepas de *L. monocytogenes*, todas con resistencia a rifampicina; obtenidas del Laboratorio de Microbiología e Inocuidad de los Alimentos de la Universidad Autónoma de Querétaro. Las cepas se mantuvieron en refrigeración.

#### V.1.4.2. Chiles.

En el caso del chile pimiento morrón se recolectaron las muestras de la empresa productora y exportadora de este alimento ubicada en Colón, Querétaro, México. Para el análisis en chile jalapeño, las muestras se obtuvieron de mercados y supermercados locales. Cada uno de ellos se lavó con una solución de jabón y cloro, se secaron con una toalla de papel.

## V.2. Métodos.

### V.2.1. Activación de cepas de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes*.

En tubos con 3 ml de caldo soya tripticasa se inocularon 30  $\mu$ L de cada cepa, incubándolos por 24 h a 35°C. Al fin de la incubación se tomaron 30  $\mu$ L de caldos y se realizó un pase a tubos con 3 ml de caldo soya tripticasa incubando por 18 h a 35°C hasta obtener aproximadamente  $10^9$  células/ml.

#### V.2.2. Preparación del inóculo.

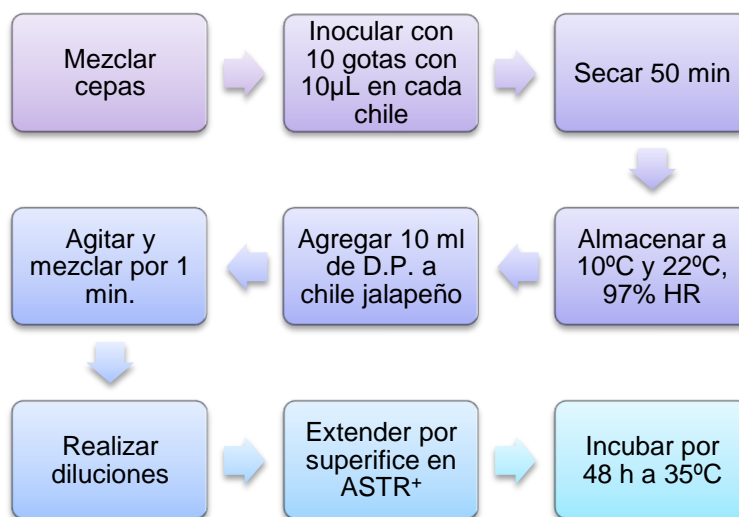
Se tomó una alícuota de 1 ml de cada una de las cepas activadas, se centrifugaron por separado 10 min a 300 rpm. Se decantó el líquido sobrenadante y se realizó el lavado de los paquetes celulares con solución salina isotónica al 0.85%, se homogenizaron y se centrifugaron nuevamente por 10 min a 300 rpm. El sobrenadante se decantó y posteriormente se resuspendió en 1 ml de agua estéril, homogenizando. Finalmente, se mezclaron volúmenes iguales de cada cepa y se procedió a realizar diluciones decimales. El recuento del inóculo se realizó en agar soya tripticasa suplementado con rifampicina a 200 ppm utilizando la técnica de extensión por superficie; las placas se incubaron a 35°C por 48 h.

#### V.2.3. Dinámica de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en chile jalapeño y chile pimienta morrón (Figura 4).

Se inoculó la superficie de los chiles con 10 gotas (10 $\mu$ L) de la mezcla de cepas de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes*; los chile inoculados se dejaron secar por 50 min en la campana de flujo laminar. Después del secado se colocaron en recipientes de plástico ajustados a una humedad relativa del 97%. Se incubaron a 22 y 10°C.

El recuento de células se realizó en intervalos de 3, 7, 24, 31, 48, 72, 96, 120, 144 y 160 horas, dependiendo de los resultados y conservación de las características organolépticas, se continuaba con el análisis. Para cada uno de los tiempos, los chiles se pasaron a una bolsa de polietileno con 10 ml de diluyente de peptona al 0.1% y se frotaron durante 1 min. Se procedió a realizar las diluciones decimales y el recuento de las células empleando la técnica de extensión por superficie en placas con agar soya triptica suplementado con rifampicina (200 ppm). Las placas se incubaron por 48 h a 35°C.

Figura 4. Dinámica de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en chile jalapeño y chile pimienta morrón



V.2.3. Dinámica de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en salsa mexicana (Figura 5).

Se sumergieron los chiles jalapeños en una solución que contiene ~1000 células/ml de la mezcla de cepas de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* (por separado) y se dejaron secar por 30 min. En una superficie plana cubierta con aluminio se procedió a picar los chiles, los

cuales se mezclaron con jitomate y cebolla picados en un recipiente de plástico. Las proporciones de cada ingrediente se tomaron de acuerdo a la formulación estándar de salsa que se muestra en el Cuadro 3 (Schmitt, 2003):

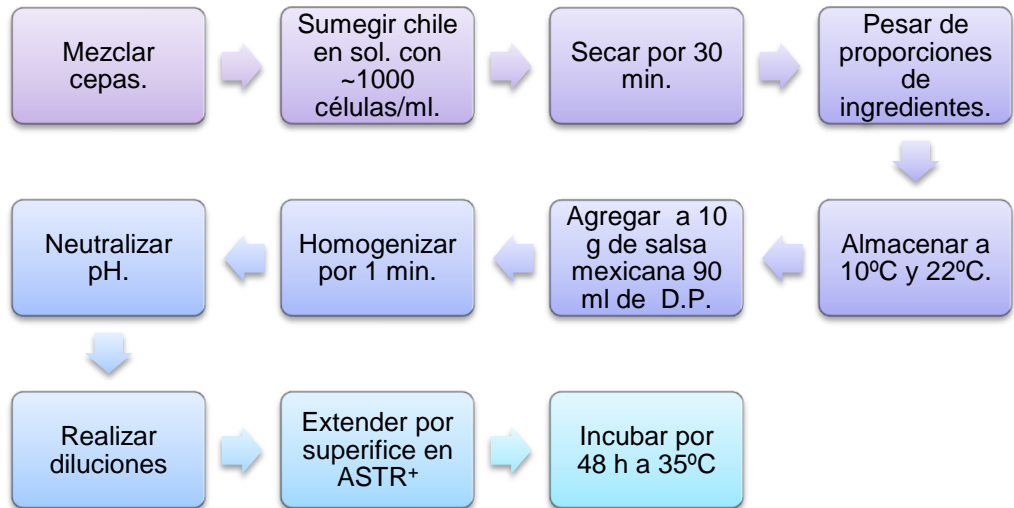
Cuadro 3. Formulación estándar de salsa mexicana.

<b>Ingrediente</b>	<b>Porcentaje</b>
Tomate	75.00%
Cebolla	8.00%
Chile	4.35%
Otros ingredientes <sup>1</sup>	12.65%

<sup>1</sup>: No se incluyen en la formulación usada en el experimento.

Los recipientes con la salsa mexicana se almacenaron a 22 y 10°C. El recuento de células se realizó durante 3 días a 22°C y 5 días a 10°C. Periódicamente se pesaron 10 g de salsa en bolsas de polietileno, se agregaron 90 ml de diluyente de peptona al 0.1% y se colocaron en el homogenizador mecánico durante 1 min; al final de la homogenización se neutralizó el pH utilizando soluciones de NaOH y HCl (20 y 5%, respectivamente). Se procedió a realizar las diluciones decimales para efectuar el recuento de los sobrevivientes utilizando la técnica de extensión por superficie en placas con agar soya tripticasa suplementado con rifampicina (200 ppm). Las placas se incubaron por 48 h a 35°C.

Figura 5. Dinámica de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* en salsa mexicana.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### VI.1. Comportamiento de *Salmonella* spp. en chile jalapeño y chile pimiento morrón.

La producción, comercialización y consumo de frutas y hortalizas en el mundo son cada día mayores y representan un soporte muy significativo para las economías agrícolas y el mejoramiento de la salida de los consumidores de todo el mundo (Yáñez, 2002).

Dado que la información respecto al comportamiento de microorganismos patógenos al hombre como *Salmonella* y *L. monocytogenes* en Chile es escasa, se realizó el presente estudio para observar y explicar el comportamiento de estas dos bacterias bajo condiciones de temperatura que comúnmente el ama de casa utiliza para el almacenamiento y conservación de los alimentos (temperatura ambiente: 22°C, y temperatura de refrigeración: 10°C).

Las gráficas obtenidas para el comportamiento de *Salmonella* en Chile jalapeño durante el almacenamiento a 22 y 10°C se muestran en las Figuras 6 y 7.

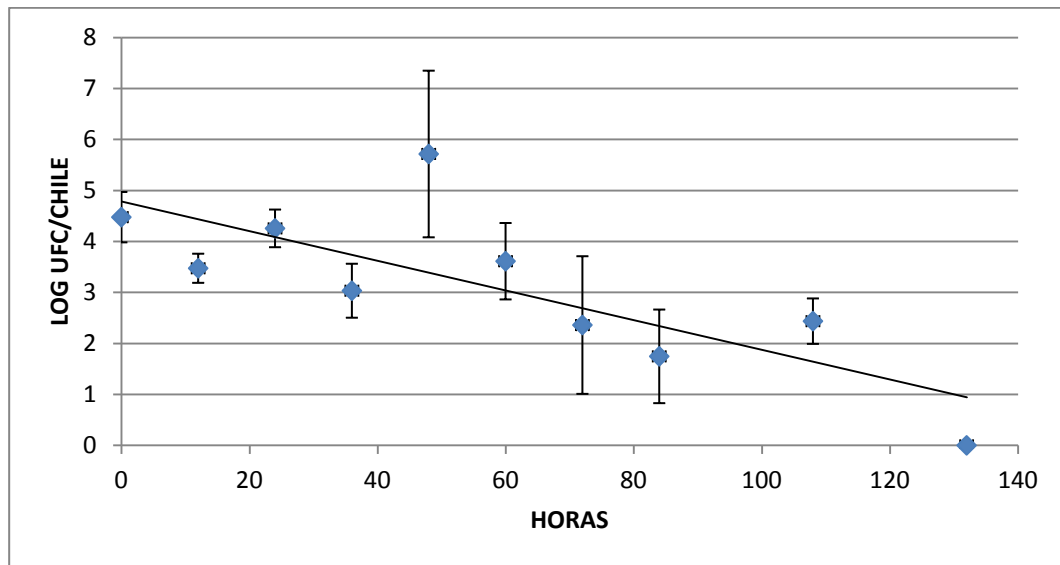


Figura 6. Comportamiento de *Salmonella* spp. en chile jalapeño durante el almacenamiento a 22°C.

De manera general a 22°C el comportamiento de *Salmonella* muestra una tendencia a la inactivación (Figura 6). Se observa además un comportamiento muy variable manteniéndose la población entre 4 a 5 log hasta el 5to día y llegando a su completa inactivación al 6to día.

En cuanto a la actividad de *Salmonella* a 10°C, se observa un comportamiento similar a los resultados obtenidos a 22°C, en donde el microorganismo se inactivó aproximadamente a las 100 h y no se presentó una curva con etapas de resistencia e incluso desarrollo como ocurre a 22°C.



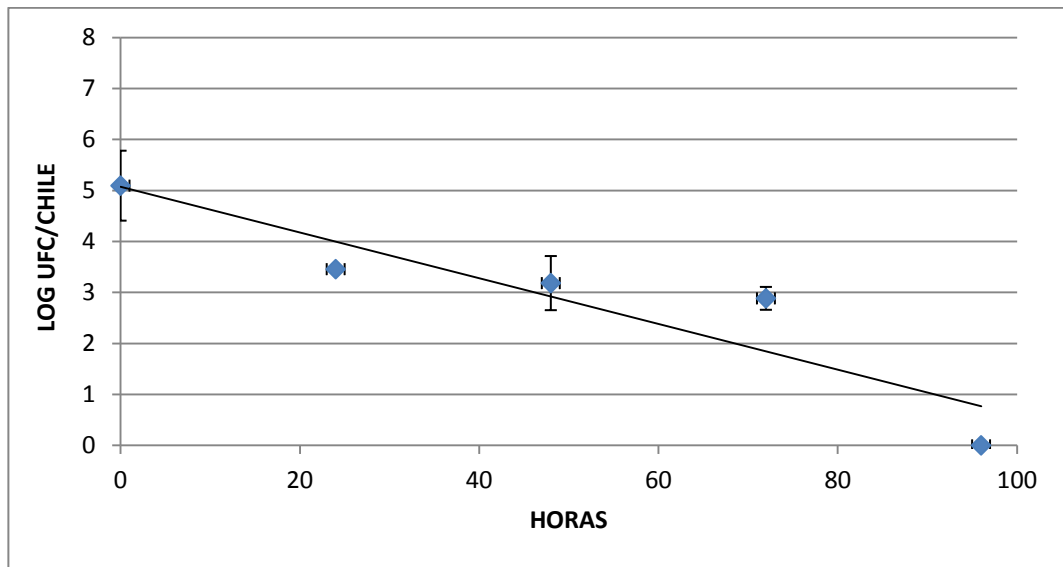


Figura 7. Comportamiento de *Salmonella* spp. en chile jalapeño durante el almacenamiento a 10°C.

Los resultados que obtuvimos muestran que un factor importante para el desarrollo y sobrevivencia de *Salmonella* es la temperatura, ya que esta bacteria declina su desarrollo notablemente por debajo de los 10°C (Fernández, 2008)

En el caso del chile pimiento morrón, a 22°C *Salmonella* mostró una capacidad de sobrevivencia aún después de 14 días de análisis, en los cuales el chile aún mantiene sus propiedades organolépticas aceptables por el consumidor (Figura 8).

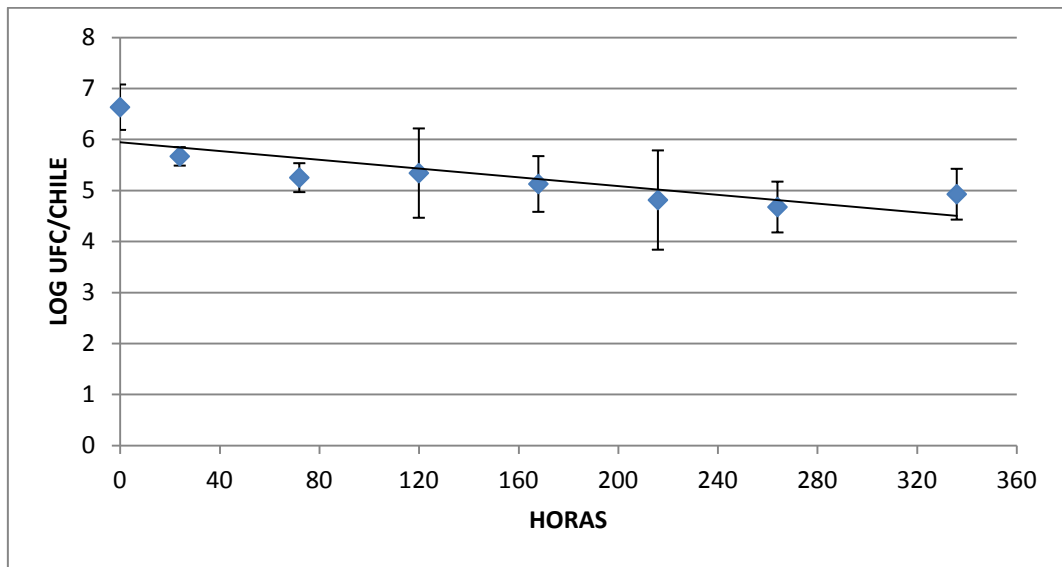


Figura 8. Comportamiento de *Salmonella* spp. en chile pimienta morrón durante el almacenamiento a 22°C.

Resultado similares se obtuvieron durante el almacenamiento a 10°C, en donde *Salmonella* permaneció viable hasta los 14 días en los que se llevó a cabo el estudio (Figura 9).

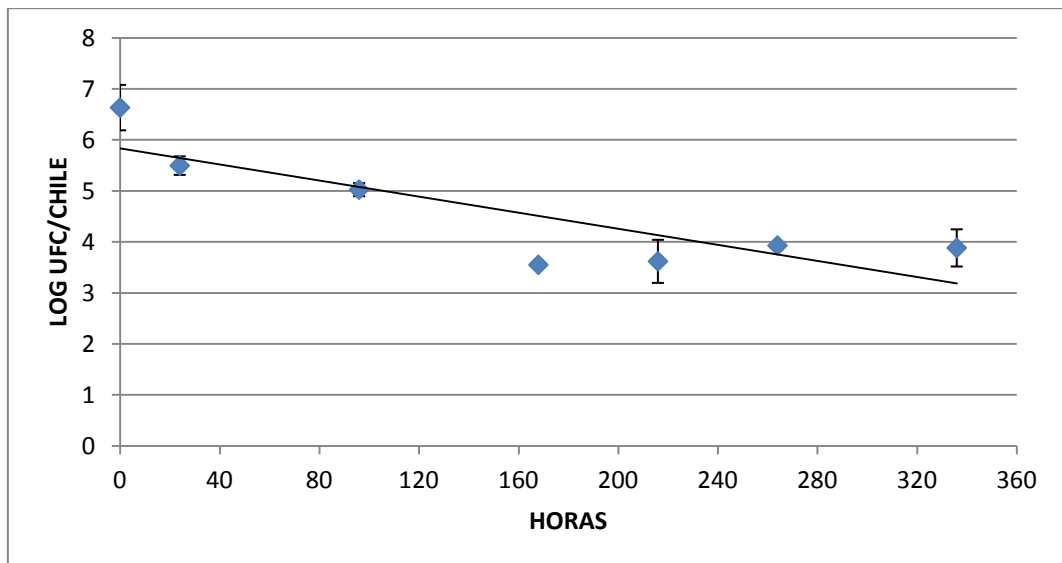


Figura 9. Comportamiento de *Salmonella* spp. en chile pimienta morrón durante el almacenamiento a 10°C.

Como se observa en las Figuras 8 y 9, *Salmonella* a los 14 días de almacenamiento en chile pimiento morrón almacenado a 22 y 10°C no presenta una capacidad de desarrollo pero si de mayor sobrevivencia en comparación con el comportamiento observado en el chile jalapeño, en donde se presenta una completa inactivación al cabo de 6 días. Este comportamiento puede deberse a que aunque ambos alimentos pertenecen a la misma especie, el epicarpio, el cual protege al fruto del exterior contiene diferentes proporciones de sus componentes como aceites, ceras de parafina, esteroides, ácidos grasos, pigmentos y enzimas los cuales algunos de ellos como los aceites actúan como sustancias antimicrobianas.

De igual forma la variabilidad de los resultados puede deberse a una mayor proporción o componentes más efectivos como antimicrobianos en el chile pimiento morrón que en el jalapeño (López, 2010). Por ejemplo, el chile jalapeño presenta aproximadamente un 58% más de vitamina K que el chile pimiento morrón (USDA, 2012); se ha encontrado que un derivado sintético de la vitamina K es efectivo para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas y hongos (Miranda y col., 2010). Aunque los ácidos grasos se presentan en muy pequeñas cantidades en las diferentes variedades de chile (desde µg/ 100 gramos de chile), se ha comprobado la efectividad de estos compuestos contra bacterias gram negativas como *E. coli* y gram positivas como *S. aureus* (Pérez, 2005). En el caso del chile jalapeño, este presenta hasta 150% más ácidos grasos que el chile pimiento morrón. Estos datos nos ayudan a entender la variabilidad y el por qué de una mayor sobrevivencia de *Salmonella* y *L. monocytogenes* en chile pimiento morrón que en chile jalapeño.

Es sabido que tan solo 1000 células de *Salmonella* pueden provocar un cuadro clínico bien manifiesto en el consumidor (Sherwood, 2004). En cuanto a lo antes mencionados y los resultados obtenidos en el presente estudio se entiende que el comportamiento de *Salmonella* a 22 y 10°C muestra el comportamiento ideal para convertirse en un peligro potencial para el

consumidor, ya que en cualquier tiempo, la cantidad de células sobrevivientes son suficientes para provocar el daño en la salud del consumidor.

Un estudio realizado en chiles jalapeños por Huff y col. en 2012, determinó el comportamiento de *Salmonella* entérica a temperaturas de 7 y 12°C. En el caso del almacenamiento a 7°C *Salmonella* entérica paso de 3 UFC/g a su completa inactivación después de 10 días. Al igual a una temperatura de 12°C su inactivación ocurrió al 10 día. La variabilidad de los resultados obtenidos en nuestro estudio y el realizado por Huff puede deberse a varios factores: a la cantidad de inóculo inicial utilizado, al tratamiento previo realizado a los chiles, a la diferencia en las temperaturas de estudio utilizadas para el almacenamiento o bien a la naturaleza de cada chile jalapeño, ya que son unidades experimentales distintas y al lugar donde fueron cultivados.

VI.2. Comportamiento de *L. monocytogenes* en chile jalapeño y chile pimiento morrón.

Durante el almacenamiento de los chiles a 22°C , *L. monocytogenes* se inactivó en tan solo 3 días, menor tiempo si se comparan los resultados con los obtenidos para *Salmonella* spp. en donde el patógeno se inactivó a los 6 días (Figura 10).

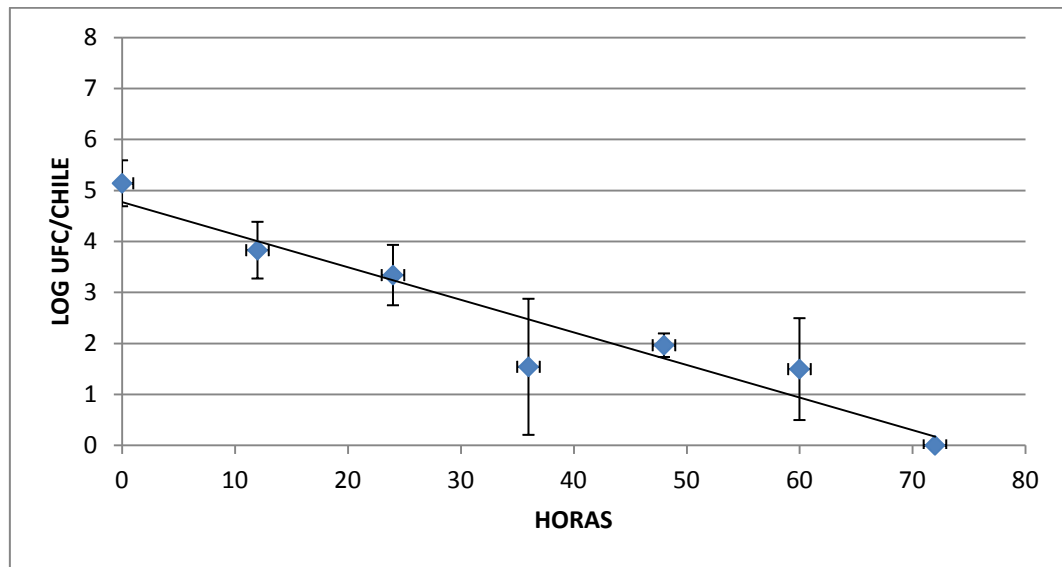


Figura 10. Comportamiento de *L. monocytogenes* en chile jalapeño durante el almacenamiento a 22°C.

Una característica importante de esta bacteria es la capacidad para desarrollarse a bajas temperaturas (psicrótrofo). A pH entre 6 y 9 puede multiplicarse desde una temperatura de 3°C (Alcayaga, 2008). En la Figura 11 se observa que los resultados nuevamente son muy variables, inclusive en los primeros días del estudio en chile jalapeño, *L. monocytogenes* no solo presentó sobrevivencia sino también desarrollo, que en un momento dado puede deberse al carácter psicrótrofo del microorganismo. Otra posible explicación a la variación observada, es que las bacterias hayan tenido acceso a sitios o resquicios que los protegen de la exposición a factores ambientales estresantes. Estos sitios han sido referidos como "sitios protectores" (Leben, 1981) y suelen encontrarse en la superficie de las hojas o partes de plantas como depresiones, grietas, fracturas y en regiones internas como estomas, lenticelas y espacios intercelulares (Beattie y Lindow, 1995). En ellos, las bacterias pueden permanecer por períodos prolongados y recuperar su actividad cuando la humedad y otras condiciones son favorables.

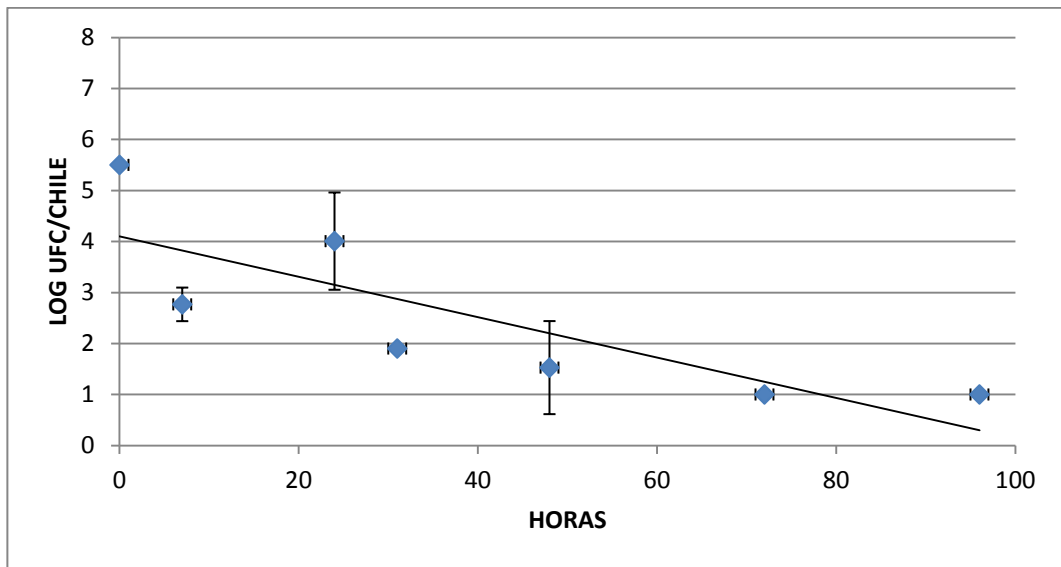


Figura 11. Comportamiento de *L. monocytogenes* en chile jalapeño durante el almacenamiento a 10°C.

El análisis realizado en chile pimienta morrón para *L. monocytogenes* a 22°C muestra sobrevivencia del microorganismo después de los 14 días de estudio, siendo menor la capacidad del microorganismo de adaptarse en chile jalapeño (ya que se inactivó completamente en 3 días) que en chile pimienta morrón (Figura 12).

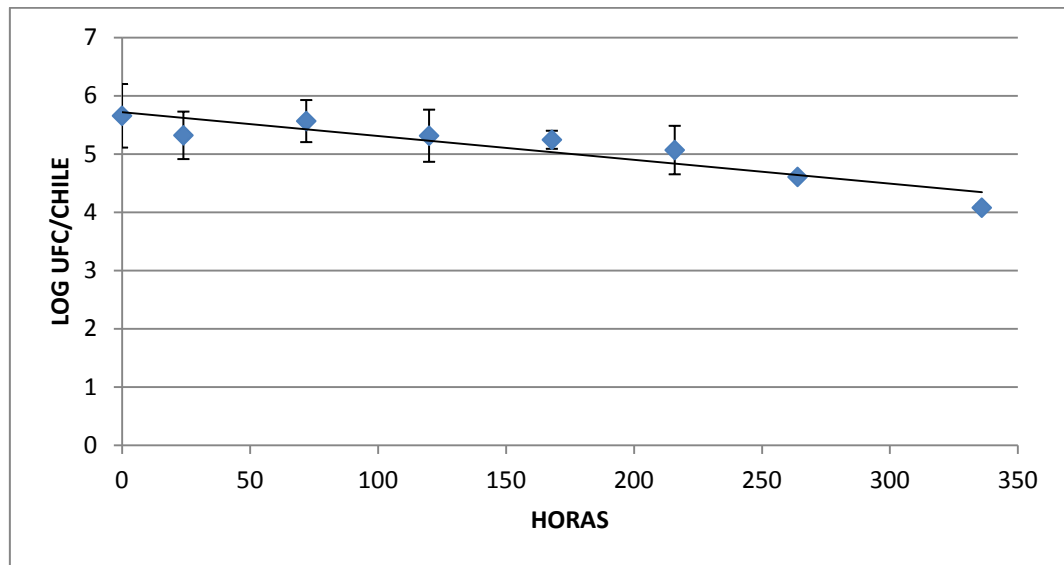


Figura 12. Comportamiento de *L. monocytogenes* en chile pimiento morrón durante el almacenamiento a 22°C.

A 10°C, *L. monocytogenes* presentó resultados similares a los obtenidos en el almacenamiento a 22°C en la superficie del pimiento morrón. Nuevamente el microorganismo presenta una sobrevivencia durante los 14 días, demostrado que el uso de temperaturas de refrigeración en chile pimiento morrón contaminado no provoca un estrés en el inóculo presente ya que tanto para 22 y 10°C la reducción fue de 4.1 y 3.9 log respectivamente; mostrándose una diferencia no significativa entre los resultados obtenidos (Figura 12 y 13).

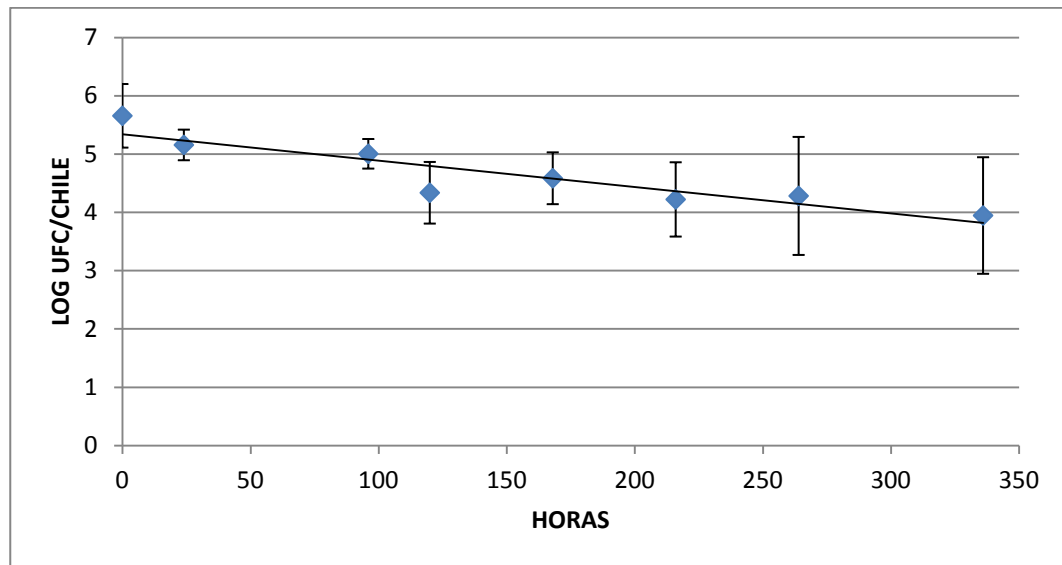


Figura 13. Comportamiento de *L. monocytogenes* en chile pimienta morrón durante el almacenamiento a 10°C.

La dosis infecciosa de *L. monocytogenes* depende de varios factores, que incluyen el estado inmunológico del hospedero. La aparición y el curso de la infección depende de los factores de virulencia y de las dosis infecciosas (Vera y col., 2005).

De acuerdo a diferentes análisis se sabe que la dosis infecciosa de *L. monocytogenes* es de, al menos,  $10^2$  bacterias viables en el caso de los grupos de riesgo y que esta cifra aumenta hasta  $10^4$  en el caso de la población sana (Alcayaga, 2008). En base a lo antes mencionado y los resultados obtenidos el consumo de chile jalapeño en el segundo y tercer día a condiciones de almacenamiento comúnmente usadas por cualquier consumidor representan un riesgo potencial en la salud de la población sana y aumenta esta probabilidad en la población inmunocomprometida.

Este riesgo incrementa potencialmente en chile pimienta morrón, ya que los resultados muestran más de 4 log de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes* presentes aún después de 14 días para ambas temperaturas de almacenamiento.



*L. monocytogenes* a temperaturas de 7 y 12°C presentó una sobrevivencia durante 14 días en almacenamiento en chile jalapeño, desde la superficie de este hasta la inoculación del patógeno dentro del chile jalapeño (Huff y col., 2012). Al igual que con *Salmonella*, se comprobó la capacidad de *L. monocytogenes* a temperaturas de almacenamiento bajas e incluso desarrollo.

También es posible entender el comportamiento de las dos bacterias para cada tipo de chile mediante el cálculo de sus velocidades de muerte.

Cuadro 4. Velocidad de muerte de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp. en chile pimienta morrón almacenados a 22 y 10°C (Ávila, 2010).

Microorganismo	10°C	22°C
	$\mu^1$ (log UFC/h)	
<i>L. monocytogenes</i>	-0.0047 a	-0.0045 a
<i>Salmonella</i> spp.	-0.0146 a	-0.0102 a

<sup>1</sup>: Velocidad de muerte.

Cuadro 5. Velocidad de muerte de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp. en chile jalapeño almacenados a 22 y 10°C.

Microorganismo	10°C	22°C
	$\mu^1$ (log UFC/h)	
<i>L. monocytogenes</i>	-0.0542 a	-0.0595 a
<i>Salmonella</i> spp.	-0.0288 a	-0.0164 a

<sup>1</sup>: Velocidad de muerte.

Como se observa en los cuadros 4 y 5, *Salmonella* y *L. monocytogenes* en chile pimienta morrón presentan una inactivación a menor velocidad que en chile jalapeño, comprobando los resultados obtenidos en el presente estudio.

Aunque en diferentes investigaciones se comprobó que las superficies de productos frescos como lo son frutas y hortalizas es hostil para la sobrevivencia de patógenos (Brandl, 2006), en el presente estudio se comprobó que la sobrevivencia de *L. monocytogenes* y *Salmonella* puede permanecer viable en

la superficie de chiles intactos por periodos en los cuales sus características sensoriales aún resultan atractivas para el consumidor y convertir así este alimento como un potencial vehículo de riesgo para provocarle un daño en la salud..

La actividad de agentes microbianos se ve afectada considerablemente debido a la naturaleza y propiedades fisiológicas en frutos frescos como el chile jalapeño y pimiento morrón.

El chile cuenta con una protección física que es su cáscara o exocarpio que evita el paso de agentes físicos y microbianos. Esta brinda una protección al fruto, provocando que una contaminación microbiana no sobreviva e incluso desarrolle. Sin embargo la presencia de daños mecánicos en la superficie del producto son la vía de entrada al interior de frutas y hortalizas (FHIA, 2007).

La influencia de la liberación de los líquidos de los tejidos vegetales cuando estos son cortados o molidos se demuestran en varios estudios. Por ejemplo, en perejil, Wu y col (2000) con cepas implicadas en cepas de shigelosis asociados a su consumo, observaron un incremento mayor de 6 log ufc/g en el vegetal molido en comparación con las hojas enteras en donde el incremento fue menor a 1 log ufc/g (Fernández, 2008). De acuerdo a esto, la variabilidad observada en el comportamiento de *Salmonella* y *L. monocytogenes* en chile jalapeño y pimiento morrón puede deberse a factores como lo son la presencia solo en algunos frutos analizados de fisuras en la capa externa no visibles, por las cuales se contaba con nutrientes y humedad ideal permitiendo el desarrollo de estos patógenos (San José F, 2009).

### VI.3. Comportamiento de *Salmonella* spp. en salsa mexicana.

En el caso del comportamiento de *Salmonella* presente en el chile jalapeño pero interactuando con demás ingredientes como lo es la cebolla y jitomate, se observó un comportamiento heterogéneo y poco predecible como se observa en las Figuras 14 y 15.

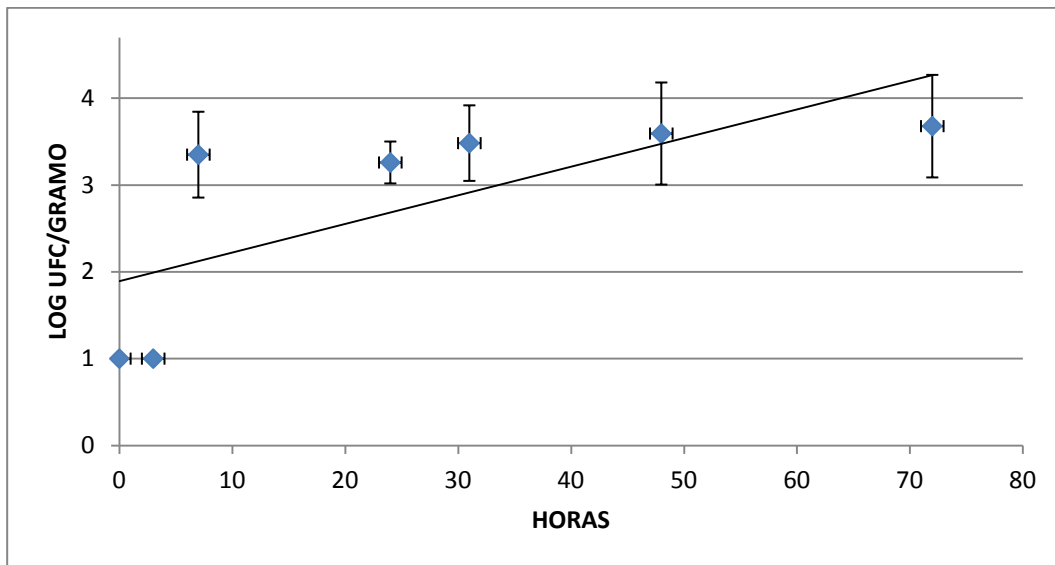


Figura 14. Comportamiento de *Salmonella* spp. en salsa mexicana durante el almacenamiento a 22°C.

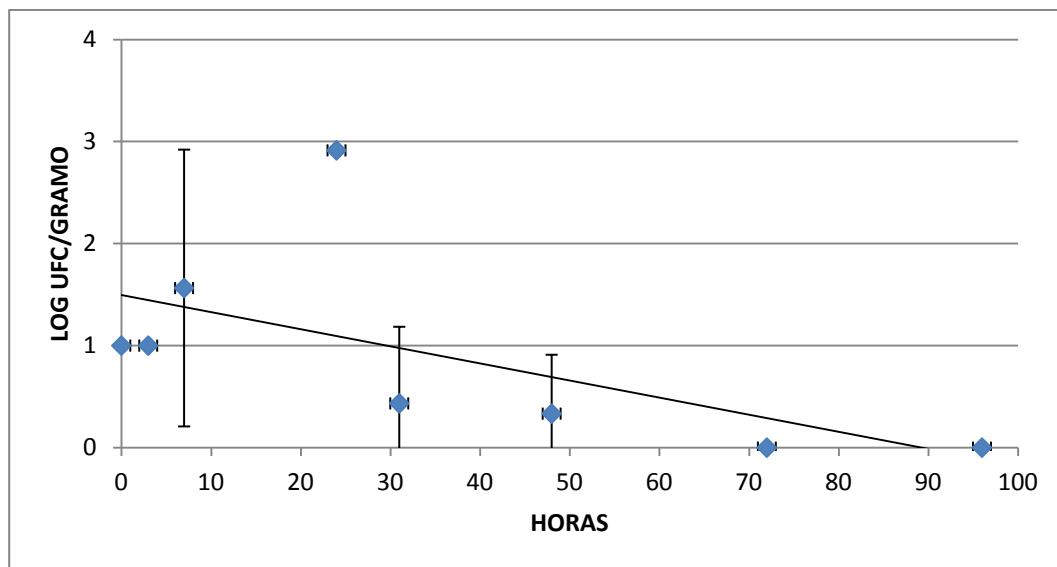


Figura 15. Comportamiento de *Salmonella* spp. en salsa mexicana durante el almacenamiento a 10°C.

*Salmonella* spp. en salsa mexicana presentó un comportamiento diferente que el obtenido en chile jalapeño y pimiento morrón. Como primera diferencia es la capacidad de desarrollo a 22°C llegando hasta aproximadamente 4 log después de 3 días en los cuales el alimento aún presenta características organolépticas

aceptables para el consumidor. Sin embargo a 10°C se observó que esta temperatura no es la condición adecuada para *Salmonella*, y llega a su inactivación después de los 3 días.

#### VI.4. Comportamiento de *L. monocytogenes* en salsa mexicana.

Al igual que para *Salmonella* spp. a 22 y 10°C, *L. monocytogenes* tiende a reproducirse a 22°C (Figura 16).

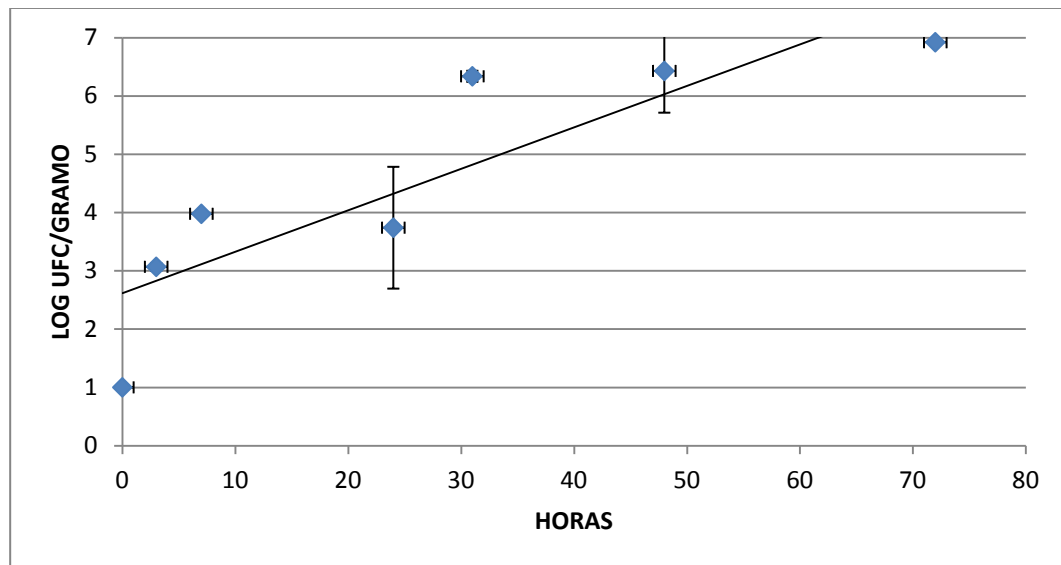


Figura 16. Comportamiento de *L. monocytogenes* en salsa mexicana durante el almacenamiento a 22°C.

A 10°C, *L. monocytogenes* se inactivó en salsa mexicana después del 4° día (Figura 17). Al comparar el comportamiento de *Listeria* y *Salmonella* se observa que la primera presenta una mayor capacidad de sobrevivencia a esta temperatura de refrigeración.

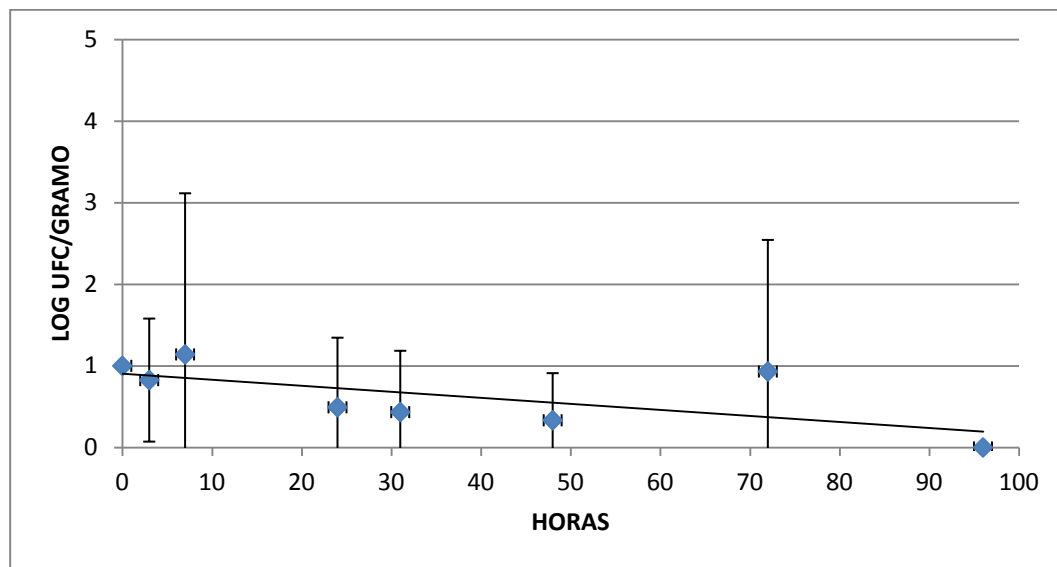


Figura 17. Comportamiento de *L. monocytogenes* en salsa mexicana durante el almacenamiento a 10°C.

La variabilidad de los resultados obtenidos en salsa mexicana pudo deberse a una gran diversidad de factores que a continuación se describen:

La cebolla contiene compuestos aromáticos que inhiben el desarrollo de levaduras y bacterias (Rodríguez, S. 2011). La cebolla como el ajo pertenecen a la familia de las *liláceas*; de acuerdo a diversos estudios realizados, la alicina o ácido dialitiosulfónico, el cual es el responsable del olor característico del ajo y cebolla. Se ha estudiado que concentraciones de 1:85,000 de este compuesto, presenta una actividad bactericida frente a microorganismos gram positivos y gram negativos (Guiza y col., 2007).

El jitomate está compuesto aproximadamente con un 95% de agua y nutrientes como azúcares, proteínas y vitaminas (USDA, 2012). Esta calidad nutricional y alto porcentaje de agua permite a bacterias como *Salmonella* y *L. monocytogenes* el desarrollo y sobrevivencia en la salsa mexicana, ya que aunque el chile jalapeño era el vehículo de contaminación; la interacción de la bacteria con los nutrientes contenidos en la muestra permitió el desarrollo de *Salmonella* y *L. monocytogenes* a 22°C; temperatura adecuada para tal comportamiento. Es importante recordar

que *Salmonella* esta vinculada en varios casos de brotes por el consumo de jitomate (Cummins y col., 1999).

Otro componente antimicrobiano de gran importancia en la actualidad es la capsaicina (Figura 18), este compuesto le confiere el sabor y la pungencia al chile, el cual se encuentra a diferentes concentraciones en cada uno. Este compuesto se encuentra dentro de la familia de los terpenos o terpenoides los cuales son activos contra bacterias, virus, hongos y protozoarios. Se ha reportado que estos compuestos actúan contra *L. monocytogenes*. Se cree que la actividad se debe a la perturbación de la estructura de la membrana celular por su naturaleza lipofílica (Araujo y col., 2008).

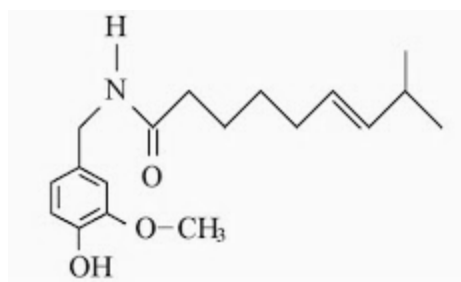


Figura 18. Estructura química de Capsaicina.

Un estudio realizado por Colivet y colaboradores en 2006, mostró que los extractos de ají dulce presento un efecto inhibitorio en *E. coli* y *Bacillus* sp. En donde se comprobó que los extractos obtenidos a partir de este fruto no presentó una diferencia significativa entre los grupos bacterianos estudiados. Por lo tanto la acción de estos antimicrobianos actúa posiblemente sobre la membrana celular o citoplasma penetrando la pared celular sin que se presente lisis de esta (Colivet y col., 2006).

La presencia de antimicrobianos en la salsa mexicana pudo ser un factor que evitó el desarrollo y sobrevivencia de *Salmonella* spp. y *L. monocytogenes*, sin embargo, este efecto sólo se observó a una temperatura de 10°C, ya que al

estar presentes estos compuestos y enfrentarse ante condiciones de estrés como la baja temperatura, no se permitió la sobrevivencia y aun menos el desarrollo en salsa mexicana de estas dos bacterias. Sin embargo a 22°C, proporcionó un ambiente ideal para su desarrollo a proporciones altas y de gran importancia en el consumo de salsa mexicana contaminada.

La gran heterogeneidad de los resultados y gráficas obtenidas en el estudio de la salsa mexicana puede estar influenciada por las proporciones de cada ingrediente utilizado en su preparación, como se observa en el Cuadro 3; en donde el chile jalapeño solo esta presente en un 4% de la formulación. Aunque la toma de muestras se realizó con una homogenización anterior, la proporción de un tiempo u otro pudo presentar una mayor o menor cantidad de chile jalapeño, por lo tanto una variabilidad del inóculo presente ya en la muestra.

Un estudio realizado por Schmitt en 2003, mostró que *Salmonella* y *L. monocytogenes* a 22°C no mostró una reducción significativa en presencia de antimicrobianos provenientes del chile, cebolla, pimienta, orégano y comino. Sin embargo, la reducción logarítmica observada fue mayor en salsa que en tomate (Schmitt, 2003). Los resultados obtenidos ponen de manifiesto, como en el experimento anterior, la capacidad de estas dos bacteria patógenas para sobrevivir y aumentar la población en el alimento.

El pH ácido presente en la salsa mexicana, no es un factor que intervenga de manera importante en el comportamiento de *Salmonella* y *L. monocytogenes*. Estas dos bacterias tienen la capacidad de sobrevivir e incluso crecer a un pH desde 4 (Fernández, 2008).

El comportamiento de *Salmonella* spp. en salsa mexicana preparada con jitomate, chile jalapeño, cebolla y cilantro; inoculando la porción a analizar y almacenando a 30°C, mostró un aumento de 100 veces su población inicial a tan solo 7 horas de almacenamiento. Este mismo procedimiento realizado a una baja temperatura (6°C), mostró que esta bacteria tuvo en el primer día una

reducción de 10 veces su población inicial, sin embargo, se presentó una sobrevivencia hasta el segundo día (Medina, 2005).



## VI. CONCLUSIONES.

La presencia de bacterias patógenas como *Salmonella* y *L. monocytogenes* en alimentos como el chile jalapeño y chile pimiento morrón, que frecuentemente son empleados como ingredientes en una gran diversidad de recetas mexicanas, puede representar un riesgo potencial hacia la salud del consumidor.

Aunque ni *Salmonella* ni *L. monocytogenes* desarrollaron en la superficie intacta de los chiles jalapeño y pimiento morrón, ambos patógenos mostraron capacidad para sobrevivir a 22 y 10°C. En chile jalapeño la inactivación total de los microorganismos ocurrió entre los 3 y 6 días, independientemente de la temperatura. En el chile pimiento morrón después de 14 días de almacenamiento aun se lograron detectar microorganismos viables (alrededor de 4 Log UFC/ chile). La muerte de las bacterias pudo deberse a la escasez de nutrientes disponibles, o bien a la presencia de compuestos antimicrobianos presentes en el exocarpio de los chiles. En contraste, en la salsa mexicana preparada con chiles jalapeños contaminados con *Salmonella* o *L. monocytogenes* ambos patógenos desarrollaron.

En base a lo anterior podemos concluir que si bien, los microorganismos patógenos como *L. monocytogenes* y *Salmonella* no se multiplican en la superficie de los chiles, estos pueden fungir como vehículos de los patógenos. Cuando los chiles son empleados como ingredientes en la preparación de otro tipo de alimentos como salsas o guacamole, en donde la disponibilidad de nutrientes y la actividad de agua son mayores, puede propiciarse el desarrollo de los microorganismos, incrementando de esta manera la probabilidad de que el consumidor enferme.

## VII. BIBLIOGRAFÍA.

**Alcayaga, S., Hott, B. 2008.** Listeria y listeriosis: un desafío de los nuevos tiempos. Revista Chilena de Salud Pública. Vol. 12 (3): 188-195.

**Araujo, J., Salas, R. 2008.** Actividad Antimicrobiana de Plantas. Revista Científica del Sur. Número 6: 6, 10.

**Ávila, D. 2010.** Identificación del hongo causante del deterioro poscosecha en pimiento morrón (*Capsicum annum* L.) y su influencia en el comportamiento de microorganismos patógenos en la superficie del fruto. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos: 63-66.

**Beuchat, L. R. 1998.** Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. Center for Food Safety and Quality Enhancement. Georgia, USA: 8, 13.

**Beuchat, L. R., Doyle, M. P. 1995.** Survival and growth of *Listeria monocytogenes* in foods treated or supplemented with carrot juice. Food Microbiology. Vol. 12: 73-75.

**Brandl, M. T. 2006.** Fitness of human enteric pathogens on plants and implication for food safety. Annu Rev Phytopathol. 44: 367.

**Caballero, R. R. 2002.** Síndrome Diarreico Infeccioso. 1º ed., Editorial Médica Panamericana: 120.

**CDC. 2009.** Centers for Disease Control and Prevention. Agosto 22 del 2010.

**Clark, M. A. 1987.** The phs gene and hydrogen sulfide production by *Salmonella typhimurium*. Journal Bacteriology. Vol. 169: 2391-2392.

**Contreras, M. 1997.** Estudio de la producción y degradación de los capsaicinoides en 3 variedades de chile (*capsicum annum* y *capsicum chinense*). Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos: 3-10.

**Colivet, J. y col. 2006.** Comparación del efecto inhibitorio de extractos de ají dulce (*Capsicum chinese*) sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Bacillus* sp. Saber. Universidad de Oriente. Vol. 18: 168-173.

**CSPI. 2006.** *Salmonella* outbreaks. Health Care Food & Nutrition Focus. Vol. 23: 1.

**Downes, F. L., Ito, K. 2001.** Compendium of Methods for the Microbiological Examination of foods. 4<sup>th</sup> ed., American Public Health Association, Washington, DC: 343-344, 357.358.

**FAO. 1998.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Agosto 20 de 2010.

**FDA. 2009.** Food and Drug Administration. Agosto 22 del 2010.

**Fernández, E. E. 2008.** Microbiología e Inocuidad de los alimentos. 2<sup>o</sup> ed., Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro: 223-224, 229, 234, 257, 564-570.

**Guiza, D. P., Rincón, L. N. 2007.** Estudio del efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* combinado con la inactivación térmica, sobre cepas de *Listeria monocytogenes* y *Bacillus cereus*. Bogotá, D. C. Tesis para obtener título de Microbiólogo Industrial: 44.

**Harris, L. J. y col. 2003.** Incidence, Growth, and Survival of Pathogenes in Fresh and Fresh-Cut Produce. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. Vol. 2: 6 y 7.

**Hedberg, C. W. y col. 1999.** Outbreaks of salmonellosis associated with eating uncooked tomatoes: Implications for public health. Epidemiol. Infect. Vol. 122: 385-390.

**Huff, K. y col. 2012.** Effect of Storage Temperature on Survival and Growth of Foodborne Pathogenes on Whole, Damaged, and Internally Inoculated Jalapeños (*Capsicum annuum* var. *annuum*). Journal of Food Protection. Vol. 75. No. 2: 382-388.

**INIFAP. 2010.** Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Agosto 20 de 2010.

**Lapidot, A. y col. 2006.** Biofilm formation and the survival of Salmonella Typhimurium on parsley. International Journal of Food Microbiology. 109: 229-230.

**Leyva, V. y col. 2009.** ¿Qué factores influyen en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos en los alimentos?. Departamento de Microbiología de los Alimentos. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos: 1-3.

**López, H. 2010.** Efecto de la incorporación de extracto de tamarindo (*Tamarindus indica*) con actividad antioxidante en la elaboración y funcionalidad de películas biodegradables proteína-almidón. México, D.F. Tesis para obtener el grado de Maestro en Biotecnología: 30.

**Mata, F. y col. 1987.** Determinación de capsaicina en diferentes variedades de chile. Gestión tecnológica. SEP. México: 23-26.

**Medina, G. F. 2005.** Dinámica de bacterias patógenas de alto riesgo elaborados en cocinas de hospitales. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencia de los Alimentos: 46-47, 117-128.

**Milla, A. 2006.** *Capsicum* de capsas, cápsula: el pimiento. Compendios de Horticultura: 21-31.

**Miranda, J. M. 2010.** In vitro Growth Inhibition of Food-borne Pathogens and Food Spoilage Microorganism by Vitamin K5. Food and Bioprocess Technology. Vol.4. No. 6: 1060-1061.

**NMX-FF-025-SCFI-2007.** Productos alimenticios no industrializados para consumo humano-chile fresco (*Capsicum* spp) especificaciones (cancela a la NMX-FF-025-1982). Agosto 21 de 2010.

**Pérez, R. M. 2005.** Actividad antimicrobiana de ácidos grasos aislados de *Tubifex tubifex*. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol. 36. No. 001: 5-6.

**Pingulkar, K. y col. 2001.** Microbiological quality of fresh leafy vegetables, salad components and ready-to-eat salads: and evidence of inhibition of *Listeria monocytogenes* in tomatoes. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 52: 15-16.

**Quintanar, J.A. 1995.** Evaluación de potencial antimutagénico de los extractos de variedades de chile verde (*capsicum* spp.) de mayor consumo en el estado de Querétaro. Querétaro, Qro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de Químico en Alimentos. 15-21.

**Quiroz, C. C. 2002.** Inocuidad de Frutas y Hortalizas frescas: Efectos del Agua Contaminada: 1-4.

**Rabsch, W. y col. 2001.** Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems. Microbes and Infection. Vol. 3: 237-247.

**Rosenblum, L. S. y col. 1990.** A Multifocal Outbreak of Hepatitis A Traced to Commercially Distributed Lettuce. American Public Health Association. Vol. 80: 1075-1079.

**Rosi, M. L. y col. 2008.** Brotes de infección por *Listeria Monocytogenes*: Una revisión de las vías que llevan a su aparición. Revista Chilena Infec. Vol. 25: 4.

**SAGAR. 1998.** Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural. Agosto 20 de 2010.

**SAGARPA. 1997.** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Agosto 20 de 2010.

**Sauceda, R., Nereyda, E. 2011.** Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Revista Ra Ximhai. Vol. 7: 160.

**Sherwood, L. G. y col. 2004.** Infectious diseases. 3<sup>o</sup> ed., Lippincott Williams & Wilkins: 623.

**Schmitt, M. L. 2003.** Antimicrobial Effects of a Model Salsa and Its Components on Three Pathogenic Bacteria. Washington, DC. Washington State University. Dissertation/Thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science. 32.

**Sierra, J. 1999.** Alimentos tradicionales mexicanos a punto de extinguirse. Gaceta Universitaria: 10.

**Solomon, E. B. y col. 2006.** Thermal Inactivation of *Salmonella* on Cantaloupes Using Hot Water. Journal of Food Science. Vol. 71: 25-26.

**USDA. 2012** United States Department of Agriculture. Marzo 01 del 2012.

**Vera, E. y col. 2005.** Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en derivados cárnicos listos para el consumo. Laboratorio de Salud Pública de Bogotá: 6.

**WDO. 2010.** World Health Organization. Agosto 22 del 2010.

**Yáñez, J. 2002.** Nutrición y Regulación del Crecimiento en Hortalizas y Frutales. Tecnología, Comercio y Servicios Agrícolas Mundiales: 2.